

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт химии
Кафедра аналитической химии

**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ II.
ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

Методические указания к лабораторным работам

**А.С. Бугайченко, А.В. Булатов, К.С. Вах, С.С. Ермаков, А.Е. Зеймаль,
Д.В. Наволоцкая, В.В. Панчук, О.В. Родинков, С.С. Савинов,
М.М. Хайдукова, А.Ю. Шишов**

Санкт-Петербург

2021

УДК 543.05; 543.06; 543.42; 543.54; 543.55

ББК 24.46

*Рекомендованы Учебно-методической комиссией Института химии СПбГУ в
качестве учебного пособия*

Одобрены на заседании кафедры аналитической химии

Рецензенты: Бессонова Е.А., к.х.н., доцент СПбГУ,

Никитина Т.Г., к.х.н., доцент СПбХУ

Аналитическая химия II. Физические и физико-химические методы анализа: методические указания к лабораторным работам / Бугайченко А.С., Булатов А.В., Вах К.С., Ермаков С.С., Зеймаль А.Е., Наволоцкая Д.В., Панчук В.В., Родинков О.В., Савинов С.С., Хайдукова М.М., Шишов А.Ю.– СПб: электронное издание, 2021 – 173 с.

В методических указаниях кратко изложены основные представления о физических и физико-химических методах анализа, обсуждаются основные принципы и техника работы в лаборатории. В сжатой и доступной форме изложены теоретические основы методов атомной и молекулярной спектроскопии, электрохимических и хроматографических методов, описано специализированное оборудование, используемое при выполнении лабораторных работ, и принципы работы с ним. Даны необходимые указания для выполнения лабораторных работ, посвященных качественному и количественному химическому анализу модельных и реальных образцов. Методические указания предназначены для студентов, обучающихся по направлению 04.03.01 «Химия», уровень подготовки – бакалавриат, «физико-химический блок», и смежным направлениям.

Электронное издание, <https://analyt.chem.spbu.ru/download/>



© А.С. Бугайченко, А.В. Булатов, К.С. Вах, С.С. Ермаков, А.Е. Зеймаль,
Д.В. Наволоцкая, В.В. Панчук, О.В. Родинков, С.С. Савинов,
М.М. Хайдукова, А.Ю. Шишов, СПбГУ, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

1. МЕТОДЫ АТОМНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ	6
1.1. Теоретические основы рентгенофлуоресцентного анализа	6
1.2. Устройство энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного спектрометра	12
1.3. Программное обеспечение для обработки спектральной информации «EDX» ..	16
1.4. Лабораторная работа «Качественный и полуколичественный элементный анализ почв методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии»	23
1.5. Общие подходы к отбору и подготовке жидких проб	26
1.6. Лабораторная работа «Отбор и предварительная подготовка проб природных вод»	28
1.7. Теоретические основы количественного атомно-эмиссионного анализа	30
1.8. Устройство атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой	35
1.9. Программное обеспечение для обработки спектральной информации «ICPEsolution»	41
1.10. Лабораторная работа «Определение растворенных форм элементов в природных водах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой»	53
1.11. Теоретические основы количественного атомно-абсорбционного анализа	57
1.12. Устройство атомно-абсорбционного спектрометра с пламенной атомизацией	59
1.13. Программное обеспечение для обработки спектральной информации «WizAard»	68
1.14. Лабораторная работа «Определение растворенных форм меди в природных водах методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии»	77
2. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ	81
2.1. Теоретические основы спектрофотометрических методов	81
2.2. Приборы для спектрофотометрического анализа	84
2.3. Общие схемы проведения спектрофотометрического анализа	88
2.4. Выбор условий проведения спектрофотометрического анализа	89
2.5. Лабораторная работа «Определение железа (III) методом молекулярной фотометрии по реакции образования комплексов с сульфосалициловой кислотой» ..	90
2.6. Жидкостная дисперсионная микроэкстракция	92

2.7. Лабораторная работа «Определение анионных поверхностно-активных веществ методом молекулярной фотометрии с микроэкстракционным концентрированием»	93
2.8. Теоретические основы люминесцентных методов	96
2.9. Приборы для спектрофлуориметрического анализа.....	97
2.10. Лабораторная работа «Определение рибофлавина в витаминно-минеральных комплексах методом спектрофлуориметрии»	100
3. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ	103
3.1. Теоретические основы электрохимических методов анализа и их классификация.....	103
3.2. Теоретические основы прямой потенциометрии	104
3.3. Приборы для прямого потенциометрического анализа	107
3.4. Лабораторная работа «Ионометрическое определение содержания фторид-ионов в растворе»	109
3.5. Теоретические основы дифференциально импульсной полярографии	111
3.6. Измерительные устройства для вольтамперометрии.....	112
3.7. Порядок управления полярографом 757 VA Computrace	114
3.8. Лабораторная работа «Полярографическое определение аскорбиновой кислоты в образцах лекарственных препаратов»	115
3.9. Теоретические основы амперометрического титрования.....	120
3.10. Прибор для амперометрического титрования	123
3.11. Порядок работы с потенциостатом Elins серии P-30	124
3.12. Лабораторная работа «Определение содержания бихромат-ионов методом амперометрического титрования»	127
3.13. Лабораторная работа «Определение содержания ионов цинка методом амперометрического титрования»	129
4. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ	132
4.1. Теоретические основы хроматографических методов анализа.....	132
4.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография	135
4.3. Устройство высокоэффективного жидкостного хроматографа.....	136
4.4. Программное обеспечение для обработки хроматограмм «МультиХром»	139
4.5. Подготовка образцов.....	147
4.6. Лабораторная работа «Определение органических кислот в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии»	150
4.7. Газовая хроматография.....	155

4.8. Лабораторная работа «Определение бутиловых спиртов в водных растворах методом газо-жидкостной хроматографии»	156
5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ	161
5.1. Количественный анализ методом абсолютной градуировки	161
5.2. Метод одного эталона	164
5.3. Количественный анализ методом добавок.....	165
5.4. Поиск выбросов	166
5.5. Расчет пределов обнаружения и определения	167
5.6. Проверка правильности	169
6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	171
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	172

1. МЕТОДЫ АТОМНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

1.1. Теоретические основы рентгенофлуоресцентного анализа

Рентгенофлуоресцентный анализ (РФА) – неdestructивный метод многоэлементного качественного и количественного анализа твердых и жидких проб, в основе которого лежит взаимодействие рентгеновского излучения с веществом. При прохождении рентгеновского излучения через образец его интенсивность ослабляется за счет фотоэлектронного поглощения, упругого и неупругого рассеяния на электронах атомов. В процессе фотоэлектронного поглощения (рис. 1.1.1а) квант рентгеновского излучения поглощается атомом и происходит выбивание электрона с одного из внутренних электронных уровней.

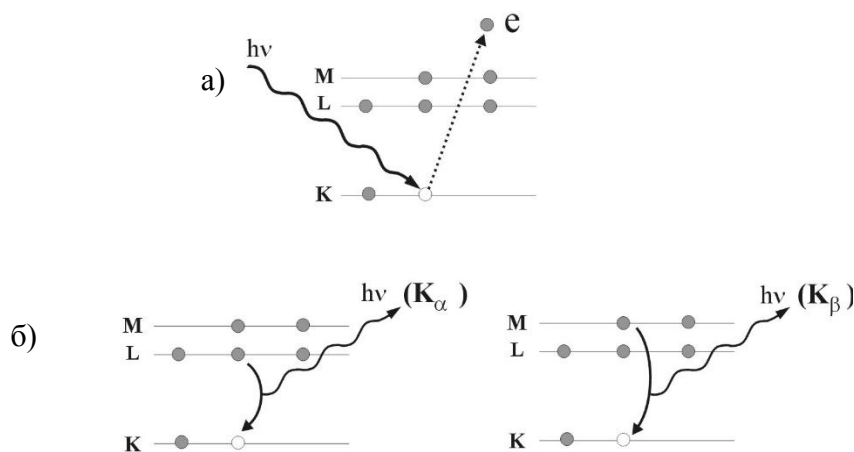


Рисунок 1.1.1. Формирование рентгеновской флуоресценции: а) фотоэлектронное поглощение, б) последующие вторичные процессы с испусканием рентгеновского характеристического излучения

Образованная в результате выбивания электрона с одной из оболочек электронная система атома неустойчива. Электроны с более высоких энергетических уровней стремятся заполнить образовавшуюся вакансию. При переходе электрона с более высокого на более низкий энергетический уровень испускается квант вторичного рентгеновского излучения (рис. 1.1.1б), называемого характеристическим. Энергия этого кванта будет равна разнице между соответствующими уровнями. Поскольку значения энергий уровней индивидуальны для каждого элемента, то и значение энергии испускаемого кванта характерно для каждого элемента и каждого перехода. Такой вторичный процесс эмиссии характеристического излучения носит название рентгеновской флуоресценции.

На рис. 1.1.2 приведена схема основных электронных переходов между внутренними энергетическими уровнями, приводящих к появлению характеристического излучения. Там же схематично приведена символика, используемая для обозначения и классификации линий рентгеновского спектра, отвечающих разрешенным переходам.

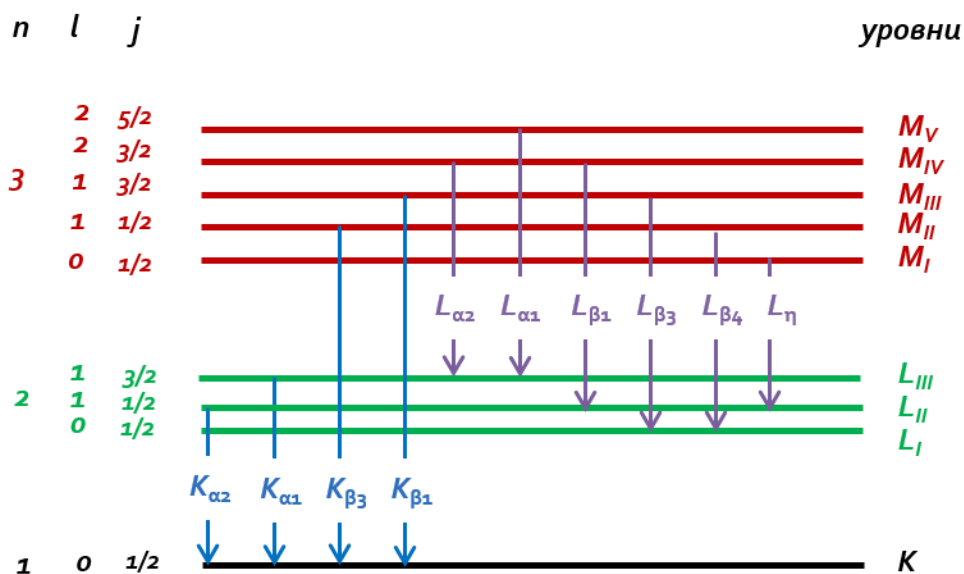


Рисунок 1.1.2. Схема разрешенных электронных переходов между внутренними энергетическими уровнями атомов

Все характеристические рентгеновские линии, обусловленные электронными переходами на К-оболочку, называются К-линии. В соответствии с правилами отбора К- вакансии могут быть заполнены электронами с уровней L_I , L_{II} или M_{II} , M_{III} . Спектральные линии, соответствующие переходам, группируются в серии: линии К-серии соответствуют переходам, заканчивающимся на К-уровне, аналогичную природу имеют L-, M- и N-серии. В табл. 1.1.1 приведены обозначения основных рентгеновских линий по ИЮПАК и Зигбану (исторически сложившаяся классификация).

В табл. 1.1.1 также представлены относительные интенсивности спектральных линий. Для каждого элемента самой интенсивной линией является его K_{α_1} -линия. Соотношение интенсивностей линий определяется относительными заселенностями уровней. Чем дальше от ядра находится уровень, с которого переходит электрон, тем меньше интенсивность линии.

РФА позволяет проводить неразрушающий многоэлементный качественный и количественный анализ образцов, находящихся в любом агрегатном состоянии: твердом, жидком и газообразном (при наличии специальных кювет). Следует отметить, что метод более чувствителен к тяжелым элементам (тяжелее К) и лишь частично применим для обнаружения более легких элементов. Диапазон определяемых элементов зависит от типа спектрометра: современные спектрометры с волновой дисперсией позволяют анализировать элементы от Ве до U, а спектрометры с энергетической дисперсией, как правило, от Na до U.

Таблица 1.1.1. Основные рентгеновские линии, обозначенные по правилам ИЮПАК и Зигбану, и их интенсивности относительно главной линии в каждой оболочке

	Обозначение линий		Относительная интенсивность
	ИЮПАК	Зигбан	
К-линии	К-L _{III}	K α_1	100
	К-L _{II}	K α_2	~50
	К-M _{III}	K β_1	~17
	К-M _{II}	K β_3	~8
L _{III} -линии	L _{III} -M _V	L α_1	100
	L _{III} -M _{IV}	L α_2	~10
	L _{III} -N _{V,IV}	L $\beta_{2,1}$	~25
	L _{III} -M _I	L β_5	~5
	L _{III} -N _I	L β_6	~1
L _{II} -линии	L _{II} -M _{IV}	L β_1	100
	L _{II} -N _{IV}	L γ_1	~20
	L _{II} -M _I	L η	~3
	L _{II} -O _I	L γ_6	~3
L _I -линии	L _I -M _{III}	L β_3	100
	L _I -M _{II}	L β_4	~70
	L _I -N _{III}	L γ_3	~30
	L _I -N _{II}	L γ_2	~30
M-линии	M _V -N _{VI}	M α_1	
	M _V -N _{VI}	M α_2	
	M _{IV} -N _{VI}	M β	

При качественном анализе пробоподготовка зачастую либо ограничивается гомогенизацией пробы для равномерного распределения элементов по ее объему, либо вообще не проводится. При идентификации элемента в первую очередь руководствуются положениями его линий в спектре. Несмотря на то, что спектральные линии разных элементов в РФА характеризуются своими значениями энергий (или длин волн), отличными друг от друга, возможны ситуации, когда линии различных элементов в реальном спектре перекрываются. По этой причине кроме положений линий следует учитывать и соотношение их относительных интенсивностей. Таким образом, для надежной идентификации элемента необходимо найти в спектре все его характеристические линии, которые могут быть зарегистрированы данным спектрометром с интенсивностями, превышающими уровень шума не менее чем в три раза, а соотношение интенсивностей должно быть близко к теоретическому (табл. 1.1.1). Существенное

завышение относительной интенсивности какой-либо линии определяемого элемента может свидетельствовать о перекрывании этой линии с линией другого (мешающего) элемента. В этом случае необходимо найти все остальные линии мешающего элемента и оценить вклад линии этого элемента в перекрываемую линию определяемого элемента.

В основе количественного РФА лежит взаимосвязь интенсивности аналитической спектральной линии и концентрации, в общем случае эта связь описывается линейной зависимостью. Однако, интенсивность флуоресценции определяемого элемента в образце зависит не только от его концентрации и условий проведения анализа, которые можно учесть при окончательных расчетах или зафиксировать при использовании образцов сравнения, но и от других элементов, содержащихся в образце, это явление называется матричным эффектом. Помимо непосредственного возбуждения атомов определяемого элемента первичным рентгеновским излучением может наблюдаться ряд других эффектов, нарушающих линейную зависимость интенсивности характеристической линии от концентрации элемента. Среди них важнейшие:

- возбуждение атомов определяемого элемента под действием вторичного излучения от атомов других элементов, входящих в состав матрицы, которое приводит к завышению аналитического сигнала;
- поглощение первичного излучения элементами матрицы, в результате чего интенсивность возбуждающего излучения уменьшается, и величина аналитического сигнала становится заниженной;
- поглощение характеристического излучения, испускаемого атомами определяемого элемента, атомами матрицы (вторичное поглощение), которое также приводит к занижению аналитического сигнала.

Кроме того, интенсивность флуоресценции зависит от особенностей образца (структуры пробы, распределения фаз, распределения по величине зерна и т.д.), что особенно заметно при анализе гетерогенных проб. Это явление обычно обобщенно называют проблемой зернистости и поверхности образцов. В общем случае из-за влияния матричных эффектов зависимость интенсивности характеристической линии определяемого элемента от его концентрации оказывается нелинейной (рис. 1.1.3). Линейная зависимость будет наблюдаться только тогда, когда ослабление как первичного, так и флуоресцентного излучения матрицей соответствует ослаблению анализируемым элементом. Наиболее велик вклад межэлементного возбуждения в общую интенсивность, если участвующие во взаимодействии элементы имеют близкие порядковые номера (например, $\Delta Z = 2$).

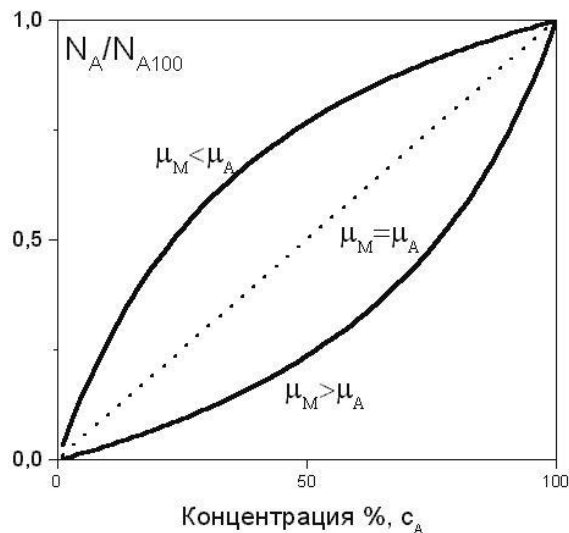


Рисунок 1.1.3. Зависимость относительной интенсивности линии определяемого элемента от его концентрации при различных соотношениях коэффициента массового ослабления μ

В РФА используется два подхода для определения содержания анализируемого элемента с учетом влияния матричных эффектов. Первый подход основан на физической модели возбуждения рентгеновской флуоресценции, в ней образцы сравнения либо не используются, либо используются в ограниченном количестве для нормировки зависимости интенсивности от концентрации. Этот подход носит название «метод фундаментальных параметров». В этом методе используется теоретическая связь между интенсивностью флуоресцентного излучения аналита, его концентрацией и ряда физических параметров, основными из которых являются:

- спектральное и объемное распределение интенсивности излучения источника,
- массовые коэффициенты поглощения всех элементов образца для первичного излучения, флуоресцентного излучения аналита и вторично возбуждающих матричных элементов,
- выход флуоресценции аналита,
- вероятности перехода различных флуоресцентных линий,
- геометрия спектрометра (взаимное расположение рентгеновской трубки, образца и детектора).

Особенностью данного подхода является то, что общее содержание рассчитывается только для тех элементов, линии которых присутствуют в спектре. Наличие в пробе легких элементов, линии которых не могут быть зарегистрированы в ходе анализа, приводит к появлению систематической погрешности, и чем больше содержание в пробе этих

элементов, тем существеннее погрешность. По этой причине данный подход относят к полуколичественному анализу.

В большинстве случаев для количественного РФА используется другой подход – с использованием образцов сравнения, содержание определяется путем сравнения интенсивности характеристической линии аналита в пробе с интенсивностью линии в стандарте, концентрация которого известна. К образцам сравнения предъявляются следующие требования: концентрация определяемых элементов должна быть известна с минимально возможной погрешностью, образцы должны иметь минералогическую структуру, макросостав и прочие свойства, соответствующие структуре, составу и свойствам анализируемой пробы, для образцов сравнения и анализируемых проб должен применяться единый метод пробоподготовки, образцы сравнения должны быть равномерно распределены в рабочем диапазоне концентраций.

В случае незначительного матричного влияния в качестве градуировочной зависимости, связывающей концентрацию аналита с интенсивностью его характеристической линии, может быть использовано линейное регрессионное уравнение. Линейную градуировочную зависимость можно использовать при анализе элементов в узких концентрационных интервалах или при низких концентрациях. Соответственно, разбавление (растворение, сплавление) образца чаще всего также приводит к линейной градуировочной зависимости.

Менее точными, но в тоже время менее трудоемкими способами являются методы внешнего и внутреннего стандарта. Внешними стандартами называются образцы, которые по составу, величине зерна, состоянию поверхности и структуре идентичны анализируемым образцам. Если анализируемый диапазон концентраций не очень велик, и при этом существует линейная зависимость между интенсивностью и концентрацией, то влияние матрицы исключается сравнением измеренных интенсивностей с интенсивностями для образца сравнения. В методе внутреннего стандарта в материал образца добавляют посторонний элемент, содержание которого в пробе ниже предела определения (который «отсутствует» в пробе с точки зрения конкретного анализа). В этом случае концентрация аналита определяется через интенсивности аналита и стандарта, концентрации стандарта и поправочного коэффициента. Последняя величина определяется либо из теоретических представлений о взаимодействии рентгеновского излучения с веществом, либо, что случается чаще, из дополнительного опыта, в котором известно содержание как аналита, так и стандарта. При анализе твердых проб основное ограничение метода заключается в сложности равномерного внесения в образец внутреннего стандарта.

1.2. Устройство энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного спектрометра

В РФА существуют два подхода к регистрации спектров. Первый основан на измерении распределения интенсивности рентгеновского излучения в зависимости от его энергии (энергодисперсионный анализ, рис. 1.2.1). При втором подходе измеряется распределение интенсивности рентгеновского излучения по длинам волн (волнодисперсионный анализ) с предварительным разложением исходного светового потока в спектр с помощью диспергирующего элемента. Рентгенофлуоресцентные спектрометры с энергетической дисперсией проще по конструкции и значительно дешевле, чем приборы с волновой дисперсией. Поскольку излучение попадает непосредственно в детектор, потери в интенсивности потока минимальны, что позволяет в качестве источника первичного рентгеновского излучения использовать излучатели минимальной мощности (включая радиоактивные источники, не требующие электрического питания). Однако разрешающая способность энергодисперсионных приборов хуже, чем у волнодисперсионных.

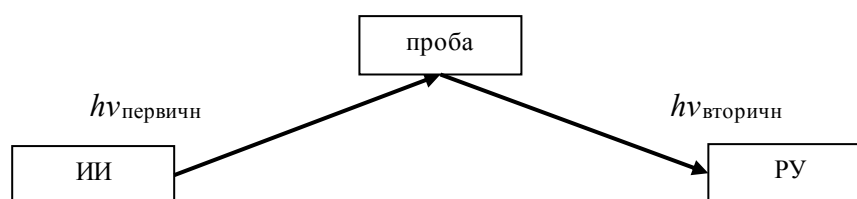


Рисунок 1.2.1. Блок-схема установки для энергодисперсионного РФА: ИИ – источник излучения, РУ – регистрирующее устройство

Наиболее распространенным источником рентгеновского излучения является рентгеновская трубка, схема одной из конструкций изображена на рис. 1.2.2. Трубка представляет собой вакуумированную стеклянную колбу (10^{-5} – 10^{-6} мм.рт.ст.) с бериллиевым окном с введенными в нее электродами – катодом и анодом. Катод трубки представляет собой спираль из тонкой вольфрамовой проволоки, которая разогревается при пропускании через нее электрического тока. Между катодом и анодом приложена большая разность потенциалов (10-100 кВ). При достижении определенной температуры с поверхности катода начинается термическая эмиссия электронов и под действием разности потенциалов между катодом и анодом возникает электрический ток. При перемещении от катода к аноду под действием приложенной разности потенциалов электроны ускоряются и бомбардируют поверхность анода, при этом их кинетическая энергия переходит главным образом в тепло, поэтому анод необходимо охлаждать. В то же время около 1% энергии преобразуется в рентгеновское излучение, которое выходит из трубки через бериллиевое окно, прозрачное для излучения.

Спектр излучения рентгеновской трубки состоит из двух частей. Первая часть – тормозное излучение, возникающее за счет потери кинетической энергии электронов при столкновении с анодом. Вторая часть – характеристическое излучение материала анода, которое образуется при выбивании внутренних электронов. Тормозное излучение представляет собой сплошной спектр в энергетическом диапазоне, определяемом разностью потенциалов рентгеновской трубки, а характеристическое излучение – линейчатый спектр материала анода. Суммарный спектр излучения рентгеновской трубки представляет собой непрерывный фон тормозного излучения с четкой границей в области коротких длин волн и резко выделяющимися узкими линиями характеристического излучения материала анода. В качестве материала анода в РФА, как правило, используют тяжелые элементы, имеющие характеристическое излучение в коротковолновой области (наиболее распространенные элементы – Rh, Mo, W). Использование таких материалов позволяет эффективно возбуждать рентгеноспектральные линии большинства элементов, находящихся в пробе.

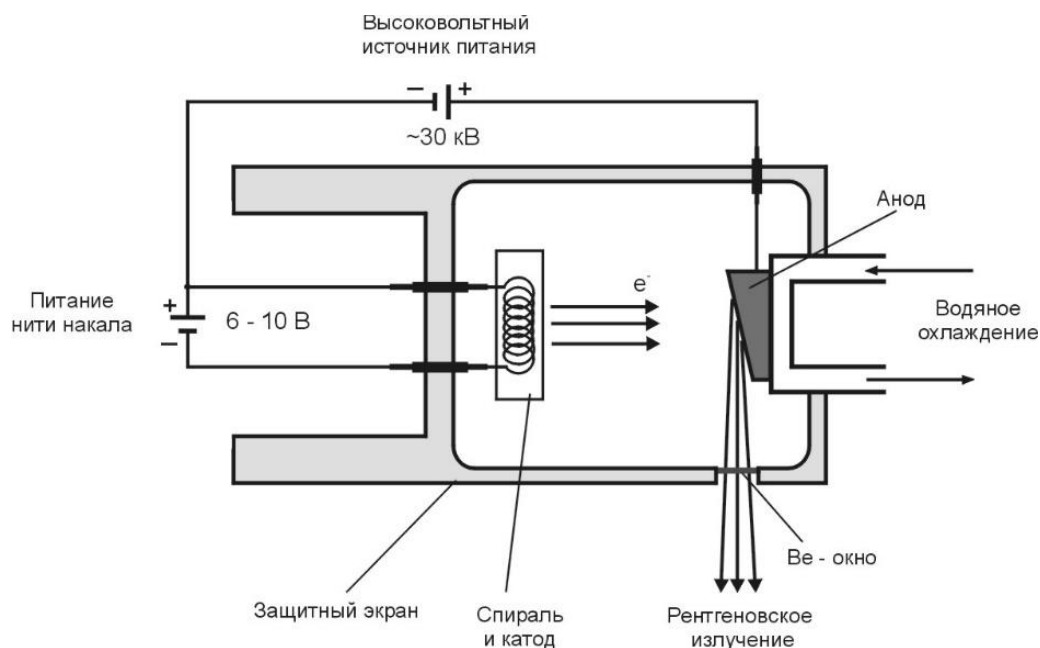


Рисунок 1.2.2. Рентгеновская трубка с водяным охлаждением

Основными параметрами источника, которые можно регулировать на практике, являются напряжение и ток питания. Чем тяжелее определяемый элемент, тем выше напряжение рентгеновской трубки необходимо использовать. При анализе большого числа элементов, как правило, измеряют спектры при нескольких напряжениях для различных диапазонов элементов. Ток подбирают в зависимости от напряжения таким образом, чтобы интенсивность флуоресцентных линий была максимальной, но при этом существенно не увеличивалось мертвое время детектора (величина, пропорциональная доле незарегистрированных квантов излучения).

Для фокусировки излучения от источника на анализируемой пробе используют коллиматор. Диаметр коллиматора выбирают в зависимости от размера гомогенной части образца. При этом необходимо помнить – чем меньше диаметр, тем ниже интенсивность излучения, и как следствие, выше пределы обнаружения и определения.

Одно из основных преимуществ рентгеновских методов анализа состоит в возможности анализа различных типов проб практически без подготовки. Любой твердый образец можно поместить в камеру рентгеновского спектрометра, если позволяют размеры. Для анализа жидкости её помещают в контейнер, чтобы предотвратить испарение пробы (контейнер обычно изготавливают из вещества с малым атомным номером, которое прозрачно для рентгеновских лучей). При проведении количественного анализа возрастают требования к образцу: он должен быть однородным, подходящих размеров и с плоской поверхностью, поэтому практически во всех случаях необходима пробоподготовка. В некоторых случаях можно проводить анализ образцов непосредственно в виде порошка. Хотя техника свободного засыпания проста и применима в вакуумном диапазоне измерения с использованием длинноволнового флуоресцентного излучения, для количественного анализа этот метод обычно применяется только в тех случаях, когда необходимо проанализировать большое число образцов с относительно низкими требованиями к точности и воспроизводимости результатов (погрешность определения концентрации превышает 15 % для элементов с порядковыми номерами в середине периодической системы).

Меньших погрешностей определения концентраций, по сравнению с образцами в виде насыпного материала, можно достичь, если исследуемые образцы анализируются в виде прессованных таблеток. Применение связующих добавок (борная кислота, воск, парафин, полиэтилен, целлюлоза, полистирол в толуоле) позволяет практически любой порошкообразный материал подготовить в виде механически стабильной таблетки. Для исключения матричного влияния используют методику приготовления образцов сплавлением, которая также дает возможность изготавливать синтетические образцы сравнения с нужной концентрацией определяемых элементов. Основные требования к получаемой пробе: однородность, отсутствие пузырей, получение при затвердевании аморфного стекла.

Толщина подготовленного для анализа образца выбирается таким образом, чтобы при ее увеличении не происходило изменения интенсивности флуоресцентного излучения определяемых элементов. Если это условие невыполнимо (мало образца или в нем содержится большое число легких элементов), то анализируемые образцы и образцы сравнения должны быть приготовлены с равными толщинами.

Вторичное рентгеновское излучение от пробы направляется на регистрирующее устройство, в качестве которого обычно используется полупроводниковый детектор. Такой детектор позволяет получать рентгеновский спектр с разрешением, достаточным для разделения спектральных линий. Полупроводниковыми детекторами являются чистые кристаллы Si или Ge, активированные Li и охлаждаемые жидким азотом или с помощью элемента Пельтье. Работа детектора основана на возникновении электронно-дырочных пар в результате поглощения рентгеновского излучения и собирания образовавшихся носителей заряда за счет подаваемого напряжения смещения. В результате в течение очень короткого времени через кристалл протекает ток, который пропорционален энергии кванта рентгеновского излучения. Современные детекторы на основе Si(Li) имеют энергетическое разрешение ~ 100 эВ (разрешение газовых детекторов не превышает 800 эВ, а сцинтилляционных 2000 эВ). Детектор работает как дискриминатор рентгеновского излучения по энергиям и не нуждается в использовании кристалла-анализатора.

В данном практическом курсе работы выполняются на энергодисперсионном рентгенофлуоресцентном спектрометре Shimadzu EDX-800P, внешний вид которого показан на рис. 1.2.3. Подготовка прибора к работе осуществляется инженерами и не входит в данный курс. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включение прибора и управляющего программного обеспечения, термостатирование, выход на рабочий режим.
- Калибровка регистрирующего устройства с использованием внешнего стандартного образца (стали или сплава на основе Al).
- Настройка параметров регистрации, условий проведения измерений.
- Помещение в прибор подготовленной анализируемой пробы, проверка точности установки посредством встроенной видеофиксации.
- Регистрация рентгенофлуоресцентного спектра.
- Расшифровка полученного спектра, поиск аналитических и мешающих спектральных линий, сравнение относительных интенсивностей линий (отдельно для каждого элемента).
- Корректировка перечня идентифицированных элементов, получение результатов полуколичественного анализа.
- Создание отчета экспериментальных данных.

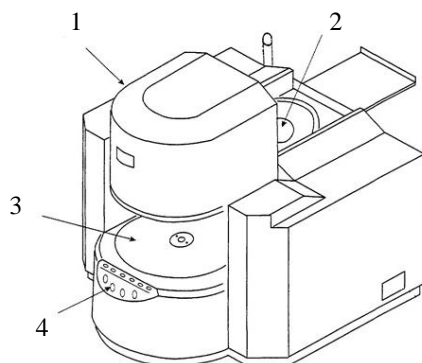


Рисунок 1.2.3. Внешний вид спектрального прибора Shimadzu EDX-800P: 1 – крышка отсека для проб, 2 – отверстие для заливки жидкого азота, 3 – плоскость установки проб, 4 – панель управления

1.3. Программное обеспечение для обработки спектральной информации «EDX»

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием спектрального прибора EDX-800P, регистрация и обработка спектральных данных производится в программном обеспечении «EDX», вид основного рабочего окна которого представлен на рис. 1.3.1.

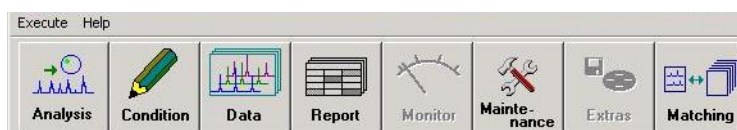


Рисунок 1.3.1. Вид основного рабочего окна программы «EDX»

Калибровка спектрального прибора

Перед регистрацией спектров проб необходимо произвести калибровку спектрального прибора. Калибровка заключается в регистрации спектра образца известного состава с последующим сопоставлением регистрируемых спектральных линий (значений их энергий и интенсивностей) табличным параметрам. Для этого следует поместить в качестве анализируемого образца стандартную пробу стали (или сплава на основе Al). Затем в основном рабочем окне следует нажать кнопку «Maintenance», после чего появится окно состояния спектрального прибора (рис. 1.3.2). Если в области «State of Instrument» напротив каждого показателя значится «OK» (как на рис. 1.3.2), следует выбрать опцию «Instrument Calibration» и в появившемся окне калибровки прибора нажать на кнопку «Start». По окончании калибровки спектральный прибор готов к использованию.

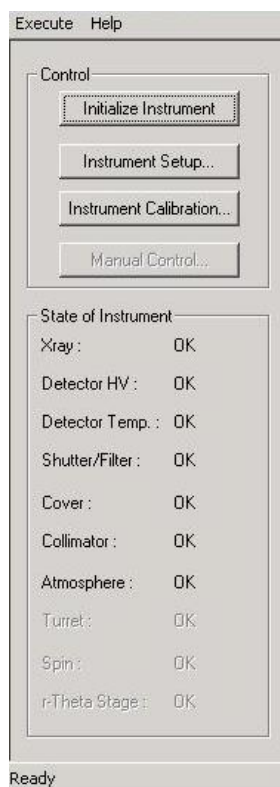


Рисунок 1.3.2. Окно состояния спектрального прибора

Задание условий измерения

Для создания новых условий необходимо нажать на кнопку «Condition» в основном рабочем окне (рис. 1.3.1), после чего появится вкладка выбора групп условий измерений (рис. 1.3.3). В этом окне следует выбрать тип анализа «Qual-Quant» (в области 1 на рис. 1.3.3), в качестве пользователя групп выбрать «User Group» (в меню 2 на рис. 1.3.3). Затем нужно создать новую группу (с помощью кнопки 5 на рис. 1.3.3).

После этого появится окно создания, в котором в графе «Group Name» следует ввести дату выполнения работы и номер пробы в формате ГГ-ММ-ДД-№ (например, 20-03-11-7), а в графе «Comment» - тип анализируемой пробы (например, почва). По окончании ввода первичной информации следует нажать кнопку «ОК», после чего появится окно ввода настроек условий (рис. 1.3.4). В этом окне следует выбрать условия измерений и отображения информации (в областях 1 и 2 на рис. 1.3.4), задать тип пробы и желаемую форму элементов (в областях 3 и 4 на рис. 1.3.4). Конкретные значения данных параметров указываются в методических указаниях к лабораторной работе. Затем следует выбрать измерительные каналы (с помощью кнопки «Periodic Table» в области 5 на рис. 1.3.4) – участки спектра, содержащие линии определяемых элементов. Если предполагается регистрация более чем на одном канале, то каждый канал добавляется последовательно: сначала открывается окно выбора каналов с помощью кнопки «Periodic Table» (в области 5 на рис. 1.3.4) и выбирается один канал, затем окно закрывается и открывается снова, после

чего выбирается второй канал. По окончании ввода всех необходимых параметров окно ввода настроек (рис. 1.3.4) необходимо закрыть, после этого в перечне групп (3 на рис. 1.3.3) появится созданная группа.

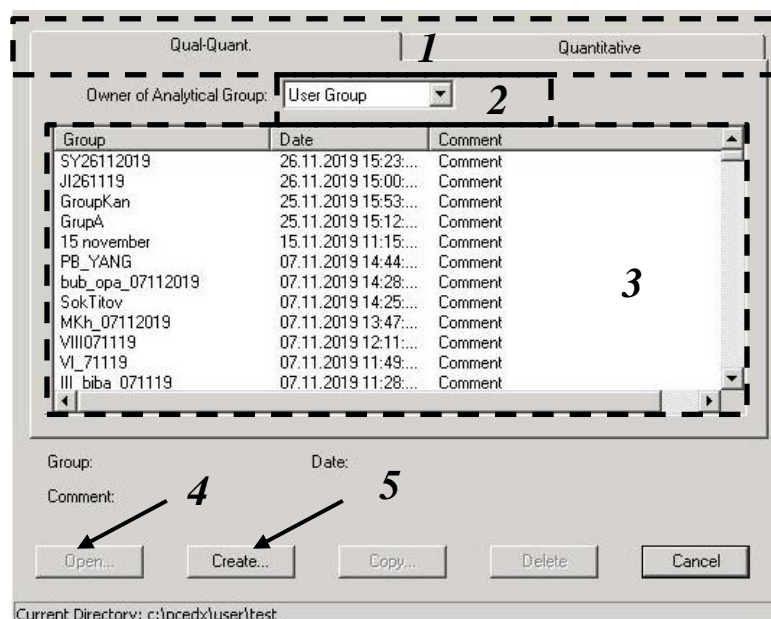


Рисунок 1.3.3. Окно выбора групп условий измерений: 1 – область выбора типа анализа, 2 – меню выбора пользователя групп, 3 – перечень групп, 4 – кнопка просмотра выбранной группы, 5 – кнопка создания новой группы

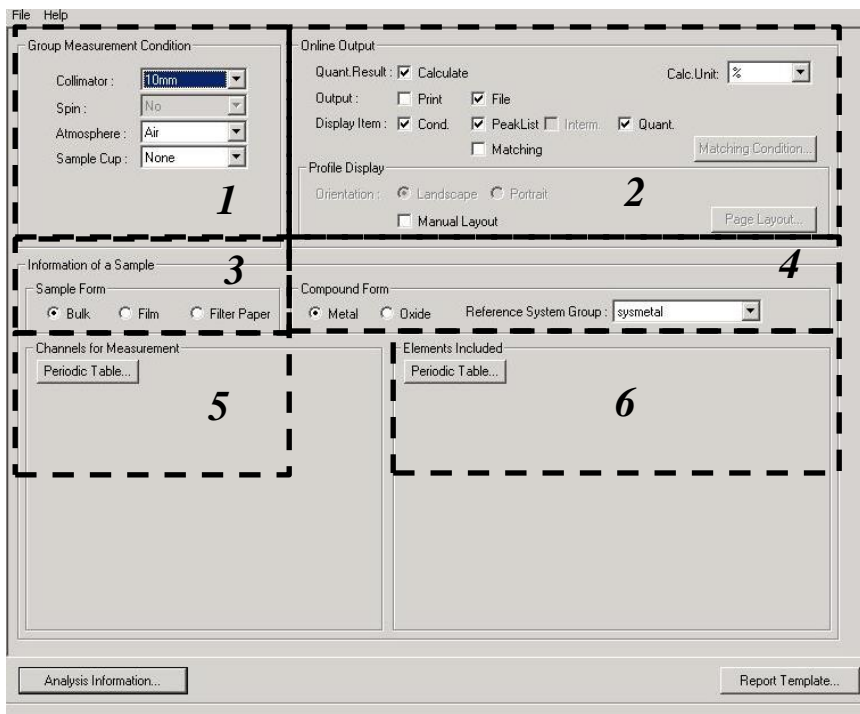


Рисунок 1.3.4. Окно ввода настроек для группы условий измерения: 1 – область ввода условий измерений, 2 – область ввода условий отображения информации, 3 – область ввода типа пробы, 4 – область ввода информации о формах элементов, 5 – область выбора измерительных каналов, 6 – область ввода перечня определяемых элементов

Регистрация спектра пробы

Для перехода к регистрации спектра анализируемой пробы необходимо нажать на кнопку «Analysis» на основном рабочем окне (рис. 1.3.1), после чего появится вкладка анализа (рис. 1.3.5). В появившемся окне следует выбрать группу условий измерения, созданную ранее (с помощью кнопки 1 на рис. 1.3.5). Далее следует нажать на кнопку задания названия пробы (2 на рис. 1.3.5) и в появившемся окне в поле «Sample Name» следует ввести имя пробы в формате Фамилия-тип-№ (например, Савинов-почва-7), остальные поля заполнять не нужно. Затем следует задать время регистрации с помощью кнопки изменения времени (3 на рис. 1.3.5).

Перед анализом пробу необходимо установить так, чтобы все первичное излучение, генерируемое рентгеновской трубкой и фокусируемое коллиматором, попадало на нее. Для контроля установки образца можно воспользоваться изображением с камеры (рис. 1.3.6). Изображение для точной фокусировки представляется в увеличенном виде, на нем дополнительно нанесены зеленые окружности, соответствующие различным размерам коллиматора. Наблюдая за изображением, следует установить пробу таким образом, чтобы она закрывала всю область коллиматора. Если анализируется проба находится в кювете, сама кювета не должна попадать в рабочую область.

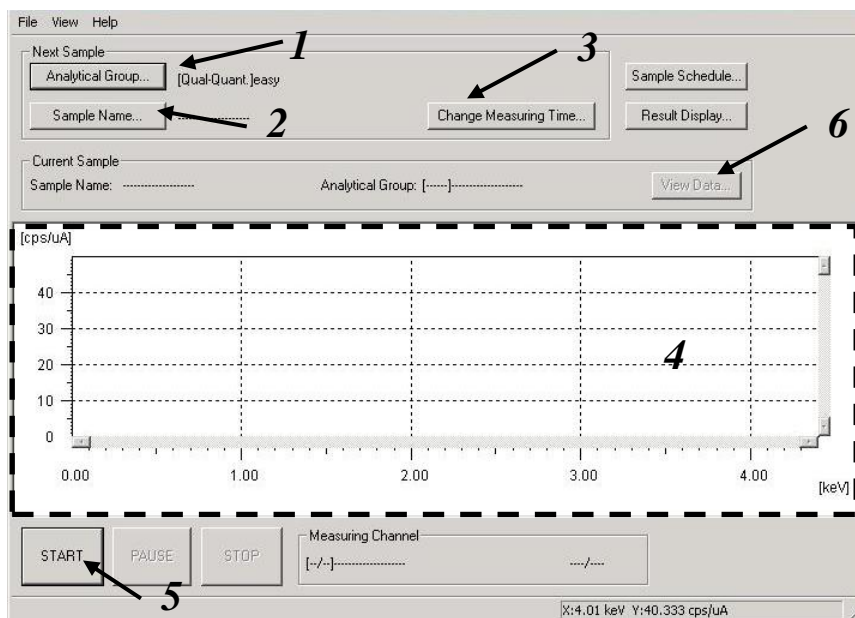


Рисунок 1.3.5. Окно анализа: 1 – кнопка выбора группы условий измерения, 2 – кнопка задания названия пробы, 3 – кнопка изменения времени регистрации, 4 – область отображения спектра, 5 – кнопка начала регистрации, 6 – кнопка просмотра данных

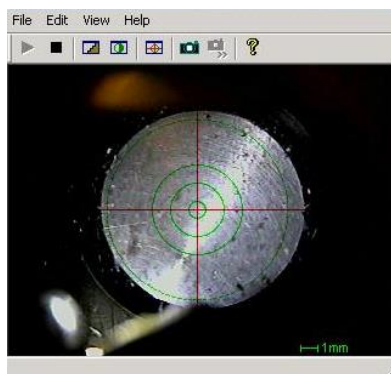


Рисунок 1.3.6. Изображение с камеры установки пробы

После ввода всех настроек и установки пробы следует запустить регистрацию спектра (с помощью кнопки 5 на рис. 1.3.5). Крышка отсека для проб у спектрального прибора закроется автоматически. По окончании регистрации крышка также автоматически откроется.

Расшифровка спектра

После завершения регистрации в области отображения спектра (4 на рис. 1.3.5) появится зарегистрированный спектр. Чтобы начать с ним работу, нужно нажать на кнопку просмотра данных (6 на рис. 1.3.5), после чего откроется окно расшифровки спектра (рис. 1.3.7). Если регистрировалось несколько спектров на различных каналах, то они все появятся в этом окне, для вывода только одного спектра следует воспользоваться кнопками отображения (2 на рис. 1.3.7). Выбор конкретного отображаемого спектра осуществляется с помощью выбора канала, на котором он был зарегистрирован (в области 4 на рис. 1.3.7). Каждую спектральную линию в реальном спектре программное обеспечение идентифицирует на основе встроенных баз данных и дает ей соответствующую подпись над линией в области отображения спектра (5 на рис. 1.3.7). Однако, из-за наличия в пробе набора элементов и недостаточного разрешения их спектральных линий данная идентификация может быть некорректной, вследствие чего расшифровку спектральной информации необходимо проводить самостоятельно.

Расшифровка спектра осуществляется с помощью KLM-маркера, который нужно вызвать, нажав кнопку «View» на панели инструментов (1 на рис. 1.3.7) и выбрав в появившемся списке «KLM-Marker». Далее в окне маркера (6 на рис. 1.3.7) следует ввести атомный номер (в области 7 на рис. 1.3.7) первого элемента, спектр которого можно зарегистрировать на выбранном канале. После этого в области отображения спектра (5 на рис. 1.3.7) появятся вертикальные линии, соответствующие теоретическому положению спектральных линий выбранного элемента, высоты линий соотносятся друг с другом аналогично теоретическому отношению интенсивностей спектральных линий конкретной

серии для выбранного элемента. Если не удастся четко наблюдать эти линии на фоне прочей информации, то масштаб отображения спектра можно изменить с помощью соответствующих кнопок (3 на рис. 1.3.7). Кроме того, увеличить желаемую область спектра можно, выделив ее левой кнопкой мыши, нажав на выделенном участке правой кнопкой и выбрав в появившемся списке «Zoom».

Элемент считается надежно идентифицированным, если в спектре присутствуют все линии определяемой серии и соотношение их интенсивностей близко к теоретическому соотношению, показанному KLM-маркером. Если реальное положение максимума спектральной линии не соответствует теоретическому и/или не выполняется соотношение интенсивностей, могут иметь место спектральные наложения соседних линий. В этом случае идентификацию проводят по другой серии линий определяемого элемента. Если это невозможно, необходимо сначала установить наличие/отсутствие возможных мешающих элементов, после чего делается заключение о наличии/отсутствии определяемого элемента.

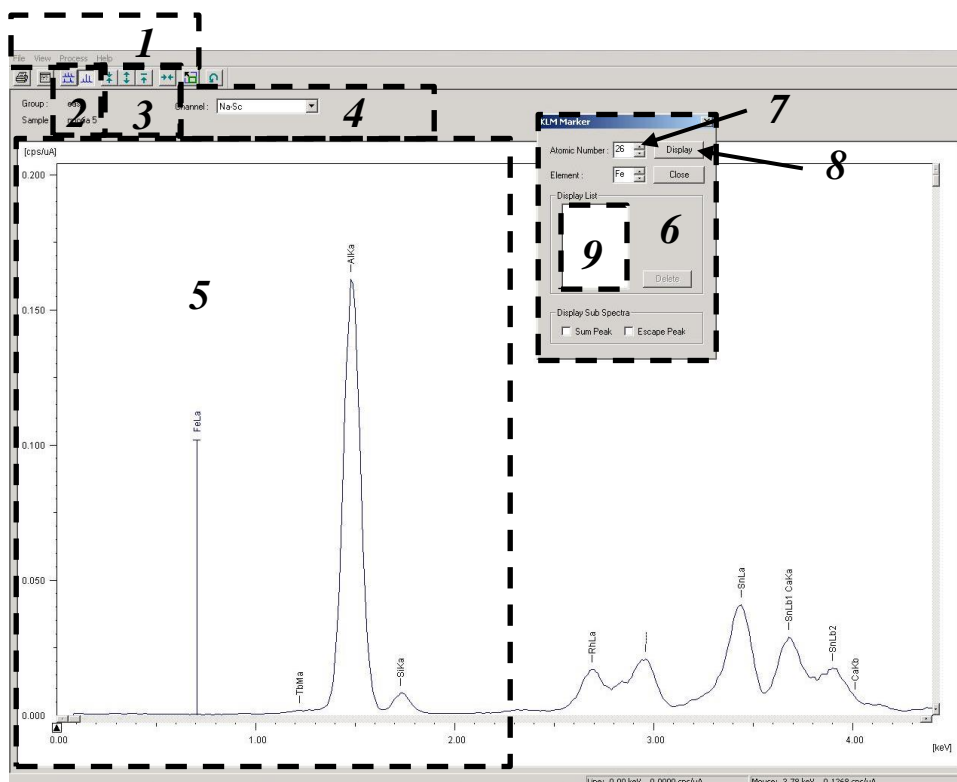


Рисунок 1.3.7. Окно расшифровки спектра: 1 – панель инструментов, 2 – кнопки выбора отображения спектра, 3 – кнопки масштабирования, 4 – меню выбора канала, 5 – область отображения спектра, 6 – окно KLM-маркера, 7 – область ввода атомного номера элемента, 8 – кнопка отображения спектра выбранного элемента, 9 – перечень выбранных элементов

Следует иметь в виду, что для элементов легче Pd K α -линии не разрешаются (наблюдаются слитно). Для элементов легче Zn регистрируется только K-серия, а для элементов тяжелее La K-серия, наоборот, не регистрируется (идентификация проводится по другим сериям линий). Обозначение «С» после указания спектральной линии в области отображения (5 на рис. 1.3.7) означает, что это линия соответствует рассеянному излучению от рентгеновской трубки.

Если элемент невозможно сразу идентифицировать из-за спектральных помех, то следует продолжить расшифровку спектра и вернуться к этому элементу позднее. Переход к следующему элементу осуществляется изменением атомного номера в KLM-маркере (в области 7 на рис. 1.3.7). Для каждого элемента, присутствие которого в пробе установлено, следует добавить его спектральные линии в область отображения спектра. Для этого нужно нажать кнопку отображения (8 на рис. 1.3.7), после чего в области отображения спектра (5 на рис. 1.3.7) будут показаны положения всех возможных линий этого элемента. Данная процедура упростит идентификацию тех элементов, линии которых испытывают спектральные наложения.

Для каждого канала, на котором регистрировался спектр, следует провести идентификацию всех элементов, спектральные линии которых могут быть зарегистрированы на этих каналах (диапазон возможных элементов отображен в названии канала). Для канала «Na-Sc» при работе в воздушной атмосфере спектр фактически регистрируется, начиная с 1.4 кэВ, поскольку излучение меньших энергий практически полностью поглощается воздухом. По этой причине идентификация элементов, линии которых имеют меньшую энергию, невозможна.

Полуколичественный анализ

После идентификации всех элементов, входящих в образец, следует перейти в режим просмотра элементного состава, для чего на панели инструментов (1 на рис. 1.3.7) нужно выбрать «Process» и в выпадающем меню – «Quantitative Calculation». В результате появится окно данных количественного анализа, выполненного по методу фундаментальных параметров (рис. 1.3.8). Изначально в этом окне представлены элементы, идентифицированные программным обеспечением на основе встроенных баз данных.

В случае, если представленный перечень элементов отличается от перечня, полученного при ручной расшифровке спектра, следует на панели инструментов (1 на рис. 1.3.8) выбрать «Process» и в выпадающем меню – «Edit Quantitative Condition». В результате появится окно ввода настроек (рис. 1.3.4), в котором следует нажать на кнопку «Periodic Table» (в области 6 на рис. 1.3.4). В появившемся окне следует оставить

выделенными только те элементы, которые были идентифицированы при ручной расшифровке спектра. По окончании выбора элементов необходимо закрыть это окно, затем закрыть окно ввода настроек, в появляющихся окнах следует согласиться на внесение изменений и пересчет результатов. После этих процедур в области отображения данных (2 на рис. 1.3.8) появится перечень корректно идентифицированных элементов с указанием их концентраций в пробе, рассчитанных по методу фундаментальных параметров.

Analyte	Result	[3-sigma]	Proc.-Calc.	Line	Intensity
Al2O3	98.714 %	[0.811]	Quant.-FP	AlKa	1.6459
SiO2	0.829 %	[0.034]	Quant.-FP	SiKa	0.0787
SnO2	0.360 %	[0.003]	Quant.-FP	SnKa	129.3734
CuO	0.059 %	[0.001]	Quant.-FP	CuKa	26.2711
MnO	0.024 %	[0.001]	Quant.-FP	MnKa	8.2340
CaO	0.015 %	[0.001]	Quant.-FP	CaKa	0.0869

Рисунок 1.3.8. Окно результатов количественного анализа: 1 – панель инструментов, 2 – область отображения данных количественного анализа

1.4. Лабораторная работа «Качественный и полуколичественный элементный анализ почв методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии»

на основе ПНД Ф 16.1.42-04

Цель работы: знакомство с методологией качественного и полуколичественного рентгенофлуоресцентного анализа, приобретение опыта работы с энергодисперсионным рентгенофлуоресцентным спектрометром, изучение основ качественного и полуколичественного анализа реальных объектов.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- проба почвы, 5 г
- моющая смесь (смесь HCl и H₂O₂), 50 мл
- спирт этиловый экстра, 50 мл
- шпатель стеклянный для отбора навесок, 1 шт
- бумага в листах для отбора навесок, 1 шт
- ступка агатовая с пестом, 1 шт

- пакет из кальки для хранения пробы, 1 шт
- вата медицинская нестерильная, 1 уп
- спринцовка 500 мл, 1 шт
- кювета тефлоновая для анализа твердых проб с зажимными кольцами, 1 шт
- пленка полипропиленовая в рулоне, 1 шт
- энергодисперсионный спектрометр Shimadzu EDX-800, 1 шт
- файл с характеристиками проб почв

Ход работы:

- Зафиксировать характеристики выданной пробы почвы, необходимые для составления паспорта пробы (табл. 1.4.1).
- Анализируемую пробу почвы массой ≈ 5 г измельчить в агатовой ступке до состояния пудры. Показателями полноты измельчения являются следующие факты: измельченная почва, помещенная между пальцами, на ощупь однородна и не царапает кожу; из-за большой силы сцепления частиц малого размера в пробе почвы наблюдается образование пластинчатых агрегатов. Измельченную пробу пересыпать в пакет из кальки.
- Сразу после использования ступку и пест протереть ватой, смоченной спиртом. Операцию очистки повторять до тех пор, пока вата перестанет пачкаться. Обдуть ступку и пест потоком воздуха из спринцовки для удаления остатков спирта.
- Над листом бумаги перенести измельченную пробу в тефлоновую кювету, заполнив от трети до половины ее объема.
- Накрывать кювету полипропиленовой пленкой, зажать пленку широким зажимным кольцом, аккуратно надавливая подушечками пальцев (не ногтями). Затем аналогично зажать пленку узким кольцом (следует иметь в виду, что узкое кольцо можно надеть на кювету только с одной стороны). На пленке не допускается наличие царапин, дыр, в этом случае следует взять новую пленку и повторить ее закрепление.
- Перевернуть закрытую кювету пленкой вниз, держа на весу над чистым листом бумаги. Убедиться, что проба не высыпается из кюветы.
- Подготовить спектральный прибор к работе. Осуществить настройку параметров измерений (согласно табл. 1.4.2).
- Поместить кювету с пробой пленкой вниз в отделение для проб спектрального прибора на выходное окно.
- Произвести регистрацию спектра, используя в качестве параметров измерения для выбранных каналов (напряжение, ток рентгеновской трубки и время экспозиции) значения по умолчанию.

- По окончании регистрации выбрать спектр, снятый на канале «Ti-U». Провести идентификацию спектральных линий. Для каждого обнаруженного элемента выписать его символ и имеющиеся в спектре линии, а также мешающие линии от всех идентифицированных элементов.
- Выбрать спектр, снятый на канале «Na-Sc», повторить для него описанные выше процедуры.
- После идентификации элементов в пробе получить результаты полуколичественного анализа по методу фундаментальных параметров.
- Произвести пересчет полученных концентраций на содержание элементов в исходном образце (мг/кг). Для всех элементов, кроме галогенов, результаты дополнительно представить для формы их оксидов в % масс. Сравнить полученные значения с литературными данными и нормативными показателями (которые следует найти самостоятельно), оценить образец с точки зрения определяемых компонентов. При этом стоит учитывать, что метод фундаментальных параметров является полуколичественным методом.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- шифр пробы и ее паспорт;
- блок-схему спектральной установки и оптическую схему спектрального прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- перечень обнаруженных элементов с указанием их спектральных линий в зарегистрированном спектре, для каждой спектральной линии следует указать мешающие линии при их наличии;
- результаты полуколичественного анализа;
- обоснование возможных источников погрешности концентраций найденных элементов;
- оценку безопасности образца с точки зрения определяемого элемента на основе информации из литературных данных и нормативных документов.

Итоговые результаты должны содержать перечень обнаруженных элементов в алфавитном порядке.

Таблица 1.4.1. Пример паспорта пробы

№ образца	
тип образца	
адрес места пробоотбора	
координаты места пробоотбора	
дата отбора проб	
количество разовых проб	
устройство для отбора проб	
материал емкости для хранения проб	
регламентирующий документ	

Таблица 1.4.2. Рабочие параметры спектрального прибора для рентгенофлуоресцентного анализа

параметр	величина
диаметр коллиматора, мм	10
атмосфера камеры во время измерения	воздух
диапазоны определяемых элементов (каналы)	'Na-Sc', 'Ti-U'
пленка, закрывающая кювету с образцом	полипропилен
время регистрации (для каждого канала), с	100
форма образца	массив
состав образца	оксиды

1.5. Общие подходы к отбору и подготовке жидких проб

Спектр жидких проб, отбираемых для химического анализа, достаточно разнообразен, для большинства объектов характерны неопределенность состава и возможность его постоянного изменения, причем как в объекте, так и в отобранной пробе. В первом приближении жидкие среды можно считать гомогенными, однако, уже природные и сточные воды обычно содержат как взвеси минеральных и биологических компонентов, так и эмульсии (например, нефтепродуктов), что существенно усложняет процедуру пробоотбора. На отбор вод в целом, а также отдельных типов вод также существует своя нормативная документация, например, ГОСТ 31861-2012 «Вода. Общие требования к отбору проб».

При отборе природных вод из открытых водоемов различают простые пробы, характеризующие состав воды в конкретное время в конкретной точке, и смешанные пробы, отражающие средний состав воды. Последние получают смешением нескольких проб,

отобранных в различных местах и/или в различное время. На состав пробы существенное влияние оказывают внешние факторы, например, силы ветра, течение, осадки, удаленность от берега. Поэтому усредненные пробы берут обычно в местах наиболее сильного течения под поверхностью воды (на глубине 20-30 см). В случае стоячих вод (озера, водохранилища) пробы отбирают в разных местах и глубинах. При этом усреднять пробы не рекомендуется, поскольку вследствие различного состава компоненты разных разовых проб могут вступать во взаимодействие, в результате истинная картина будет искажена.

В качестве емкостей при отборе жидких проб можно использовать стеклянные, фарфоровые, пластмассовые сосуды с притертыми или завинчивающимися пробками. При определении неорганических компонентов предпочтение отдается пластику, а при определении органических веществ – стеклу или нержавеющей стали. Стоит учитывать, что из стеклянной посуды возможно выщелачивание щелочных металлов и Si (основных компонентов стекла). Перед применением любую посуду тщательно моют и выдерживают с деионизированной водой в течение времени, превышающего время хранения пробы. Контрольные анализы выдержанной воды позволяют оценить пригодность посуды для анализа.

Поскольку в отобранных пробах могут протекать различные процессы, способные исказить результаты анализа, рекомендуется как можно быстрее доставить пробу в лабораторию. Однако, на практике это не всегда возможно. В таких случаях используют консервацию проб – добавление определенных реактивов, предотвращающих изменение аналитов (при определении металлов чаще всего добавляют HNO_3). Также возможно охлаждение до $+4^\circ\text{C}$ при хранении в течение нескольких часов и до -20°C при хранении несколько месяцев. Конкретные условия консервации и хранения пробы задаются определяемыми элементами. Отдельно стоит отметить, что некоторые аналиты требуют особых условий консервации и хранения, либо анализа на месте.

Последующая пробоподготовка должна соответствовать целям анализа. Например, при определении тяжелых металлов речь может идти о валовом содержании, о содержании растворенных форм, о содержании какой-либо конкретной формы, о содержании во взвеси. При определении валового содержания первоначально добиваются гомогенности пробы, например, с помощью разложения минеральными кислотами. В случае анализа взвесей пробу фильтруют (обычно на фильтрах с размером пор 0.45 мкм), затем все, что остается на фильтре, необходимо растворить, подобно твердым объектам. В отфильтрованной воде проводят определение растворенных форм.

Вследствие того, что природные воды могут содержать взвешенные вещества, значимое количество растворенных органических веществ и неорганических солей,

способных оказать матричное влияние при спектральном определении элементного состава проб, перед проведением анализа необходима пробоподготовка. При высокой естественной чистоте водоемов может быть достаточно фильтрования пробы для предотвращения забивания системы подачи пробы и ее последующего разбавления, поскольку большинство методов чувствительно к высокому солесодержанию в пробах. В более сложных случаях необходимо прибегать к кислотной минерализации образцов.

1.6. Лабораторная работа «Отбор и предварительная подготовка проб природных вод»

на основе ГОСТ 31861, ПНД Ф 14.1:2:4.135-98, ПНД Ф 14.1:2:4.214-06

Цель работы: знакомство с техникой пробоотбора и пробоподготовки образцов природных вод для последующего определения в них растворенных форм элементов, выполнение отбора пробы воды и ее консервации, освоение техники анализа природных вод без их минерализации.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- HNO_3 конц, 5 мл
- моющая смесь (смесь HCl и H_2O_2), 50 мл
- HNO_3 1%, 1 л
- бутылка полимерная вместимостью 0.5 л с завинчивающейся крышкой, 1 шт
- колба коническая вместимостью 250 мл, 3 шт
- фильтр «синяя лента», 3 листа
- воронка лабораторная для фильтрования, 3 шт
- пробирка полимерная вместимостью 50 мл с завинчивающейся крышкой, 6 шт
- пипетка Мора вместимостью 50 мл 2 кл, 2 шт
- пипетка Мора вместимостью 1 мл 2 кл, 1 шт
- холодильник бытовой, 1 шт

Ход работы:

Самостоятельная часть (выполняется до начала лабораторного практикума)

- Подготовить пробоотборник, для чего после мытья выдержать его наполненным деионизированной водой не менее суток. В качестве пробоотборника можно использовать пластмассовую бутылку вместимостью не менее 0.5 л.
- Выбрать водоем, из которого планируется отбор проб. Для анализа допускается использование участков с различными характеристиками: экологически чистый район

(парк на окраине города или в пригороде), промышленный район (в непосредственной близости от какого-либо завода тяжелой промышленности), район с высокой транспортной плотностью (т.е. вблизи оживленных автомагистралей). Обязательное условие – площадки для отбора проб различных студентов должны находиться на удалении друг от друга не менее 1 км.

- Произвести отбор образца природной воды из естественного водоема. Отбор осуществлять у берега на глубине не менее 30 см. Пробоотборник необходимо предварительно трижды ополоснуть анализируемой пробой. Объем отбираемой пробы должен составлять не менее 0.5 л. При проведении пробоотбора следует соблюдать технику безопасности при нахождении вблизи открытых водоемов.

- Зафиксировать данные, необходимые для составления паспорта пробы (табл. 1.6.1).
- Пробу хранить до транспортировки в лабораторию не более 12 ч при температуре +4°C. Пробу снабдить паспортом, пример которого приведен в табл. 1.6.1.

Лабораторная часть (выполняется во время лабораторной работы)

- Довести пробу до комнатной температуры, тщательно перемешать ее.
- Профильтровать через фильтры «синяя лента» три порции пробы в конические колбы. Первые порции фильтрата используются для ополаскивания используемых фильтра и посуды, после чего отбрасываются. В случае, если полученный фильтрат мутный и/или с видимыми твердыми частицами, операцию фильтрования необходимо повторить.
- В чистые и сухие полимерные пробирки вместимостью 50 мл отобрать три аликвоты анализируемой пробы объемом 50 мл. К каждой пробе пипеткой Мора добавить 1 мл концентрированной HNO_3 . Пробирки закрыть, содержимое перемешать. Законсервированные пробы можно хранить не более 1 месяца при температуре +4°C.
- По аналогичной схеме подготовить три холостые пробы, в качестве анализируемого объекта следует использовать деионизированную воду.
- Вымыть всю используемую посуду, сдать рабочее место преподавателю.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- обоснование выбора материала пробоотборника;
- обоснование способа консервации пробы;
- паспорт отобранной пробы;
- карту, на которой указана точка места отбора пробы (карта должна быть в масштабе, который позволит идентифицировать расположение территории в целом и точку отбора пробы в частности, при необходимости, возможно предоставить две карты в разных масштабах).

Итоговые результаты должны содержать шифр отобранной пробы.

Таблица 1.6.1. Пример паспорта пробы

№ образца	
шифр образца	
тип образца	
адрес места пробоотбора	
дата и время отбора проб	
устройство для отбора проб	
глубина отбора проб	
температура отбираемой пробы	
материал емкости для хранения проб	
способ консервации	
условия окружающей среды	
регламентирующий документ	
ФИО отобравшего пробу	
прочие комментарии	

1.7. Теоретические основы количественного атомно-эмиссионного анализа

Атомный спектральный анализ (атомная спектрометрия) – группа методов аналитической химии, основанных на регистрации электромагнитного излучения, испускаемого или поглощаемого атомами пробы в результате изменения конфигурации (энергетического состояния) их внешних электронных оболочек. Аналитическим сигналом в данных методах является электромагнитная энергия в оптическом диапазоне длин волн (50–1000 нм).

Представление о спектре основано на строении атома. Для примера на рис. 1.7.1 изображена схема энергетических уровней атома Na и разрешенные переходы между ними. Каждый уровень характеризуется своим индивидуальным набором квантовых чисел:

- n – главное квантовое число; определяет оболочку, принимает целочисленные значения, минимальное n , соответствующее основному состоянию внешнего электрона, равно номеру периода элемента,
- l – орбитальное квантовое число; определяет характеристику электрона на оболочке, при заданном n принимает значения от 0 до $n-1$,
- j – суммарное орбитальное квантовое число; характеризует полный момент количества движения валентного электрона, равно $l \pm \frac{1}{2}$, при $l=0$ j вырождено.

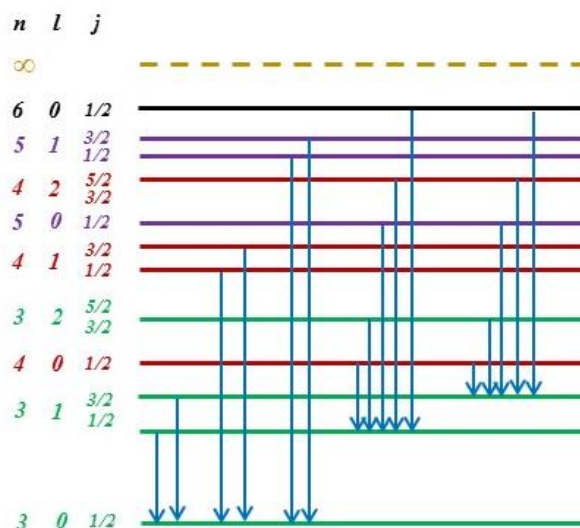


Рисунок 1.7.1. Схема энергетических уровней атома Na и разрешенные переходы между ними

Когда электрон располагается на начальном (нижнем) уровне, атом находится в основном состоянии. Когда электрон переходит на один из вышележащих уровней, состояние атома называется возбужденным. При этом, переходы, как с нижележащего уровня на выше лежащий, так и наоборот, возможны лишь между определенными уровнями (разрешенные переходы), что определяется правилами отбора.

Возбужденное состояние является нестабильными, электрон стремится перейти с вышележащего уровня на нижележащий, т.е. уровень с меньшей энергией. Избыточная энергия при этом будет эмитирована в виде фотона с энергией:

$$E = h\nu,$$

где ν — частота соответствующего электромагнитного излучения,
 h — постоянная Планка.

В оптической атомной спектроскопии электромагнитное излучение принято характеризовать не частотами, а длинами волн λ , для перехода к которым используется формула:

$$\lambda = c/\nu,$$

где c — скорость света в вакууме.

Переход между основным и первым возбужденным уровнем называется резонансным. Спектральная линия, соответствующая данному переходу, также называется резонансной, обычно она является самой чувствительной. Каждый атом имеет характеристичный набор возбужденных уровней, т.е. энергии этих уровней для каждого элемента уникальны, поэтому спектральные линии разных элементов различаются по длинам волн, такое излучение называют характеристичным.

Атом каждого элемента обладает набором энергетических уровней. При переходе атома из состояния k в состояние i (рис. 1.7.2) частота электромагнитного излучения будет определяться как:

$$\nu_{ki} = (E_k - E_i) / h,$$

где E_k — энергия k -уровня,

E_i — энергия i -уровня.

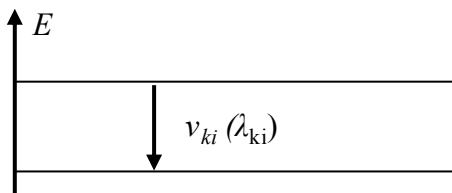


Рисунок 1.7.2. Переход атома между энергетическими состояниями

Интенсивность I излучения определяется как произведение числа фотонов n на их энергию. Когда каждый переход электрона в атоме сопровождается испусканием кванта света, то число эмитированных фотонов равно числу переходов.

На регистрации характеристичного излучения атомов основан качественный анализ методом атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС), позволяющий по эмиссионному спектру пробы определить наличие или отсутствие в ней тех или иных элементов. I спектральной линии пропорциональна концентрации C элемента в пробе, на чем основан количественный анализ методом АЭС. Поскольку происходит одновременное возбуждение атомов набора элементов, присутствующих в пробе, АЭС является многоэлементным методом.

В АЭС зависимость между наблюдаемой I спектральных линий и C элемента называется кривой роста (рис. 1.7.3), которую можно разделить на три участка. На первом участке, когда C атомов в плазме мала, происходит прямо пропорциональный рост I при увеличении C . При дальнейшем увеличении C атомов в плазме возрастает ее оптическая плотность, вследствие чего начинает проявляться самопоглощение спектральной линии, т.е. атомы не только излучают, но и поглощают свет, что ведет к уменьшению роста I . При дальнейшем увеличении C самопоглощение становится настолько сильным, что рост I все больше замедляется и затем прекращается вовсе.

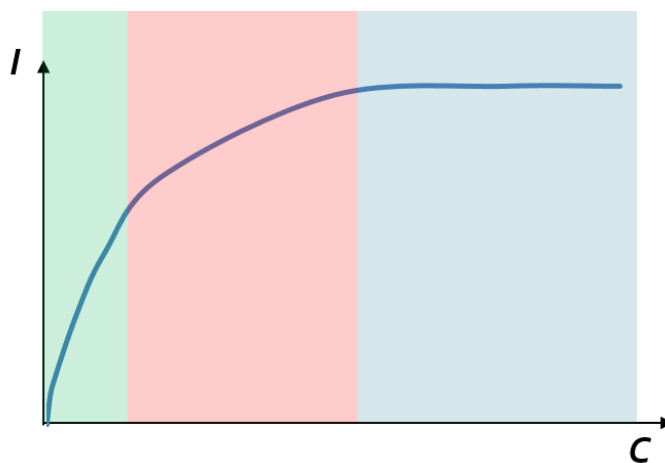


Рисунок 1.7.3. Зависимость интенсивности I спектральной линии элемента от его концентрации C в пробе – кривая роста

Помимо самопоглощения, на I атомов в плазме существенное влияние оказывают процессы испарения и атомизации пробы. Несмотря на то, что между I спектральной линии и C атомов в плазме существует известная математическая зависимость, совокупность данных процессов вместе с возбуждением атомов крайне тяжело поддается функциональному описанию, поэтому вывести теоретическое уравнение зависимости I от C элемента в пробе не представляется возможным. В 30-х годах прошлого века Б.А. Ломакиным и Г. Шайбе была предложена эмпирическая зависимость, включающая два вариационных параметра:

$$I = aC^b.$$

где a – коэффициент пропорциональности, включающий атомные константы и описывающий процессы испарения и атомизации пробы,
 b – коэффициент самопоглощения.

Данное уравнение достаточно удовлетворительно описывает регистрируемую зависимость (рис. 1.7.3) без детализации процессов, происходящих в плазме. При этом, для одной и той же аналитической линии, но при существенно различающихся C и/или при различных условиях атомизации и возбуждения спектра (т.е. при различных параметрах плазмы), параметры уравнения также будут различными. Параметр a зависит от множества факторов, включая физические константы атома и его спектральных линий, химический состав пробы в целом, изменения энтальпии процессов. Значение b изменяется от элемента к элементу, в общем случае примерно равно 1, при самопоглощении меньше 1 (больше 1 практически не встречается).

Для удобства математической обработки обычно используют уравнение в билогарифмическом представлении. В этом случае в пределах нескольких порядков изменения C значения вариационных параметров остаются постоянными, а

градуировочный график в координатах $\lg I - \lg C$ будет прямолинейным. Тем не менее, при проведении эксперимента выбор координат определяется как видом получаемой зависимости, так и возможностями используемого программного обеспечения (т.к. не в каждом есть, например, возможность использования логарифмов).

На практике даже при использовании логарифмических координат градуировочная зависимость в широком диапазоне C не является линейной. Естественно, использование такой зависимости приводит к получению неверного ответа в отклоняющихся областях. Поэтому после построения графика во всем диапазоне содержаний необходимо выбрать такой меньший диапазон, который, во-первых, соответствует анализируемой пробе по C , во-вторых, характеризуется линейной зависимостью с малой относительной погрешностью определения всех точек. При установлении концентраций набора элементов оптимальные диапазоны для каждого из них могут отличаться.

Поскольку фактический ход градуировочной зависимости зависит от большого числа параметров, невозможно заранее предсказать ее поведение (использовать аппроксимацию). Поэтому определение C проводится только внутри диапазона имеющегося градуировочного графика. В случае, когда определяемая C оказывается выше верхней границы диапазона, необходимо соответствующим образом разбавить пробу и повторить анализ.

Аналитический сигнал любой пробы состоит из сигнала непосредственно от определяемого элемента, сигнала от элемента, присутствующего в основе пробы и используемых реактивах (даже деионизированная вода может содержать некоторые элементы), и темнового сигнала детектора – сигнала, самопроизвольно возникающего в детекторе в отсутствие падающего на него излучения. По этой причине при построении градуировочных графиков используется «нулевой стандарт» – холостая проба для стандартных растворов. В зависимости от используемого программного обеспечения сигнал холостой пробы либо вычитается из сигналов всех остальных точек, либо используется непосредственно как нулевая точка. Естественно, остальные точки, соответствующие растворам с известным ненулевым содержанием определяемого элемента, могут использоваться только в случае, когда значение I больше суммы значения I линии в холостом опыте и 3-х кратных флуктуаций (среднеквадратического отклонения (СКО)) сигнала холостого опыта.

При определении низких C элементов предпочтение обычно отдается наиболее сильным («последним») аналитическим линиям, т.е. линиям с минимальным пределом обнаружения. Естественно, что выбранные линии должны быть свободны от неразрешенных спектральных линий третьих элементов, а значения их I не должны

выходить за линейный динамический диапазон детектирующей системы. При количественных измерениях средних и больших C предпочтительнее использовать менее интенсивные линии, поскольку в этом случае меньше будет сказываться эффект самопоглощения и меньше вероятность выхода за динамический диапазон детектора.

1.8. Устройство атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой

Спектральная установка для анализа методом АЭС включает в себя следующие элементы (рис. 1.8.1):

- источник света, в котором осуществляется испарение вводимой пробы, ее атомизация, а также возбуждение атомов с последующим излучением спектральных линий;
- спектральный прибор, который с помощью диспергирующего элемента раскладывает излучение от источника света в спектр (и, опционально, выделяет интересующий участок λ , в этом случае спектральный прибор является монохроматором);
- регистрирующее устройство, фиксирующее зависимость интенсивности I от λ (или I одной выделяемой спектральной линии в случае монохроматора).

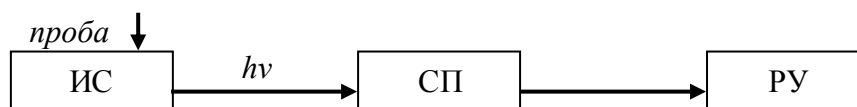


Рисунок 1.8.1. Блок-схема установки для атомно-эмиссионного анализа: ИС – источник света, СП – спектральный прибор, РУ – регистрирующее устройство

Высокочастотный факельный разряд в Ag при атмосферном давлении – индуктивно связанная плазма – вошел в аналитическую практику в 70-80-х годах XX века. Данный источник в настоящее время широко используется как в атомно-эмиссионной спектроскопии, так и масс-спектрометрии.

Внешний вид горелки и формы образующейся плазмы изображен на рис. 1.8.2. Диаметр горелки, изготовленной из кварца, варьируется в диапазоне 10–18 мм (большие горелки дают лучшее испарение и атомизацию пробы, но характеризуются большим расходом Ag высокой чистоты). Пробоподающий поток Ag включается сначала без пробы, потом включается высокочастотный индуктор, затем поджиг – слабый разряд (искровой или импульсный) для создания первичной плазмы. Плазменный тороид при этом не должен касаться стенок, для чего подается охлаждающий поток Ar (распространяется по спирали вокруг стенки, из-за чего формируется тороидальная форма плазмы).

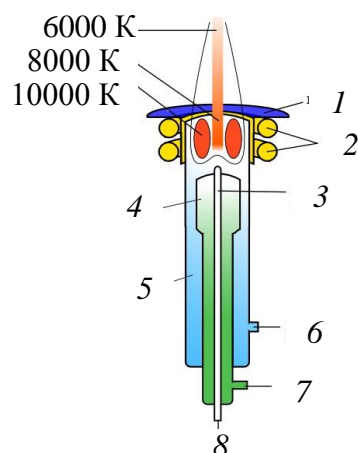


Рисунок 1.8.2. Внешний вид горелки индуктивно-связанной плазмы с указанием распределения температур: 1 – кварцевая крышка, 2 – витки индуктора, 3 – капиллярная трубка ввода пробы, 4 – плазменная трубка, 5 – охлаждающая трубка, 6 – охлаждающий поток Ar, 7 – плазмообразующий поток Ar, 8 – пробоподающий поток Ar

Наибольшей температурой обладает плазменный тороид. По мере удаления вверх от индуктора температура плазмы в конусе уменьшается. Саму пробу визуально видно как темный канал. Температура в нем меньше, т.к. энергия затрачивается на испарение растворителя и пробы, диссоциацию молекул, атомизацию. Возбуждение атомов происходит вокруг этого канала. Аналитической зоной может являться любая область плазмы над индуктором, оптимальный вариант зависит от определяемого элемента, диапазона концентраций и подбирается экспериментально. Также возможен аксиальный обзор, при котором все излучение от плазмы подается в спектральный прибор, например, с помощью поворотного зеркала (рис. 1.8.3).

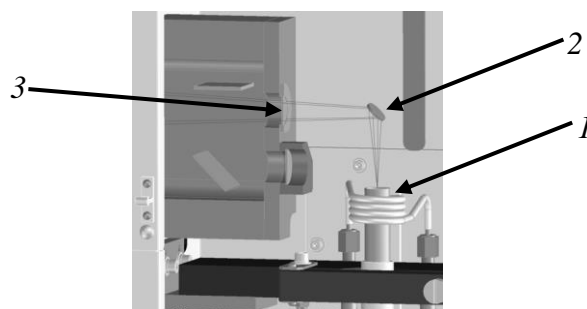


Рисунок 1.8.3. Система фокусировки излучения при аксиальном обзоре: 1 – горелка, 2 – поворотное зеркало, 3 – входная щель спектрального прибора

Индуктивно связанная плазма характеризуется возможностью одновременного определения большого числа элементов и низкими пределами обнаружения (для большинства элементов они составляют 1-10 мкг/л). Погрешность измерений находится на

уровне 3-7% отн. Достоинством источника также является отсутствие электродов и возбуждение атомов в избытке рабочего газа, вследствие чего метод характеризуется крайне низким влиянием макросостава проб на параметры плазмы.

Подача пробы в плазму осуществляется аналогично случаю пламенного источника света / атомизатора. Матричные влияния также во многом аналогичны пламени и проявляются в различии физических параметров (вязкости и плотности) анализируемых проб и градуировочных растворов. По этой причине для многих проб необходим этап пробоподготовки, заключающийся в разбавлении пробы (в простых случаях) или минерализации (для проб сложного состава) с последующим разбавлением. Кроме того, не рекомендуется прямой ввод проб с большим содержанием и содержанием органических компонентов, поскольку в этом случае возможно отложение солей и сажи на стенках кварцевой горелки; в таких ситуациях следует предварительно разбавлять пробу (естественно, при этом происходит увеличение пределов обнаружения).

Поскольку температура плазмы достаточно высока, происходит атомизация и возбуждение многих элементов, что увеличивает возможность спектральных наложений, особенно для образцов сложного состава. Отдельно стоит отметить высокую стоимость анализа, связанную с большим расходом рабочего газа – Ar высокой чистоты, поскольку скорость подачи охлаждающего потока может достигать до 15 л/мин. Еще одним недостатком является возможность прямого анализа только жидких проб.

В АЭС спектральный прибор с помощью диспергирующего элемента должен разложить в спектр свет от источника света, который затем регистрируется целиком (или, в случае монохроматора, происходит регистрация предварительно выделенной спектральной линии). Поскольку АЭС и атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС) основаны на единых физических принципах и аналитическим сигналом в обоих методах является электромагнитная энергия в оптическом диапазоне длин волн, то и общее устройство спектральных приборов в данных методах будет единым. Принципиальная схема спектрального прибора изображена на рис. 1.8.4.

С помощью осветительной системы на входной щели спектрального прибора фокусируется свет от источника света. Входная щель служит для создания гомоцентрического пучка, из него коллиматорный объектив далее формирует строго параллельный пучок (т.к. такой пучок затем отклоняется в зависимости от длины волны). Диспергирующий элемент расщепляет данный пучок по углу отклонения на множество параллельных пучков, отличающихся длинами волн. Камерный объектив фокусирует проходящие через него параллельные пучки света в своей фокальной плоскости. В результате параллельные пучки преобразуются в пространственно разделенные

изображения входной щели. Для дискретного подмножества параллельных пучков света получаются спектральные линии, а для непрерывного – сплошной спектр.

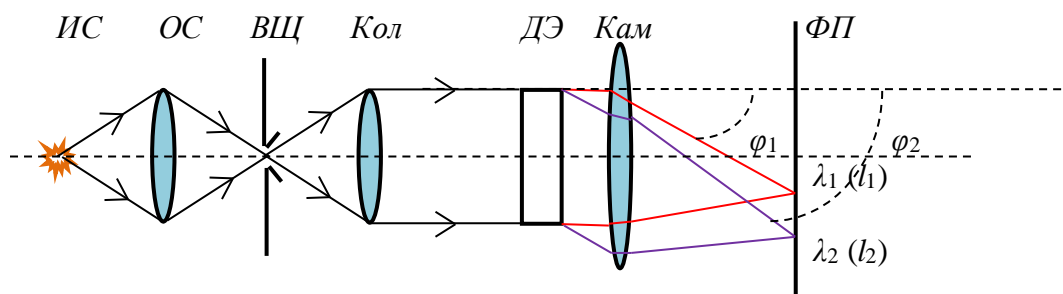


Рисунок 1.8.4. Принципиальная схема спектрального прибора с указанием углов отклонения φ спектральных линий с различными длинами волн λ : ИС – источник света, ОС – осветительная система, ВЩ – входная щель, Кол – коллиматорный объектив, ДЭ – диспергирующий элемент, Кам – камерный объектив, ФП – фокальная плоскость

Оптическая схема спектрального прибора, как и принципиальная (рис. 1.8.4), включает в себя основные узлы (например, входная щель – коллиматор – диспергирующий элемент – камерный объектив – детектор). Однако, ее графическое изображение приводится таким образом, чтобы сохранить геометрию спектрального прибора и относительное расположение всех элементов в нем. Из оптической схемы также должно быть очевидно направление светового потока и его разложение в спектр (для удобства иногда спектральные схемы приводятся в нескольких проекциях).

Для примера на рис. 1.8.5 изображена оптическая схема спектрального прибора ДФС- 8. В ней свет попадает в прибор через входную щель, которая служит для создания гомоцентрического пучка. Затем излучение направляется на коллиматорный объектив с помощью плоского поворотного зеркала, которое используется только для поворота излучения и таким образом позволяет уменьшить габариты прибора. Роль коллиматора, преобразующего гомоцентрический пучок света в параллельный, выполняет сферическое вогнутое зеркало.

После этого параллельное излучение разлагается дифракционной решеткой в набор параллельных пучков, каждый из которых отклоняется на свой угол в зависимости от длины волны. Параллельные пучки преобразуются камерным объективом, в качестве которого используется то же сферическое зеркало, в набор пространственно разделенных сходящихся пучков, которые фокусируются на твердотельном детекторе в виде спектральных линий.

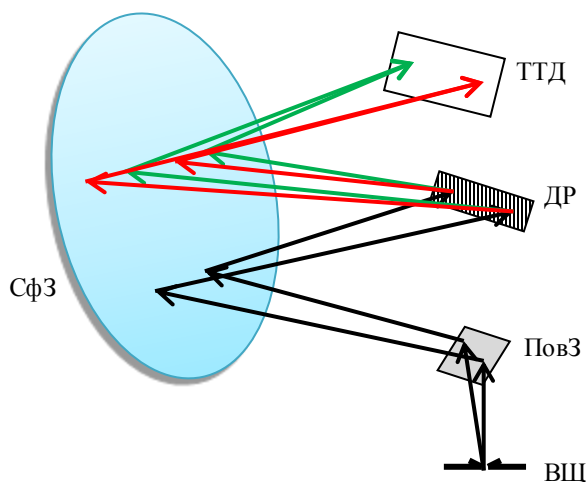


Рисунок. 1.8.5. Оптическая схема спектрального прибора ДФС-8 (схема Эберта-Фаста):
 ВЩ – входная щель, ПовЗ – поворотное зеркало, СфЗ – сферическое вогнутое зеркало,
 ДР – дифракционная решетка, ТТД – твердотельный детектор

В АЭС могут использоваться три способа регистрации: визуальный, фотографический и фотоэлектрический. Фотоэлектрическая регистрация основана на явлении фотоэффекта: внутреннего или внешнего. В современных приборах, позволяющих проводить многоэлементный анализ, предпочтение отдается фотоэлектрической регистрации на основе внутреннего фотоэффекта – при попадании светового потока на ячейку детектора, например, фотодиод, в ней возникает пропорциональный I электрический заряд, который и детектируется. В качестве регистрирующего устройства используются твердотельные полупроводниковые детекторы, представляющие собой большой массив элементарных регистрирующих ячеек. Полупроводниковые детекторы чувствительны во всем оптическом диапазоне, рабочая область выбирается исходя из конструкционных особенностей спектрального прибора и размеров регистрирующей системы.

Информация, получаемая с помощью твердотельных детекторов, представляет собой большой массив чисел, каждое из которых является результатом измерения интенсивности света на очень малом участке спектра, соответствующем фоточувствительной ячейке. Таким образом, регистрируется цифровое изображение спектра – зависимость I излучения от λ (рис. 1.8.6).

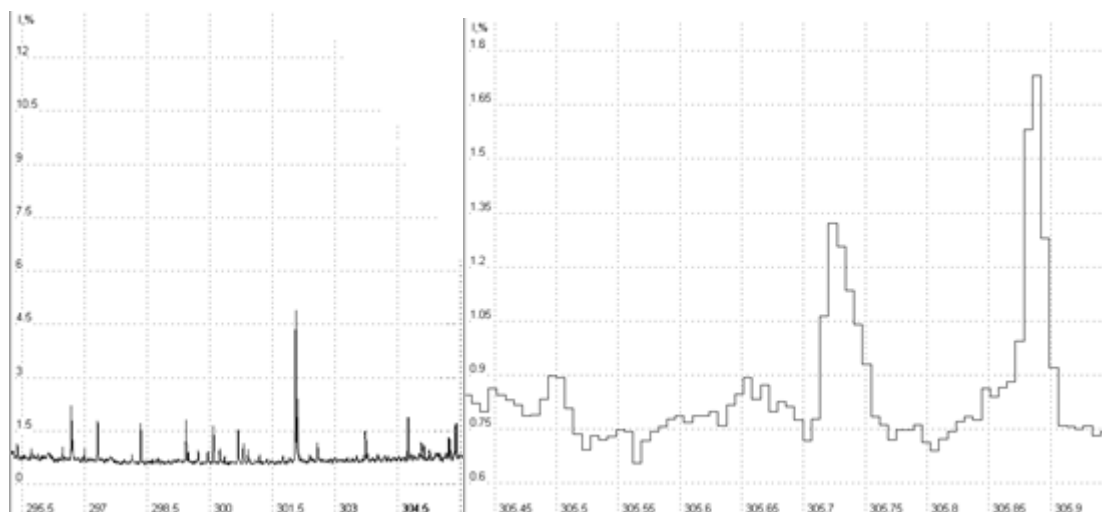


Рисунок 1.8.6. Участок спектра в различном масштабе, зарегистрированный твердотельным детектором, каждый выступ – сигнал от отдельной ячейки

В данном практическом курсе работы выполняются на эмиссионном спектрометре параллельного действия с индуктивно связанной плазмой Shimadzu ICPE-9000, внешний вид которого показан на рис. 1.8.7. Подготовка прибора к работе осуществляется инженерами и не входит в данный курс. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включение прибора и управляющего программного обеспечения.
- Настройка параметров регистрации, условий проведения измерений, перечня элементов, введение характеристик стандартных образцов и анализируемых проб.
- Запуск потока рабочего газа, поджиг плазмы, охлаждение детектора.
- Коррекция профилирования детектора.
- Промывка системы подачи пробы деионизированной водой во избежание эффекта памяти.
- Последовательный ввод в плазму и анализ «нулевого стандарта» и серии градуировочных растворов, начиная с меньшей концентрации. Регистрацию спектра следует проводить только при равномерной подаче раствора в распылительную камеру (после прохождения воздушного пузыря через капилляр).
- Промывка системы подачи пробы деионизированной водой во избежание эффекта памяти.
- Построение по полученным данным градуировочных зависимостей для каждого определяемого элемента. Проверка метрологических характеристик полученных зависимостей (угла наклона, кривизны, сходимости результатов). В случае существенного отклонения точек следует повторить процедуру подачи растворов в плазму, если вновь

получен неудовлетворительный результат, следует повторить процедуру приготовления градуировочных растворов.

- Последовательный ввод в плазму и анализ холостой и анализируемой проб. При переходе от одной пробы к другой следует промывать капилляр водой или другим подходящим растворителем.
- Получение результатов для всех определяемых элементов по построенным градуировочным зависимостям. В случае, если регистрируемая интенсивность в пробах «зашкаливает», необходимо выбрать другую линию. В случае, если определенная концентрация выходит за диапазон градуировки, пробу следует разбавить и повторить измерения.
- Тушение плазмы, прекращение подачи газа, выключение прибора.
- Настройка метода расчета интенсивности и учета фонового излучения. Перепроверка полученных данных.
- Создание отчета экспериментальных данных.

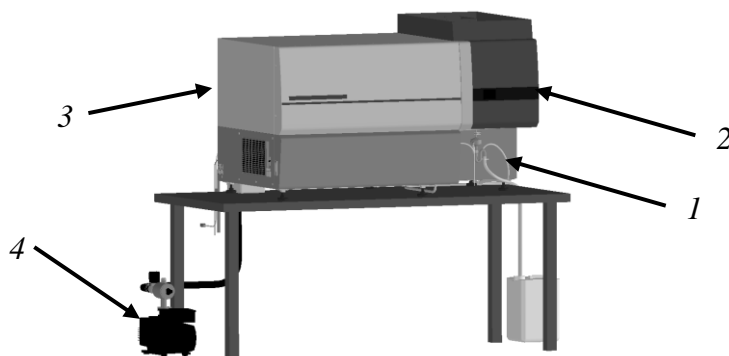


Рисунок 1.8.7. Внешний вид спектрального прибора Shimadzu ICPE-9000:

1 – капилляр подачи пробы, 2 – блок с горелкой, 3 – блок разложения света в спектр,
4 – вакуумный насос

1.9. Программное обеспечение для обработки спектральной информации «ICPEsolution»

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием спектрального прибора ICPE-9000, регистрация и обработка спектральных данных производится в программном обеспечении «ICPEsolution», вид рабочего окна которого представлен на рис. 1.9.1.

Выбор определяемых элементов и спектральных линий

Перед регистрацией спектров следует установить параметры системы регистрации и подачи рабочих газов (данные операции выполняются инженером по эксплуатации

оборудования). Далее следует выбрать определяемые элементы. Для этого необходимо последовательно выбрать «Method» (на панели инструментов 4 на рис. 1.9.1) и «Analysis Elements and Wavelengths Registration». В появившемся окне выбора определяемых элементов (рис. 1.9.1) сначала необходимо выбрать тип анализа: качественный / количественный / внутренний стандарт (в области 1 на рис. 1.9.2). Затем в случае количественного анализа необходимо поочередно выбирать определяемые элементы (в области 2 на рис. 1.9.2) и спектральные линии (в области 3 на рис. 1.9.2). Следует иметь в виду, что в области выбора спектральных линий для каждого элемента отображается небольшой перечень наиболее оптимальных спектральных линий с указанием их длин волн и ориентировочных пределов обнаружения (чем меньше данное значение, тем более чувствительной является соответствующая линия). Спектральную линию каждого элемента необходимо добавить в таблицу анализа, нажав на кнопку «Add» (5 на рис. 1.9.2). Все выбранные спектральные линии отображаются в области 4 на рис. 1.9.2, если какая-то линия была добавлена ошибочно, ее можно исключить, поставив галочку в ячейке столбца «Excl».

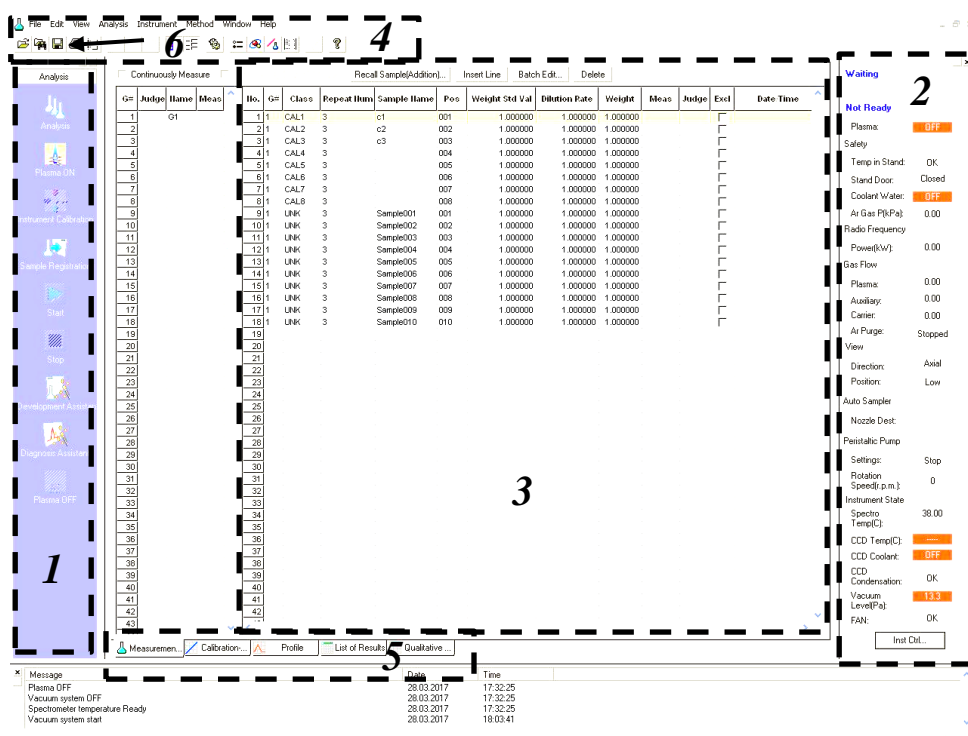


Рисунок 1.9.1. Внешний вид рабочего окна программы «ICPEsolution»: 1 – область задач спектрального прибора, 2 – область рабочих параметров спектрального прибора, 3 – основное окно данных, 4 – панель инструментов, 5 – область вкладок, 6 – кнопка печати общего отчета с данными

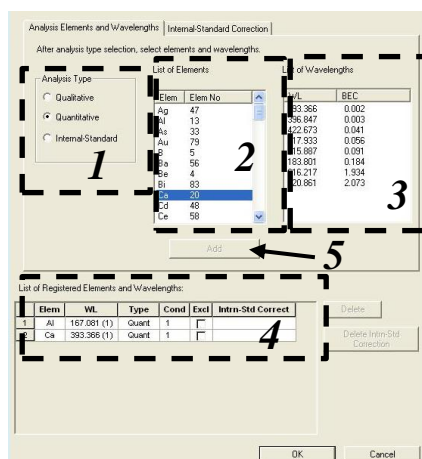


Рисунок 1.9.2. Окно выбора определяемых элементов: 1 – область выбора типа анализа, 2 – область выбора элементов, 3 – область спектральных линий, 4 – область используемых спектральных линий, 5 – кнопка добавления выбранной спектральной линии в таблице анализа

Настройка параметров стандартных образцов

Выбор стандартных образцов и введение их характеристик производится в соответствующем окне (рис. 1.9.3), которое вызывается последовательным выбором опций «Method» (на панели инструментов 4 на рис. 1.9.1) и «Standards Registration». В данном окне следует сначала выбрать тип количественного анализа: градуировочный график / метод добавок (в области 1 на рис. 1.9.3). Используя или не используя опцию «Display WL», можно выводить или не выводить используемые спектральные линии.

Затем необходимо добавить стандартные образцы, нажав на кнопку добавления (2 на рис. 1.9.3). В появившемся окне слева необходимо выбрать требуемое количество образцов, после чего нажать на кнопку «Add>>». Следует учитывать, что «нулевой стандарт» (холостая проба для стандартных образцов) также считается стандартным образцом. Добавленные пробы отображаются в окне справа, здесь же для удобства последующей расшифровки можно ввести произвольные имена проб (в столбце «Sample Name»), например, в качестве названий проб можно использовать соответствующие им концентрации элементов. Рекомендуется вводить стандартные образцы в порядке увеличения концентрации элементов (т.е. начинать с «нулевого стандарта»).

После этого в перечне выбранных образцов (3 на рис. 1.9.3) отобразятся все добавленные стандарты. Далее необходимо выбрать единицы измерения концентраций с помощью выпадающего меню, которое появится после нажатия на ячейку с концентрацией. Затем для каждого стандарта необходимо ввести соответствующую концентрацию определяемого элемента (в качестве разделителя целых и долей используется только точка). Количество цифр в значениях концентраций не может превышать 7 (с учетом нулей),

поэтому для корректного отображения всех концентраций следует использовать подходящие единицы измерения. При необходимости перемещения по таблице (если она не помещается в окно целиком) следует воспользоваться ползунком (внизу окна 3 на рис. 1.9.3).

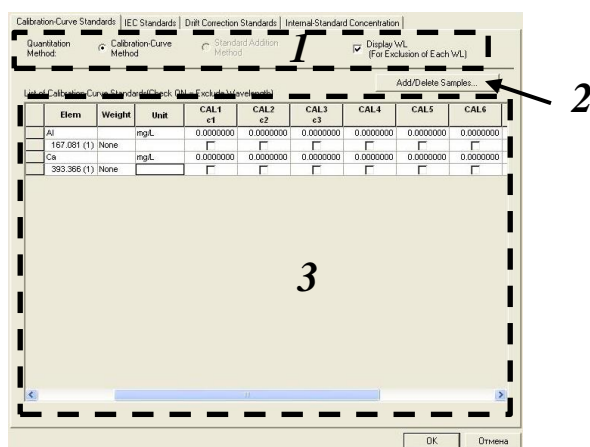


Рисунок 1.9.3. Окно настройки стандартных образцов: 1 – область выбора типа количественного анализа, 2 – кнопка добавления стандартных образцов, 3 – перечень выбранных образцов и их свойств

Настройка параметров анализируемых проб

Перед началом измерений также необходимо осуществить добавление анализируемых образцов. Данные операции выполняются на вкладке «Measurement-sample Table» (первая вкладка в области 5 на рис. 1.9.1). В основном окне (аналогично 3 на рис. 1.9.1) необходимо нажать на кнопку «Recall Sample (Addition)» (расположена сверху окна 3 на рис. 1.9.1). В появившемся окне необходимо поставить галочки у опций «Add/Insert Standards Sequence» и «Add/Insert Actual-Sample Sequence». Затем необходимо нажать на кнопку «Batch Create» и в появившемся окне добавления проб ввести количество анализируемых проб (в области 1 на рис. 1.9.4). Количество этих образцов задается с учетом холостой пробы. Также при необходимости здесь можно изменить стандартное название проб (в области 2 на рис. 1.9.4). В этом же окне задается начальный номер нумерации проб (в области 3 на рис. 1.9.4), его изменение полезно в ситуациях, когда в процессе анализа возникает необходимость добавления новых проб к уже существующим. Остальные настройки, касающиеся работы с автосемплером, остаются неизменными.

После выполнения данных операций в основном окне (3 на рис. 1.9.1) будет отображаться перечень всех стандартных образцов и анализируемых проб. Для упрощения расшифровки здесь можно ввести имена анализируемых проб (в столбце «Sample Name») и изменить (при необходимости) имена стандартных образцов. Здесь же задается количество параллельных определений каждого образца (как стандартных, так и анализируемых) путем

изменения соответствующего значения в ячейках столбца «Repeat Num». Остальные настройки, касающиеся работы с автосемплером, остаются неизменными.

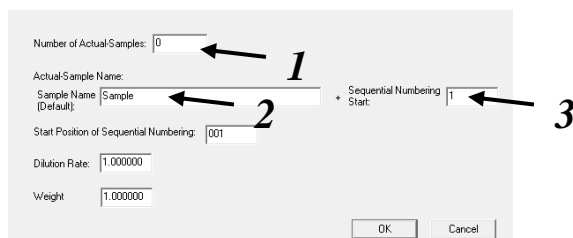


Рисунок 1.9.4. Окно добавления анализируемых проб: 1 – область ввода количества анализируемых проб, 2 – область ввода стандартного названия проб, 3 – область ввода начального номера добавляемых проб

Запуск спектрального прибора

Перед включением спектрального прибора необходимо открыть вентиль на баллоне рабочего газа, включить вентиляцию и запустить блок охлаждения (данные операции выполняются инженером по эксплуатации оборудования). После этого необходимо нажать на кнопку «Plasma ON» (находится в области 1 на рис. 1.9.1) и в появившемся окне выбрать «Start».

После этого необходимо выждать некоторое время, требуемое для охлаждения детектора до требуемых температур, обычно -15°C (для снижения и стабилизации сигнала темнового тока). Свидетельством выхода на рабочий режим является смена цвета всех ячеек в области рабочих параметров (2 на рис. 1.9.1) с красного на синий.

Затем необходимо провести корректировку профилирования спектрального прибора и калибровку регистрируемых интенсивностей. Для этого следует нажать на кнопку «Instrument Calibration» (находится в области 1 на рис. 1.9.1). Первый этап корректировки проводится по линиям Ag при введении в плазму деионизированной воды в качестве пробы. Второй этап корректировки проводится по линиям Ba и Al при введении в плазму раствора, содержащего указанные элементы в концентрации 10 мг/л. По окончании данных процедур спектральный прибор готов к работе.

Регистрация спектров

Регистрация спектров проб осуществляется в том порядке, в котором пробы выведены в основном окне измерений (3 на рис. 1.9.1). Обычно порядок следующий: «нулевой стандарт» – стандартные образцы в порядке увеличения концентраций – анализируемые пробы. Для регистрации спектра пробы сначала необходимо подать соответствующий раствор в плазму, после чего нажать на кнопку «Start» (находится в области 1 на рис. 1.9.1).

Выполнение всех параллельных измерений производится автоматически. Свидетельством окончания измерения является синяя надпись «Ready» вверху области рабочих параметров спектрального прибора (2 на рис. 1.9.1). После этого осуществляется промывка системы (при необходимости), подача в плазму следующего раствора и регистрация спектров.

Построение градуировочных графиков

Градуировочные графики отображаются в основном окне (3 на рис. 1.9.1) на вкладке «Calibration-Curve» (вторая в области 5 на рис. 1.9.1). Несмотря на то, что традиционно градуировочные зависимости в атомно-эмиссионной спектроскопии строятся в координатах $\lg I - \lg C$, данное программное обеспечение использует формулу:

$$C = aI^3 + bI^2 + cI + d,$$

где C – концентрация элемента в выбранных единицах измерения,

I – интенсивность спектральной линии

a, b, c, d – параметры уравнения, определяемые экспериментально.

Изначально градуировочные графики строятся в виде линейной зависимости (коэффициенты a, b в приведенном выше уравнении равны 0) и с учетом всех используемых точек (стандартных образцов). Все детекторы, используемые в атомной спектроскопии, в том числе и полупроводниковые, обладают верхним порогом линейного динамического диапазона – максимальным значением интенсивности, которое может быть зарегистрировано. «Зашкаленные» интенсивности в программном обеспечении отображаются символом «!!!!!!». В случае, если сигнал в каком-либо стандартном образце «зашкаливает», градуировочная зависимость не может быть построена (например, для Mg, Mn, Na, Ni на рис. 1.9.5).

Для того, чтобы исправить параметры расчета какого-либо градуировочного графика, нужно двойным щелчком мыши на данном графике (в области 1 на рис. 1.9.5) вызвать окно настроек (рис. 1.9.6). В данном окне в области стандартных образцов (4 на рис. 1.9.6) следует исключить «зашкаленные» интенсивности, поставив для соответствующих проб галочку в ячейке столбца «Excl». Когда все «зашкаленные» интенсивности будут исключены, в области графика (1 на рис. 1.9.6) будет проведена соответствующая градуировочная кривая и отобразится значение коэффициента корреляции r , в области параметров уравнения (3 на рис. 1.9.6) появятся значения коэффициентов уравнения. Также в области стандартных образцов аналогичным образом следует исключить образцы, значения интенсивности в которых меньше значения «нулевого стандарта» (например, на рис. 1.9.6 такое имеет место для образца CAL2 при «нулевом стандарте» CAL1).

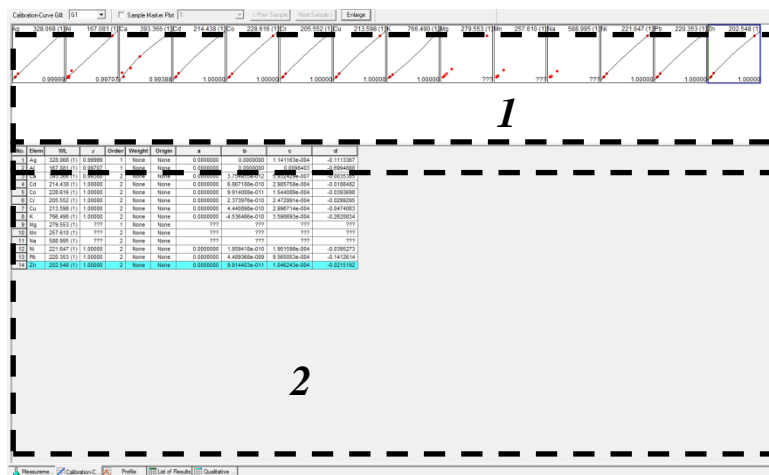


Рисунок 1.9.5. Внешний вид основного окна вкладки Calibration-Curve: 1 – область градуировочных графиков, 2 – таблица параметров градуировочных графиков

Метод наименьших квадратов, используемый для построения градуировочной зависимости, основан на достижении минимальных квадратов отклонений абсолютных значений от идеальной зависимости. Недостатком градуировочной зависимости в координатах $I - C$ является то, что при большом диапазоне концентраций абсолютные значения отклонений всех точек примерно одинаковы, тогда как относительные значения в области малых концентраций существенно больше значений в области больших концентраций. Относительные отклонения для малых концентраций могут достигать 50% (и больше, что, естественно, свидетельствует о невозможности использования данной градуировочной зависимости для количественного определения малых концентраций. Данный факт имеет место в том числе при коэффициенте корреляции $r > 0.99$.

Решением проблемы является сужение диапазона градуировочного графика так, чтобы отклонение определяемого значения концентрации (отображаемое в столбце «Diff of Conc» в области стандартных образцов (2 на рис. 1.9.6)) от истинного не превышало определенной величины (например, 10%). Исключение каких-либо точек (стандартных образцов) из построения градуировочной зависимости производится аналогично исключению «зашкаленных» интенсивностей. Естественно, конечный диапазон должен соответствовать определяемым концентрациям элементов в пробах (для разных элементов и разных проб необходимо подбирать свой оптимальный диапазон). В случаях, когда в серии анализируемых проб какой-либо элемент содержится в существенно отличающихся концентрациях, следует использовать различные спектральные линии (одну для малых концентраций, другую – для больших) или перестраивать градуировочную зависимость для одной спектральной линии.

Помимо сужения диапазона линейности, добиться уменьшения отклонения значений концентраций можно, используя другой порядок уравнения градуировочного графика

(квадратичный, кубический). Выбор порядка производится в окне «Order» области настроек уравнения (4 на рис. 1.9.6). При этом стоит избегать ситуаций, когда градуировочный график меняет направление (что имеет место иногда для квадратичной зависимости и часто – для кубической).

После определения оптимального диапазона концентраций и выбора порядка градуировочной зависимости необходимо убедиться в правильности построенного графика. Это проще всего сделать с помощью коэффициента корреляции r , который отображается в области графика (1 на рис. 1.9.6). В случае, если значение коэффициента неудовлетворительное, необходимо исключить «выпадающие» точки (промахи). По окончании настроек параметров построения градуировочной зависимости их нужно сохранить с помощью кнопки принятия (5 на рис. 1.9.6).

Описанную выше процедуру настройки градуировочных графиков необходимо провести для всех определяемых элементов. В случае, если значение концентрации какого-либо элемента в анализируемой пробе больше верхней границы градуировочного графика (например, при «зашкаливании» интенсивности в стандартных растворах с высоким содержанием элемента), необходимо использовать более «слабую» линию данного элемента. Добавление линий осуществляется по алгоритму, описанному выше. Для всех вновь добавленных линий необходимо произвести настройки градуировочных графиков.

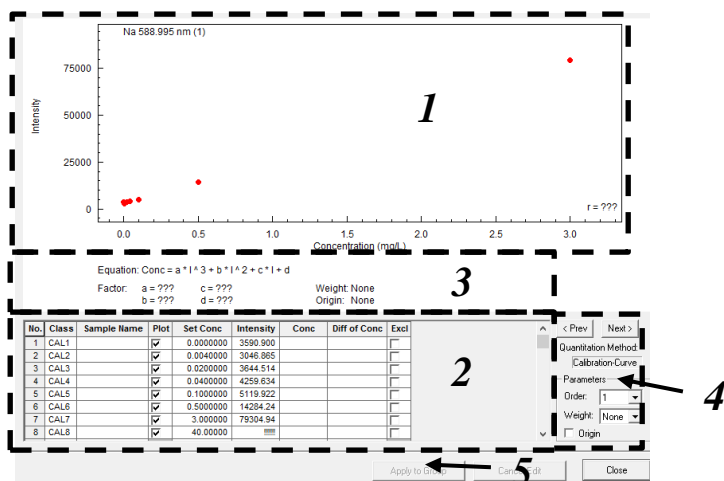


Рисунок 1.9.6. Окно настроек градуировочного графика: 1 – область графика, 2 – область используемых стандартных образцов и соответствующие им значения, 3 – параметры уравнения градуировочного графика, 4 – область настроек уравнения градуировочного графика, 5 – кнопка принятия настроек градуировочного графика

Параметры градуировочных графиков (коэффициенты уравнения, коэффициент корреляции, порядок функции) отображаются как в соответствующих областях для каждого градуировочного графика (рис. 1.9.6), так и в сводной таблице основного окна вкладки

«Calibration-Curve» (2 на рис. 1.9.5). При желании можно построить градуировочные зависимости в координатах $\lg I - \lg C$ самостоятельно в сторонних программах, используя исходные данные. В этом случае возможно расширение диапазона определяемых концентраций и уменьшение разброса точек.

Обработка результатов анализа

Определенные в результате количественного анализа концентрации отображаются в основном окне (рис 1.9.7) на вкладке «List of Results» (четвертая в области 5 на рис. 1.9.1). Концентрации, соответствующие «зашкаленным» интенсивностям, в программном обеспечении отображаются символом «!!!!!!» (например, для Ca на рис. 8). Естественно, что в таких случаях не представляется возможным получить информацию о содержании соответствующих элементов, необходимо использование других более слабых спектральных линий. Добавление дополнительных линий производится по описанному выше алгоритму. Если же для всех более слабых спектральных линий все равно регистрируется «зашкаленная» интенсивность, соответствующие пробы необходимо разбавить и провести измерение еще раз.

В данной таблице помимо усредненных по параллельным измерениям концентраций можно отображать прочие параметры. Выбор необходимых параметров осуществляется установлением «галочек» у опций (в области 1 на рис. 1.9.7), например, вывод параллельных измерений – «Rep Meas Val», использование только оптимальной длины волны – «Only optimum W», отображение длин волн в отдельном столбце – «WL», вывод относительного стандартного отклонения для параллельных измерений – «RSD». Кроме того, детализированные результаты для какой-либо пробы можно отобразить, воспользовавшись кнопкой «Detail of Results» (находится в области 1 на рис. 1.9.7).

Sample Classification	Sample Name	G#	Ag Quant Average mg/L	Al Quant Average mg/L	Ca Quant Average mg/L	Cd Quant Average mg/L	Co Quant Average mg/L
UNK	Sample001	1		-2.46	0.0853	-0.0001 L	-0.0028 L
UNK	Sample002	1		-2.45	0.111	-0.0005 L	-0.0030 L
UNK	Sample003	1		4.31	====	0.0014	0.0002 L
UNK	Sample004	1		3.12	====	0.0014	0.0004 L
UNK	Sample005	1		-1.56	====	0.0041 L	-0.0016 L
UNK	Sample006	1		-0.642	====	0.0070 L	0.0004 L

Рисунок 1.9.7. Вид основного окна вкладки List of Results: 1 – область выводимых параметров, 2 – таблица результатов

В данном окне отображаются концентрации элементов в пробах, рассчитанные с использованием построенных градуировочных зависимостей. При этом диапазон линейности градуировочного графика не принимается во внимание, т.е. программное обеспечение аппроксимирует исходную зависимость как в область больших, так и в область

малых содержаний. Естественно, содержание, полученное при аппроксимации, нельзя считать достоверными (поскольку градуировочный график может, например, загибаться), т.о. в качестве результатов анализа следует использовать только те концентрации, которые находятся внутри диапазона градуировочного графика. При выходе за диапазон сверху следует использовать либо более слабую линию (для которой найденная концентрация укладывается в диапазон градуировочного графика), либо разбавлять пробу и проводить измерение повторно. При выходе за диапазон снизу (в том числе при отображении отрицательных концентраций, как, например, для Cd на рис. 1.9.7) в случае наиболее чувствительной линии элемент считается неопределенным (его содержание меньше нижней границы диапазона определяемых концентраций).

Изучение спектральных линий и настройка расчета их интенсивности

Данное программное обеспечение, к сожалению, не позволяет производить обзор зарегистрированного спектра целиком. Однако, имеется возможность наблюдения отдельных спектральных линий, выведенных в таблицу анализа (как до выполнения настроек градуировочных графиков, так и после). Для этого следует выбрать вкладку «Profile» (третья в области 5 на рис. 1.9.1). В появившемся окне будут отображаться миниатюрные участки спектра для всех используемых спектральных линий.

Для наблюдения за контуром линии в увеличенном масштабе следует выбрать желаемую линию (нажать на миниатюру левой кнопкой мыши, после чего она приобретет зеленоватую окраску) и нажать на кнопку «b profile view». После этого в основном окне появится шесть увеличенных областей спектра, на одной из которых будет желаемая линия. Для еще большего увеличения можно вызвать дополнительное меню (нажав на спектре правой кнопкой мыши) и последовательно выбрать опции «Result-Display Selection Options» – «1 profile view», в результате появится окно, аналогичное рис. 1.9.8.

Изначально в данном окне отображаются все спектры стандартных и анализируемых проб. При этом, поскольку содержание элемента в разных пробах может существенно отличаться, то и спектральные линии будут иметь различную интенсивность (на фоне сильных линий слабые практически не видны). Чтобы наблюдать крупномасштабное изображение линий в спектрах интересующих проб, рекомендуется вызвать окно выбора проб (с помощью кнопки «Select sample» на панели 4 на рис. 1.9.8) и выбрать в нем только анализируемые пробы (включая холостые), а также пробы стандартных образцов с концентрациями элементов, максимально близкими к анализируемому (как снизу, так и сверху), все выбранные пробы в данном окне будут подсвечены синим цветом. После этой процедуры в области спектра (1 на рис. 1.9.8) остаются спектры только выбранных проб,

каждый из которых выделен отдельным цветом. Переход между спектрами осуществляется с помощью кнопок «<Prev Sample» и «Next Sample» (расположены на панели 4 на рис. 1.9.8), при этом выбранный спектр выделяется в области спектра черным цветом, а название соответствующей ему пробы выводится в окне «Active Sample» (на панели 4 на рис. 1.9.8).

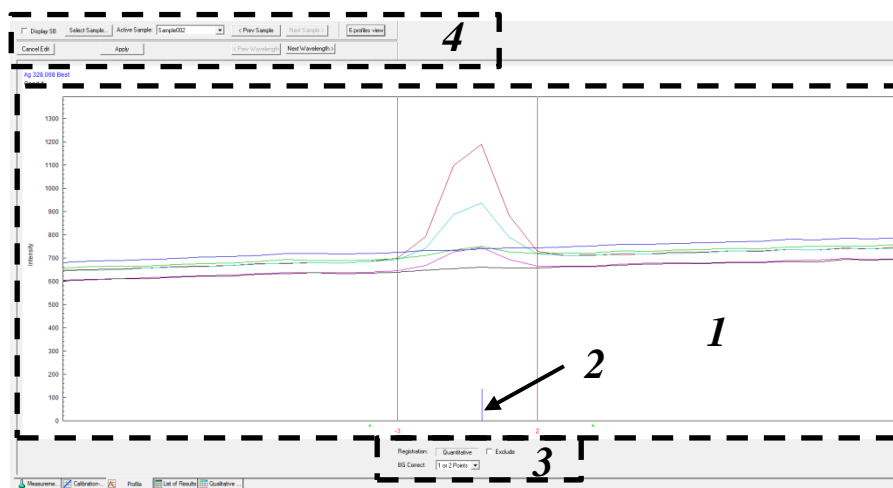


Рисунок 1.9.8. Вид увеличенного окна наблюдения спектральных линий: 1 – область спектра, 2 – теоретическое положение спектральной линии, 3 – область настройки расчета фонового излучения, 4 – панель инструментов

В данном окне можно наблюдать за контуром спектральной линии. Если реальное положение максимума спектральной линии существенно отличается от его теоретического положения, указанного синей чертой (2 на рис. 1.9.8) в спектре стандартных и/или анализируемых проб, делается заключение о наличии существенных спектральных помех. Значительная несимметричность спектральной линии относительно центра также свидетельствует о наличии спектральных наложений. Однако, следует иметь в виду, что в силу физических размеров элементарных ячеек детектора и их несимметричного расположения относительно центра линий достижение полной симметричности контура спектральной линии не всегда выполнимо. В каждом из указанных случаев необходимо использовать другую спектральную линию (добавление линий описано выше), для которой также необходимо убедиться в отсутствии спектральных наложений.

Зачастую уровень фонового излучения в стандартных и анализируемых пробах заметно отличается, что сказывается на получаемом значении аналитического сигнала. Для корректной настройки расчета фона необходимо в соответствующей области (3 на рис. 1.9.8) для опции «BG Correct» выбрать в выпадающем меню значение «1 or 2 Points». После этого в области спектра (1 на рис. 1.9.8) появятся зеленые треугольники, соответствующие точкам, по которым производится расчет фона. Данные точки необходимо расположить

(перетягивая их мышью) так, чтобы они находились вне контура спектральной линии. В случае отсутствия спектральных помех точки располагаются по обеим сторонам контура линии, при наличии мешающих линий – только с одной свободной стороны.

Выбор области интегрирования для расчета интенсивности спектральной линии осуществляется путем вызова дополнительного меню (нажав на спектр правой кнопкой мыши) и выбора опции «Wavelength-Direction Integration-Range Settings». После этого в области спектра (1 на рис. 1.9.8) появятся красные вертикальные линии, соответствующие используемой области. В стандартном режиме программное обеспечение в качестве аналитического сигнала использует интегральную интенсивность по двум диодам (пикселям) детектора относительно теоретического положения линии (по одному диоду слева и справа). Однако, реальный контур может выходить за рамки двух диодов, реальное положение максимума также может быть смещено. Поэтому область интегрирования необходимо определить самостоятельно, перетягивая мышью соответствующие красные линии в области спектра так, чтобы в расчет брался весь (или почти весь) контур спектральной линии в анализируемых пробах и стандартных образцах.

После того, как все необходимые настройки для данной линии будут выполнены, их необходимо применить ко всем спектрам, нажав на кнопку «Apply» (находится на панели 4 на рис. 1.9.8). После этого следует перейти к исходному окну с миниатюрными участками спектра, последовательно нажимая кнопку «6 profiles view» (находится на панели 4 на рис. 1.9.8) и «Multi» (появится на том же месте).

Операции настройки оптимального способа расчета интенсивности необходимо повторить для всех используемых спектральных линий. Естественно, что после изменения расчета аналитического сигнала изменятся и градуировочные графики, поэтому проверку правильности их построения необходимо повторить. После этого в окне результатов на вкладке «List of Results» будут доступны корректные данные по анализу проб.

Экспорт данных в сторонние программы

В большинстве случаев данные из таблиц можно экспортировать в сторонние программы (например, в MS Excel) с помощью комбинации «Ctrl+C». Кроме того, данные как из таблиц, так и из окон градуировочных графиков и спектров можно экспортировать в виде pdf-файла, воспользовавшись опцией «Печать» или «Print» (вызывается правой кнопкой мыши) и выбрав соответствующий принтер.

Также по результатам работы можно сформировать полный отчет данных, воспользовавшись кнопкой печати (6 на рис. 1.9.1). В появившемся окне на вкладке «Print Element» можно выбрать, для каких элементов выводить информацию (по умолчанию

используются все элементы, добавленные при анализе). На вкладке «Quantitative/Qualitative Values» с помощью установки галочек у соответствующих опций можно выводить в отчет различную информацию, например, значения параллельных измерений «Repeat Measurement Values», среднеквадратичное отклонение «SD», относительное среднеквадратичное отклонение «RSD», значения интенсивности «Intensity», вывод данных для всех спектральных линий «all Wavelengths» или только оптимальных «Only Optimum Wavelength».

На вкладке «Batch Printing Parameters» с помощью установки галочек у соответствующих опций выбираются данные, выводимые в отчет, а именно: свойства файла со спектрами «File Properties», условия проведения анализа «Measurement Conditions», отдельный перечень элементов и используемых спектральных линий «Registered elements and WL», градуировочные графики «Calibration-Curve Graph», таблицы-перечни стандартных образцов «Calibration-Curve Table», результаты количественного анализа «Qualitative Results», значения концентраций «Qualitative Values», данные по стандартным образцам «Calibration-Curve Stds» и анализируемым пробам «Unknown Sample».

Вывод в отчет данных всех перечисленных параметров позволяет получить все значения, необходимые для составления отчета по лабораторной работе. Итоговый файл можно как распечатать, так и сохранить в виде pdf-файла (последнее более предпочтительно, т.к. для последующей обработки не придется перенабивать значения вручную).

1.10. Лабораторная работа «Определение растворенных форм элементов в природных водах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой»

на основе ПНД Ф 14.1:2:4.135-98

Цель работы: знакомство с методологией количественного атомно-эмиссионного анализа, приобретение опыта работы с атомно-эмиссионным спектрометром с индуктивно-связанной плазмой, изучение основ количественного анализа реальных объектов.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- подготовленные пробы природной воды, 15 мл
- HNO₃ 1%, 1 л
- стандартный раствор элементов (с концентрацией мг/л) Fe (2.0), Mn (1.0), Na (20), P (10), Ti (1.9), 15 мл
- моющая смесь (смесь HCl и H₂O₂), 50 мл

- набор автоматических дозаторов с одноразовыми наконечниками и мерных пипеток
- колба мерная вместимостью 50 мл 2 кл, 12 шт
- колба мерная вместимостью 10 мл 2 кл, 9 шт
- стаканчик для отбора раствора вместимостью 20 мл, 3 шт
- спектральная установка Shimadzu ICPE-9000, 1 шт

Ход работы:

- Подготовленные анализируемые и холостые пробы разбавить в мерных колбах вместимостью 50 мл в 10 и 100 раз, в качестве раствора для разбавления использовать HNO_3 1%.
- Разработать схему приготовления 7 градуировочных растворов, содержащих определяемые элементы в диапазоне 0.001–1 мг/л (расчеты вести по Mn) в мерных колбах вместимостью 10 мл с учетом имеющихся в наличии пипеток и дозаторов для взятия аликвот. Представить преподавателю схему приготовления растворов.
- Приготовить описанные выше градуировочные растворы (головной раствор запрещено отбирать из исходной емкости). Готовить раствор с максимальной концентрацией (соответствующий исходному стандартному раствору) не нужно. В качестве основы растворов использовать HNO_3 1%. Дополнительно приготовить три «нулевых стандарта» (холостые пробы для стандартных растворов).
- Подготовить спектральный прибор к работе (согласно табл. 1.10.1). Добавить по одной наиболее чувствительной спектральной линии каждого определяемого элемента, ввести перечень стандартных образцов (с концентрациями для каждого) и анализируемых проб.
- Провести запуск спектрального прибора и его первичную настройку.
- Проанализировать все растворы (после последнего стандартного раствора, а также между анализируемыми и холостыми пробами промывка системы подачи раствора в распылительную камеру обязательна в течение не менее 3 мин). Для каждого раствора (градуировочного и анализируемого) проводить 3 параллельных измерения сигнала.
- Произвести настройку расчета аналитического сигнала по всему контуру спектральной линии с вычитанием фонового излучения.
- Произвести первичную настройку градуировочных графиков. Убедиться в линейности построенной градуировочной зависимости. В случае получения некорректной зависимости следует повторить измерения (для отдельных растворов) и/или приготовить растворы заново и повторить измерения.

- Оценить найденные концентрации элементов в пробах. При «зашкаливании» сигнала следует использовать более слабые линии или (если не помогает) разбавлять пробу. При превышении найденной концентрации элемента в пробе верхней границы градуировочного графика следует разбавить соответствующую пробу и повторить измерения.
 - Прекратить поддержание плазмы, остановить подачу Ar. Зафиксировать в лабораторном журнале необходимую аналитическую информацию.
 - Произвести оптимальную настройку градуировочных графиков по имеющимся данным. Убедиться в линейности построенной градуировочной зависимости. Убедиться в стабильности градуировочной зависимости, используя характеристики из табл. 1.10.2. Если условие стабильности не выполняется для какого-либо образца для градуировки, следует повторить построение зависимости, используя не все точки, и снова убедиться в стабильности.
 - Проверить правильность получаемых данных путем сравнения результатов, полученных при анализе проб с разбавлением в 10 и 100 раз, используя характеристики из табл. 1.10.2.
 - Произвести пересчет концентраций аналитов в исходном образце (мг/л). Сравнить полученные значения с литературными данными и нормативными показателями (которые следует найти самостоятельно), оценить образец с точки зрения определяемого компонента.
 - Вымыть всю используемую посуду, сдать рабочее место преподавателю.
- Отчет** должен содержать (помимо общих требований):
- шифр пробы и ее паспорт;
 - блок-схему спектральной установки и оптическую схему спектрального прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
 - исходные экспериментальные данные аналитического сигнала для стандартных и всех анализируемых растворов (параллельные измерения сигнала для каждого раствора можно не приводить);
 - крупномасштабные градуировочные графики отдельно для каждого элемента; в случае, если для количественного анализа использовалась градуировочная зависимость не во всем диапазоне концентраций, необходимо приведение двух графиков – исходного и рабочего, с объяснением причин выбора;
 - характеристики градуировочных графиков: уравнение, рабочий диапазон концентраций;

- результаты количественного анализа (для каждой анализируемой пробы и среднее значение) с указанием доверительного интервала, полученного после поиска и исключения выбросов;
- результаты проверки правильности при сравнительном анализе пробы, разбавленной в 10 и 100 раз;
- оценку безопасности образца с точки зрения определяемых элементов на основе информации из литературных данных и нормативных документов.

Итоговые результаты должны содержать средние значения концентраций аналитов (с указанием доверительного интервала) в исходной пробе природной воды (мг/л).

Таблица 1.10.1. Рабочие параметры эмиссионного спектрального прибора с индуктивно связанной плазмой

параметр	величина
мощность ВЧ-индуктора, кВт	1.2
скорость охлаждающего потока Ar, л/мин	10
скорость плазмообразующего потока Ar, л/мин	0.6
скорость пробоподающего потока Ar, л/мин	0.7
обзор плазмы	аксиальный
время промывки системы подачи пробы, с	0
время экспозиции, с	10
число параллельных определений стандартных растворов	3
число параллельных определений анализируемых растворов	3

Таблица 1.10.2. Значения относительного СКО воспроизводимости σ_R для различных диапазонов определяемых концентраций С

С, мг/л	σ_R , %
до 0.001	18
свыше 0.001 до 0.05	12
свыше 0.05 до 0.5	10
свыше 0.5	8

Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы

представлена по ссылке:

<https://youtu.be/QgjrzUNkSNw>



1.11. Теоретические основы количественного атомно-абсорбционного анализа

ААС основана на резонансном поглощении оптического излучения атомным газом (рис. 1.11.1). Уменьшение интенсивности излучения dI при прохождении монохроматического параллельного пучка света с начальной интенсивностью I_0 через бесконечно тонкий слой атомного газа dl , который характеризуется коэффициентом поглощения k , описывается законом абсорбции:

$$dI = -kI dl.$$

Откуда после интегрирования для I прошедшего излучения получается:

$$I = I_0 e^{-kl}.$$

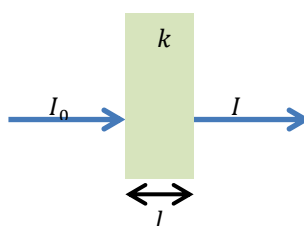


Рисунок 1.11.1. Пояснение к выводу закона абсорбции

Излучение источника света не является монохроматическим, а имеет уширение – контур линии излучения (рис. 1.11.2). Аналогичное уширение имеет место и при поглощении света атомами, коэффициент поглощения k зависит от длины волны λ . Также, чем больше коэффициент поглощения, тем больше контур поглощения. В случае использования в качестве источника излучения лампы с полым катодом контур распределения коэффициента поглощения k по λ будет шире контура линии опорного излучения. Следовательно, поглощение излучаемой спектральной линии по всей ее ширине будет происходить с практически постоянным коэффициентом поглощения k_0 . Тогда для интегрального излучения спектральной линии, имеющей более узкий контур по сравнению с абсорбционной линией, справедливо выражение:

$$\int_0^{\infty} I(\lambda) d\lambda = e^{-k_0 l} \int_0^{\infty} I_0(\lambda) d\lambda.$$

В качестве аналитического сигнала в абсорбционной спектрометрии используется оптическая плотность – абсорбционность A , которая определяется как логарифм отношения двух измеренных интегральных интенсивностей, т.е. интенсивности без поглощения света и при поглощении в атомизаторе:

$$A = \lg \frac{\int_{\lambda_0 - \delta\lambda}^{\lambda_0 + \delta\lambda} I_0(\lambda) d\lambda}{\int_{\lambda_0 - \delta\lambda}^{\lambda_0 + \delta\lambda} I(\lambda) d\lambda} = 0.43 k_0 l,$$

где $2\delta\lambda$ – ширина спектрального интервала, выделяемого монохроматором с помощью выходной щели.

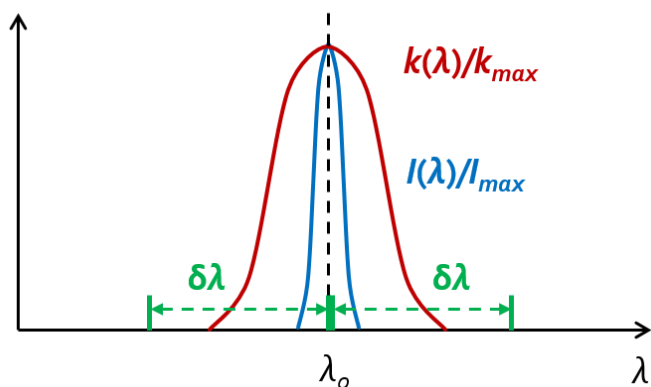


Рисунок 1.11.2. Контур линии излучения $I(\lambda)/I_{max}$, контур линии поглощения $k(\lambda)/k_{max}$ и выделяемый выходной щелью диапазон длин волн $2\delta\lambda$

Между k_0 и C поглощающих атомов в газовой фазе зависимость прямо пропорциональная, поэтому связь между A и C элемента в пробе имеет вид:

$$A = aCl,$$

где a – постоянный коэффициент для данного элемента, спектральной линии, экспериментальных условий.

Градуировочные кривые в ААС строятся в координатах $A - C$, выходят из начала координат и являются прямолинейными. Однако, данная зависимость – закон Бугера-Ламберта-Бера – выполняется только при соблюдении ряда условий:

- просвечивающее излучение должно быть абсолютно монохроматичным;
- концентрация поглощающих веществ должна быть достаточно низкой;
- физические процессы, способные ослабить мощность излучения, в т.ч. рассеяние света, должны быть несущественными;
- поглощающие вещества должны быть распределены гомогенно по объему;
- каждый фотон должен иметь одинаковую вероятность взаимодействия с веществом, т.е. исходный луч должен быть параллельным, а интенсивность излучения – гомогенной в поперечном сечении.

Из-за сложной и не описываемой теоретически зависимости A от C элементов в пробе (вследствие процессов испарения и атомизации) ААС не является безэталоным методом, т.е. для проведения анализа всегда требуется градуировочная зависимость, полученная с помощью определенного числа стандартных образцов. При этом стандартные образцы должны не только обладать точно известным содержанием определяемых элементов, но и соответствовать анализируемой пробе по макросоставу для нивелирования матричных эффектов. В случае, если по последнему критерию не удастся подобрать стандартные

образцы (ввиду их редкости, большой стоимости или отсутствия), используются дополнительные приемы уменьшения матричного влияния, основанные, по большей части, на пробоподготовке анализируемого образца.

Поскольку описанные выше условия выполнения закона Бугера-Ламберта-Бера на практике выполняются частично, линейная зависимость наблюдается только в средах малой оптической толщины, т.е. с малой концентрацией поглощающих веществ. Другие причины отклонения – ионизация элементов, химические помехи, наличие мультиплетов спектральных линий, излучение атомизатора, рассеяние света, неоднородность распределения атомов. Естественно, что количественное определение элементов следует проводить только в пределах линейности градуировочного графика (допускается использование квадратичной функции, но диапазон градуировочного графика при этом увеличивается несущественно). Поэтому после построения графика во всем диапазоне содержаний необходимо выбрать такой меньший диапазон, который, во-первых, соответствует анализируемой пробе, во-вторых, характеризуется линейной зависимостью с малой относительной погрешностью определения всех точек.

Поскольку фактический ход градуировочной зависимости не поддается теоретическому описанию, невозможно заранее предсказать ее поведение (использовать аппроксимацию). Следовательно, определение концентраций элементов следует проводить только внутри диапазона имеющегося градуировочного графика. В случае, когда определяемая концентрация оказывается выше верхней границы диапазона, необходимо соответствующим образом разбавить пробу и повторить анализ.

Аналитический сигнал любой пробы состоит из сигнала непосредственно от определяемого элемента, и от элемента, присутствующего в основе пробы и используемых реактивах (даже деионизированная вода может содержать некоторые элементы). По этой причине при построении градуировочных графиков используется «нулевой стандарт» – холостая проба для стандартных растворов. В зависимости от используемого программного обеспечения сигнал холостой пробы либо вычитается из сигналов всех остальных точек, либо используется непосредственно как нулевая точка. Естественно, остальные точки, соответствующие растворам с известным ненулевым содержанием определяемого элемента, могут использоваться только в случае, когда значение A больше суммы значения A в холостом опыте и $3 \cdot \text{СКО}$ сигнала холостого опыта.

1.12. Устройство атомно-абсорбционного спектрометра с пламенной атомизацией

Спектральная установка для ААС (рис. 1.12.1) включает в себя следующие элементы:

- источник света, генерирующий опорное излучение (аналитическую спектральную линию или сплошной спектр), которое направляется в атомизатор;
- атомизатор, который производит испарение вводимой в него пробы и ее последующую атомизацию, образовавшиеся атомы поглощают опорное излучение, приводя к уменьшению I исходного светового потока;
- спектральный прибор, который с помощью диспергирующего элемента раскладывает свет от источника света в спектр и выделяет интересующий участок длин волн λ , содержащий аналитическую линию;
- регистрирующее устройство, фиксирующее уменьшение I аналитической спектральной линии.

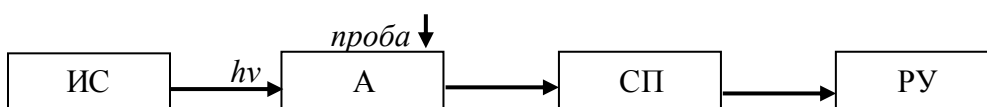


Рисунок 1.12.1. Блок-схема установки для атомно-абсорбционного анализа:

*ИС – источник света, А – атомизатор, СП – спектральный прибор,
РУ – регистрирующее устройство*

Пламя является старейшим источником света, используемым в атомной спектроскопии – с его помощью Бунзен и Кирхгоф в 1859 году по наблюдаемому спектру определяли элементный состав проб методом АЭС. В настоящее время пламя также используется и как атомизатор в ААС. При отсутствии подачи воздуха в горелку образуется диффузионное пламя, обладающее значительным свечением (что обусловлено наличием раскаленных частиц углерода). Поэтому в аналитической практике кроме потока горячего газа дополнительно подается окислитель (воздух, O_2 , N_2O), тогда пламя будет более очерчено (приобретет структуру двух конусов – рис. 1.12.2) и более жестко, а собственное свечение уменьшается или исчезает совсем.

Температура пламени определяется составом газовой смеси. Так, самое низкотемпературное пламя ($1800\text{ }^\circ\text{C}$) получается для смеси пропан – воздух, максимальную температуру — $3100\text{ }^\circ\text{C}$ — можно получить, используя автоген (смесь C_2H_2 и O_2). Смесь C_2H_2 — воздух дает промежуточную температуру ($2800\text{ }^\circ\text{C}$). Поскольку плазма пламени находится в состоянии локального термодинамического равновесия, то температура относится ко всем находящимся в ней частицам.

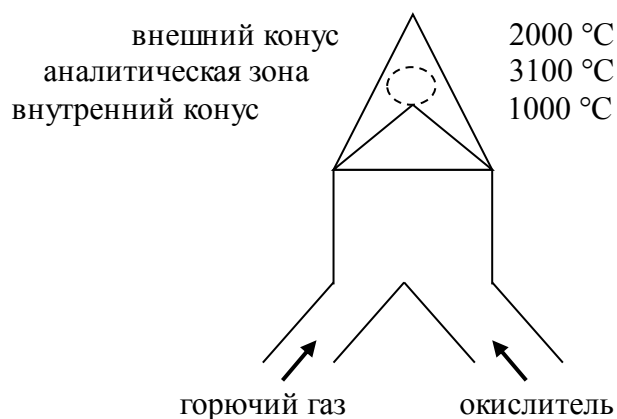


Рисунок 1.12.2. Внешний вид пламени газовой горелки и распределение температуры в нем (для газовой смеси ацетилен-кислород)

Пробу следует подавать таким образом, чтобы пламя не погасло. Поэтому растворы подают в виде распыленной жидкости — жидкого аэрозоля, генерируемого в распылительных камерах (распылителях Мейенхарда). Принцип — сдувание мелких капелек с конца капилляра (пневматические системы). Продуваемая струя рабочего газа образует у торца капилляра зону пониженного давления, в результате чего раствор перемещается по капилляру, и струя производит распыление раствора (рис. 1.12.3). Крупность получаемого аэрозоля зависит от давления газа в распылителе (задается скоростью движения газа) и от физических параметров раствора (плотности и вязкости), что особенно важно в анализе без пробоподготовки, т.к. даже образцы одной природы могут значительно отличаться по своим характеристикам.

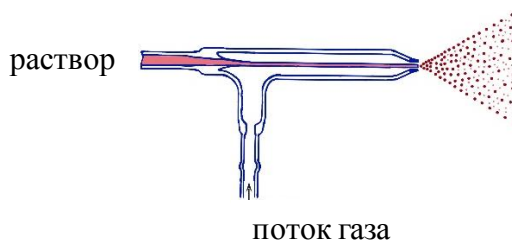


Рисунок 1.12.3. Схема пневматического распылителя концентрического типа

Для уменьшения размеров образующихся капель используют импактор (стеклянный шарик) на пути аэрозоля, при соударении с которым крупные капли разбиваются на более мелкие. Кроме этого, в распылительной системе дополнительно устанавливают спойлер — преграду, отделяющую крупные частицы аэрозоля, что повышает точность и снижает шумы. Чем мельче получаемые частицы, тем эффективнее происходит их атомизация, тем больше аналитический сигнал. Лучшая монодисперсность (меньший разброс по диаметру) позволяет получать более воспроизводимые результаты.

Температура пламени достаточна для эффективной атомизации многих химических соединений, что обусловило его широкое применение в качестве атомизатора в атомно-абсорбционной спектрометрии. Кроме этого, при рабочих температурах происходит эффективное возбуждение щелочных и щелочноземельных элементов, вследствие чего пламя используется и как источник света в атомно-эмиссионной спектрометрии. Поскольку оба метода предполагают дальнейшее разложение света в спектр и регистрацию аналитического сигнала, то современные пламенные спектральные приборы могут работать в двух режимах – эмиссионном и абсорбционном.

При работе с пламенем могут возникать помехи, которые в атомном спектральном анализе принято делить на спектральные, неспектральные и инструментальные. Первые обусловлены неполным отделением полезного сигнала от сигнала другого происхождения, т.е. возникают за счет эмиссии или абсорбции другими элементами, молекулами и радикалами, изменением уровня фона за счет молекулярного поглощения или свечения, светорассеяния. Инструментальные помехи вызваны погрешностями в работе отдельных узлов используемого прибора.

Несспектральные помехи связаны с различием физических параметров анализируемых и градуировочных растворов, что сказывается на различии скоростей распыления, размере капель, скорости поступления пробы. Главный вклад обусловлен макросоставом пробы (матричное влияние). Отдельно выделяют химические помехи — образование прочных соединений определяемого элемента и мешающего соединения (например, образование фосфатов и силикатов щелочноземельных металлов, устойчивых оксидов Al, В, гидроксидов Li). В этом случае предпочтителен переход к высокотемпературным пламенам, либо введение стадии пробоподготовки. Еще один вклад — ионизация элементов. В случае высокотемпературных пламен энергии может быть достаточно для отрыва электрона от атома и перехода в ионное состояние. При этом абсорбция и эмиссия излучения, естественно, уменьшаются. Для достижения лучших пределов обнаружения степень ионизации должна быть минимальной, для повышения правильности – постоянной. Поэтому на практике используют добавление больших количеств соединений неопределяемых щелочных металлов — буферов. Данные элементы легко ионизируются, вследствие чего в плазме появляется большое количество электронов, и ионизация прочих элементов подавляется.

Универсальное средство борьбы с помехами (всеми, кроме ионизационных) – разбавление раствора. Но, естественно, при этом повышаются пределы обнаружения. Кроме этого, возможно моделирование стандартных растворов, но эта процедура достаточно сложна для реальных проб. Используется введение специальных добавок –

модификаторов, которые могут отделять определяемый элемент (например, ЭДТА) и предотвращать связывание, переводить определяемый элемент в легколетучее соединение (хлориды, фториды), образовывать с мешающим компонентом более устойчивое соединение. Помимо этого, для устранения матичного влияния используется метод стандартных добавок, либо химическое разделение компонентов пробы (самое сложное и трудоемкое).

Пламенные горелки изготавливаются из нержавеющей стали или титановых сплавов, устойчивых к агрессивным средам. Широкое распространение получили однощелевые горелки. Поток смеси газов, проходящий через щель, позволяет получать тонкие плоские пламена с большой длиной поглощающего слоя, эмиссия пламени в этом случае минимальна в направлении спектрального прибора. Для получения стабильного пламени необходимо высокое качество стенок горелки, для чего их полируют. При этом растворы с высоким содержанием способны образовывать отложения на стенках горелки (рис. 1.12.4), избавиться от которых достаточно проблематично. При анализе проб с высоким содержанием органических веществ также возможно отложение сажи. Чем уже щель, тем выше требования к составам растворов.

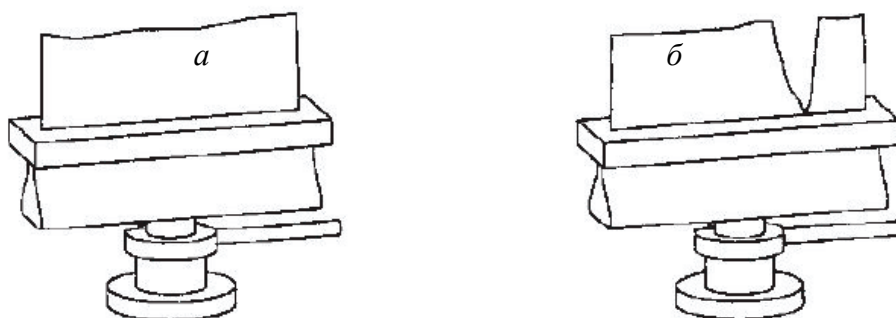


Рисунок 1.12.4. Вид пламени однощелевой горелки в рабочем состоянии (а) и в случае загрязнения горелки (б)

В случае высоких концентраций определяемых элементов в пробе возможно самопоглощение излучения невозбужденными атомами (в случае эмиссионного анализа) или высокое значение абсорбционности, нежелательное для измерений (в случае абсорбционного анализа). Решением данной проблемы может быть разбавление анализируемой пробы или поворот горелки вокруг своей оси. В последнем случае уменьшается длина оптического пути и, соответственно, количество атомов, аналитический сигнал от которых поступает в спектральный прибор. Естественно, что для каждого угла поворота горелки необходимо строить свою градуировочную зависимость.

Оптимальным для измерения аналитического сигнала в ААС является диапазон A 0.05–1, поэтому градуировочные графики рекомендуется строить в пределах указанного интервала. Минимальная погрешность определения достигается при значениях 0.2–0.3,

поэтому желательно получить абсорбционность анализируемой пробы в данном диапазоне. Если же концентрация элементов велика, рекомендуется проводить разбавление пробы подходящим растворителем, измерение аналитического сигнала и последующий пересчет на исходную концентрацию.

Аналитическое пламя отличается очень низким уровнем фонового излучения, возбуждает лишь резонансные линии элементов (спектр беден линиями). Наиболее простой, дешевый и доступный источник света и атомизатор – пламенный. При введении пробы в пламя аналитический сигнал достаточно быстро достигает максимального постоянного значения и имеет хорошую сходимость его измерений во времени. За результирующее значение обычно принимается усредненная в течение некоторого времени величина. Метод обладает достаточно высокой производительностью. К ограничениям относятся возможность анализа только жидких проб и жесткие требования к близости физических характеристик проб и стандартных образцов. В случае анализа сложных по составу проб и проб с большими концентрациями элементов возможен «эффект памяти», связанный с задержкой в системе частиц пробы. Во избежание этого анализируемые растворы либо разбавляют, либо осуществляют тщательную промывку системы (иногда с использованием кислот).

В ААС спектральный прибор с помощью диспергирующего элемента должен разложить в спектр свет от источника света, проходящий через атомизатор, затем из спектра выделяется узкий участок, который попадает на детектор. Поскольку АЭС и ААС основаны на единых физических принципах и аналитическим сигналом в обоих методах является электромагнитная энергия в оптическом диапазоне длин волн, то и общее устройство спектральных приборов в данных методах будет единым. Описание принципиальной съемы и пример оптической схемы спектрального прибора приведены ранее в разделе 1.8 (рис. 1.8.4 и 1.8.5).

При анализе сложных по составу проб измеряемая A обусловлена не только резонансным поглощением опорного излучения, но и неселективным поглощением и рассеиванием света пробой. Неселективное поглощение имеет место, например, когда в процессе испарения пробы появляются молекулы, спектральные полосы поглощения которых накладываются на линию поглощения определяемого элемента. При анализе органических объектов также может наблюдаться задымление атомизатора, приводящее к рассеиванию света. Суммарное действие можно охарактеризовать коэффициентом неселективных помех k_n , тогда суммарная измеряемая оптическая плотность определяется как:

$$A_{\Sigma} = 0.43(k_0 + k_n)l.$$

Наличие неселективных помех завышает аналитический сигнал. По этой причине необходимо использовать для градуировки стандартные образцы, по макросоставу соответствующие анализируемым пробам. Помимо этого, сужается диапазон определяемых C и ухудшается предел обнаружения. Для устранения данных недостатков используются различные способы учета неселективных помех путем коррекции измеряемой оптической плотности. Например, возможно использование дополнительного источника сплошного спектра, обычно дейтериевой лампы высокого давления с дуговым разрядом (рис. 1.12.5).



Рисунок 1.12.5. Спектральная схема дейтериевой коррекции

Данный способ коррекции фонового поглощения света основан на том, что спектральная полоса пропускания монохроматора (определяемая выходной щелью) значительно шире любой аналитической резонансной спектральной линии (рис. 1.11.2). Селективные источники света испускают линии с полушириной не более 0.005 нм, полуширина линии поглощения обычно составляет 0.01 нм, ширина полосы пропускания монохроматора находится в диапазоне 0.2-2 нм. При регистрации излучения от селективного источника света в спектральном интервале, выделяемом монохроматором, регистрируется опорное излучение и определяется суммарная оптическая плотность, т.к. происходит как поглощение резонансной линии определяемым элементом, так и неселективное поглощение.

При регистрации излучения от дейтериевой лампы также происходит уменьшение интенсивности, обусловленное атомной абсорбцией и неселективными помехами. Однако, коэффициент поглощения неселективных помех равномерно распределен по всему выделяемому монохроматором интервалу длин волн. Поэтому подавляющая доля абсорбции излучения от источника сплошного спектра приходится на неселективное поглощение, следовательно, с точностью до величины атомного поглощения регистрируемая абсорбционность равна:

$$A_0 = 0.43k_n l.$$

Тогда разность суммарного сигнала от селективного источника света и сигнала от дейтериевой лампы равна абсорбционности, обусловленной лишь резонансным поглощением атомов:

$$A = A_{\Sigma} - A_0 = 0,43k_0l.$$

При использовании такого способа коррекции необходимо следить, чтобы пучки селективного и непрерывного излучения проходили через одну и ту же геометрическую область атомизатора, и чтобы их начальная интенсивность была приблизительно одинаковой. Дейтериевую лампу используют для диапазона 190-340 нм, если нужно проводить измерения в видимой области, то используют вольфрамовую лампу (340- 852 нм).

Однако, данный способ имеет ряд недостатков. Предполагается, что атомное поглощение дейтериевой лампы незначимо по сравнению с неселективным. При больших концентрациях определяемого элемента это допущение не выполняется. В связи с наличием двух источников света их флуктуации складываются, т.е. несколько ухудшаются аналитические характеристики. Кроме того, причиной неправильной коррекции аналитического сигнала может являться неравномерное распределение коэффициента неселективного поглощения по длинам волн (что проявляется в случае молекулярной абсорбции со структурированным спектром поглощения). Если такой фон присутствует, то используют либо другую аналитическую линию, либо другие способы борьбы (температурный режим, модификаторы). Также невозможно учесть поглощение спектральных линий других элементов в пределах полосы пропускания монохроматора (следует уменьшать ширину выходной щели или использовать другую линию). Кроме того, погрешность будет вносить излучение спектральных линий атомами пробы в пределах выделяемого диапазона. Тем не менее, дейтериевая коррекция дает удовлетворительные результаты для большого числа практических случаев анализа реальных объектов.

В данном практическом курсе работы выполняются на атомно-абсорбционном спектрофотометре Shimadzu AA-7000 F, внешний вид прибора показан на рис. 1.12.6. Подготовка прибора к работе осуществляется инженерами и не входит в данный курс. Ход работы включает в себя следующие действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера):

- Включение прибора и управляющего программного обеспечения.
- Выбор определяемого элемента в программном обеспечении с указанием аналитической длины волны. Установка лампы с полым катодом, соответствующей определяемому элементу, с последующим прогреванием лампы для выхода на стабильный режим работы. Поиск аналитической спектральной линии.

- Настройка метода измерения сигнала градуировочных и анализируемых проб (единицы измерения, количество параллельных определений).
- Добавление в таблицу анализа стандартных и анализируемых проб, ввод концентраций стандартных растворов.
- Подача потока горючего газа и газа-окислителя, поджиг пламени.
- Последовательный ввод в пламя чистого растворителя («нулевого стандарта») и серии градуировочных растворов, начиная с меньшей концентрации, для измерения аналитического сигнала.
- Промывка системы подачи пробы деионизированной водой (или другим подходящим растворителем) во избежание эффекта памяти.
- Настройка метода построения градуировочного графика в программном обеспечении, включая порядок уравнения, возможность прохождения через начало координат. Проверка метрологических характеристик полученной зависимости (угла наклона, кривизны, сходимости параллельных определений). В случае существенного отклонения точек от градуировочной зависимости следует повторить процедуру подачи растворов в пламя, если вновь получен неудовлетворительный результат, следует повторить процедуру приготовления градуировочных растворов.
- Последовательный ввод в пламя и анализ холостой и анализируемой проб. При переходе от одной пробы к другой следует промывать капилляр водой или другим подходящим растворителем.
- Проверка полученных результатов анализа анализируемых проб. В случае выхода получаемых значений за диапазон градуировочного графика следует разбавить анализируемую пробу и повторить измерения.
- При последовательном анализе нескольких элементов – повторение описанных выше операций для каждого элемента.
- Тушение пламени, прекращение подачи газов, выключение прибора.
- Создание отчета экспериментальных данных.

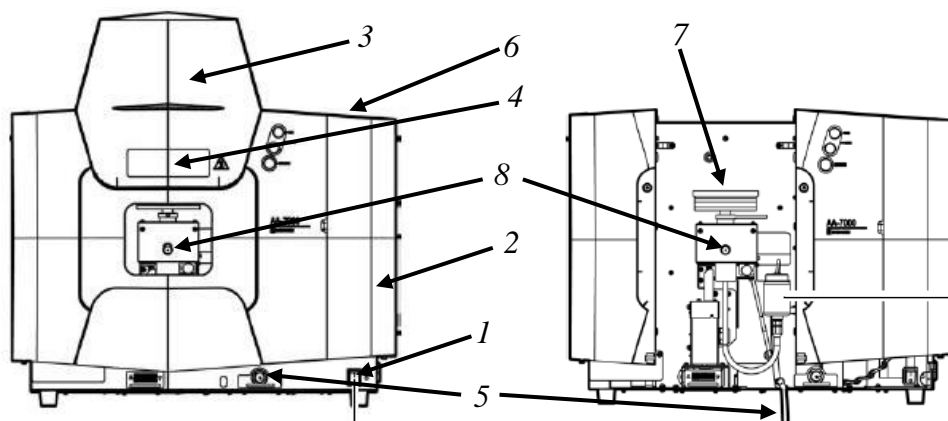


Рисунок 1.12.6. Внешний вид закрытого (а) и открытого (б) спектрального прибора Shimadzu AA-7000 F с указанием основных узлов: 1 – кнопка включения питания прибора, 2 – блок с лампами с полым катодом, 3 – защитная панель пламенной горелки, 4 – смотровое окно для наблюдения за пламенем, 5 – шланг для слива, 6 – отсек дейтериевой лампы, 7 – горелка, 8 – отверстие для капилляра, подающего пробу

1.13. Программное обеспечение для обработки спектральной информации «WizAard»

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием спектрального прибора AA-7000, регистрация и обработка спектральных данных производится в программном обеспечении «WizAard». После запуска программного обеспечения следует выбрать вкладку «Operation», затем «Measurment». В появившемся окне в поле login необходимо ввести «admin» (без кавычек), поле password следует оставить пустым. После этого запустится программное обеспечение, вид рабочего окна которого представлен на рис. 1.13.1.

Выбор определяемых элементов и условий анализа

Перед регистрацией спектров следует установить параметры системы регистрации и подачи рабочих газов (данные операции выполняются инженером по эксплуатации оборудования). Далее следует выбрать определяемый элемент. Для этого необходимо на панели инструментов (4 на рис. 1.13.1) выбрать опцию «Параметры», затем в выпадающем меню – опцию «Выбор элемента Wizard». В появившемся окне следует нажать на кнопку «Выбор элементов», после чего возникнет окно с настройками анализа (рис. 1.13.2).

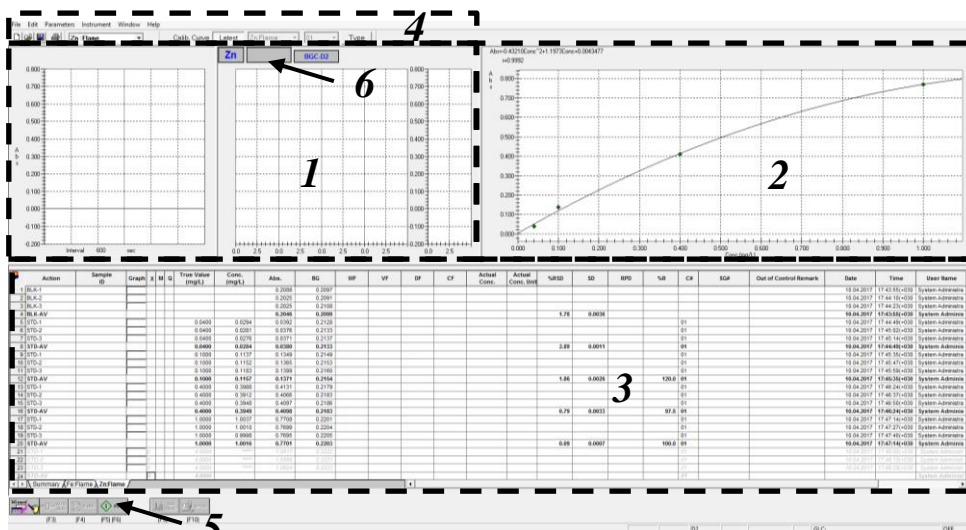


Рисунок 1.13.1. Внешний вид рабочего окна программы «ICPEsolution»: 1 – окно измерения аналитического сигнала, 2 – окно градуировочного графика, 3 – окно таблицы данных, 4 – панель инструментов, 5 – кнопка запуска измерений, 6 – область индикации текущего аналитического сигнала

В данном окне в выпадающем меню (1 на рис. 1.13.2) необходимо выбрать интересующий элемент. После чего в области настроек атомизатора и источника света (2 на рис. 1.13.2) необходимо выбрать желаемый атомизатор («Непр.пламен.метод»/«Flame continuous» – в случае пламени (в варианте ААС или АЭС), метода холодного пара или генерации гидридов, «Печь»/«Furnace» - в случае электротермической атомизации) и тип источника света («Обычная лампа»/«Normal Lamp» - стандартная лампа с полым катодом, «SR лампа»/«SR Lamp» - лампа с полым катодом с коррекцией по самообращению). По завершении данных настроек в области стандартных условий (3 на рис. 1.13.2) будут отображаться параметры проведения анализа, рекомендуемые разработчиком спектрального оборудования. Следует помнить, что эти параметры не устанавливаются автоматически.

Необходимо иметь в виду, что используемый спектральный прибор способен регистрировать за один цикл анализа только одну длину волны, т.е. является одноэлементным. При необходимости определения нескольких элементов в образцах все необходимые процедуры анализа (настройка оборудования, измерения, обработка результатов) проводятся с каждым из них последовательно.

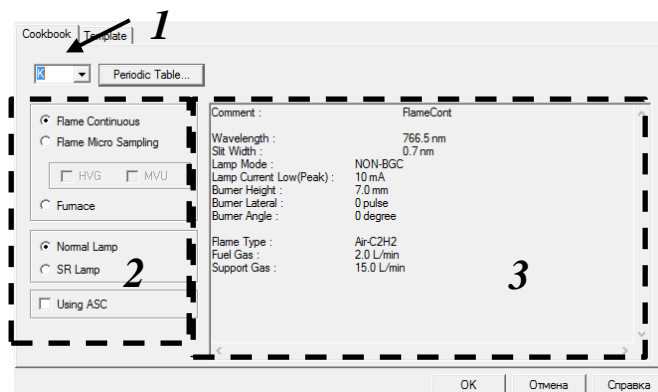


Рисунок 1.13.2. Внешний вид окна выбора определяемого элемента: 1 – выпадающее меню выбора элемента, 2 – область настроек атомизатора и источника света, 3 – область стандартных условий анализа

Выбор спектральной линии

Затем необходимо перейти к настройкам источника света и выбору аналитической спектральной линии. Для этого необходимо на панели инструментов (4 на рис. 1.13.2) выбрать опцию «Параметры», затем в выпадающем меню – опцию «Редактирование параметров».

В появившемся окне на вкладке «Оптические параметры» (рис. 1.13.3) следует установить оптимальную длину волны в области установки длин волн (2 на рис. 1.13.3) и ширину выходной щели монохроматора в области установки ширины щели (3 на рис. 1.13.3) согласно рекомендациям к лабораторной работе. Затем в области настроек режима измерений (4 на рис. 1.13.3) необходимо выбрать подходящий режим («ЭМИССИЯ»/«EMISSION» – для пламенной фотометрии, «D2 КОРР»/«BGC-D2» - дейтериевая коррекция для атомной абсорбции, «SR КОРР»/«BGC-SR» - коррекция по самообращению для атомной абсорбции, «БЕЗ КОРР»/ «NON-BGC» - измерения без коррекции сигнала).

Далее необходимо вызвать окно списка используемых ламп с полым катодом, нажав на кнопку «Позиция лампы». В появившемся списке выбрать интересующую лампу и запомнить ее номер. Затем в выпадающем меню в области выбора положения лампы (5 на рис. 1.13.3) необходимо выбрать номер соответствующей лампы и в области установки тока питания (6 на рис. 1.13.3) задать необходимую силу тока согласно рекомендациям к лабораторной работе. После этого следует поставить галочку у опции включения лампы (7 на рис. 1.13.3), после чего на выбранную лампу с полым катодом будет подан ток питания (чтобы в этом убедиться, можно приоткрыть крышку блока установки ламп на спектральном приборе и наблюдать свечение выбранной лампы). Затем необходимо

выждать определенное время (согласно указаниям к лабораторной работе) для выхода лампы на стабильный режим работы. В случае, если предполагается определение нескольких элементов с использованием различных ламп с полым катодом, возможно установить режим прогрева сразу всех необходимых ламп. Для этого следует нажать на кнопку «Прогрев лампы» и в появившемся окне установить необходимые параметры.

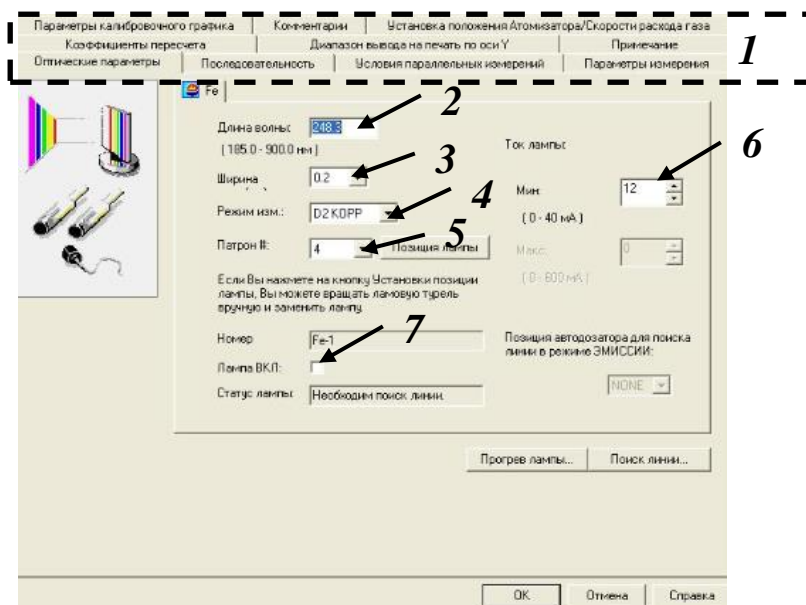


Рисунок 1.13.3. Внешний вид окна настроек параметров, вкладка настроек спектральной линии и источника света: 1 – панель вкладок, 2 – область ввода длины волны, 3 – область установки ширины выходной щели монохроматора, 4 – область выбора режима измерений, 5 – область выбора положения рабочей лампы с полым катодом, 6 – область установки тока питания рабочей лампы с полым катодом, 7 – опция включения лампы с полым катодом

Поскольку точная фокусировка спектра в фокальной области камерного объектива зависит от внешних условий, перед проведением измерений необходимо экспериментально определить максимум интенсивности используемой спектральной линии и, соответственно, положение диспергирующего элемента и выходной щели. Данную операцию следует проводить после выхода на стабильный режим работы лампы с полым катодом. Для этого необходимо нажать на кнопку «Поиск линии», после чего появится дополнительное окно (рис. 1.13.4). Затем следует выждать определенное время для сканирования спектра и нахождения максимума спектральной линии, индикацией чего является изображение данной линии в появившемся окне в области спектра (1 на рис. 1.13.4) и надпись ОК у поля «Поиск линии» (2 на рис. 1.13.4). Следует иметь в виду, что фактическая длина волны, отображаемая в окне спектра, может несколько отличаться от теоретической (что связано с влиянием внешних условий на процесс фокусировки спектра). Далее следует дождаться

окончания выравнивания световых потоков (регулировки тока питания) селективного источника света (лампы с полым катодом) и неселективного источника (дейтериевой лампы, используемой для коррекции сигнала), индикацией чего является надпись ОК у поля «Баланс потоков» (2 на рис. 1.13.4). По окончании данных процедур следует закрыть вспомогательное окно с помощью кнопки «Закрыть» (фиксирование настроек производится автоматически), а затем и основное окно настроек (нажав на кнопку «ОК»).

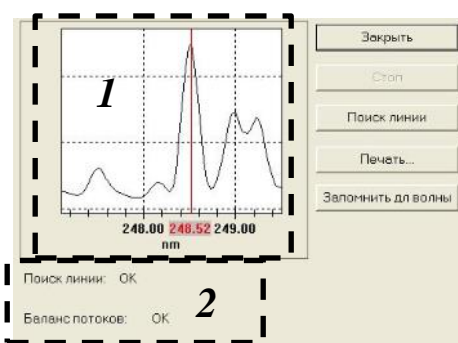


Рисунок 1.13.4. Внешний вид окна поиска спектральной линии: 1 – рабочая область спектра, 2 – область индикации настроек источников света

Настройка условий измерения аналитического сигнала

Перед проведением измерений необходимо установить желаемые единицы измерения концентрации, а также условия измерения аналитического сигнала в различных пробах. Для этого снова следует на панели инструментов (4 на рис. 1.13.1) выбрать опцию «Параметры», затем в выпадающем меню – опцию «Редактирование параметров». В появившемся окне следует открыть вкладку «Параметры калибровочного графика» (на панели 1 на рис. 1.13.3), на которой необходимо выбрать предпочитаемые единицы измерения. Программное обеспечение позволяет задавать величины концентраций, используя 5 цифр (включая нули), поэтому для корректного отображения всех концентраций необходимо использовать подходящие единицы измерения.

Далее в этом же окне следует перейти на вкладку «Условия параллельных измерений» (на панели 1 на рис. 1.13.3). В появившемся окне (рис. 1.13.5) в столбце «Num. of Reps.» следует ввести необходимое количество параллельных измерений соответствующих проб согласно рекомендациям к лабораторной работе. Следует помнить, в данном окне «нулевой стандарт» отображается отдельно под названием «Холостая». Остальные ячейки, служащие для более детальной настройки условий измерения, можно не заполнять.

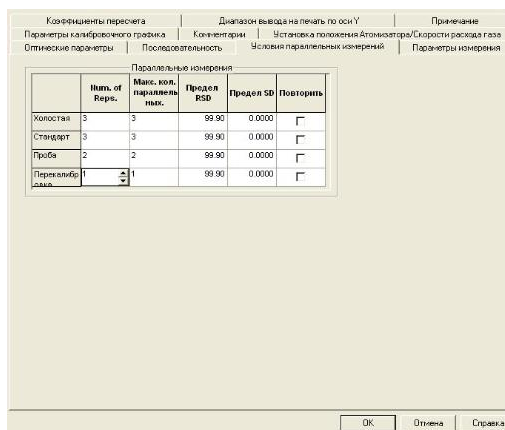


Рисунок 1.13.5. Внешний вид окна настроек параметров, вкладка настроек условий параллельных измерений

Наполнение таблицы данных

Перед началом измерений также необходимо ввести в программное обеспечение все стандартные и анализируемые пробы. Для этого в таблице данных (3 на рис. 1.13.1), которая в начале работы будет пустой, необходимо выбрать первую ячейку столбца «Действие»/«Action». После нажатия на ней левой кнопкой мыши появится выпадающий список, в котором необходимо выбрать соответствующий тип пробы (BLK – «нулевой стандарт», STD – стандартный раствор, UNK – анализируемая проба (сюда же относятся холостые пробы)). По аналогичной схеме нужно заполнить все последующие строки в соответствии с количеством стандартных и анализируемых растворов. Рекомендуется вводить пробы в следующей последовательности: «нулевой стандарт» – стандартные растворы (в порядке увеличения концентрации) – анализируемые растворы. Далее, при необходимости, в ячейках столбца «Образец номер»/«Sample ID» можно ввести произвольные номера проб для удобства расшифровки.

Затем для всех стандартных образцов (кроме «нулевого стандарта») необходимо ввести их концентрации в ячейках столбца «Истинное значение»/«True Value» в соответствии с ранее выбранными единицами измерения. Следует иметь в виду, что данную таблицу можно дополнять и после проведения измерений (что может быть полезно в случае неверно приготовленных растворов или необходимости разбавления проб). После введения новых проб будет необходимо провести измерение аналитического сигнала для них.

Регистрация аналитического сигнала

После выполнения всех описанных выше процедур программное обеспечение готово к регистрации аналитического сигнала для выбранного элемента. Для этого сначала зажигается аналитическое пламя, после чего следует визуально убедиться в стабильности

его пространственного распределения. Перед непосредственным измерением необходимо подать соответствующий раствор в систему распыления. Аналитический сигнал будет измеряться автоматически, его значение отображается в области индикации текущего аналитического сигнала (6 на рис. 1.13.1). По прошествии нескольких секунд, необходимых для выхода на стабильный режим подачи пробы и установления постоянного значения сигнала (которое может колебаться вокруг среднего значения), следует нажать на кнопку запуска измерений (5 на рис. 1.13.1), цвет кнопки при этом изменится с зеленого на красный. По окончании каждого параллельного измерения цвет кнопки снова изменится с красного на зеленый, в таблице данных в соответствующей строке появится значение измеренного сигнала за вычетом «нулевого стандарта» (нумерация параллельных измерений производится программным обеспечением автоматически). Следует иметь в виду, что каждое последующее параллельное измерение необходимо запускать вручную нажатием кнопки запуска измерений (5 на рис. 1.13.1). Перед измерением новой пробы следует переместить капилляр пробоотборника в емкость с соответствующей пробой (при необходимости следует промыть систему подачи пробы). По мере измерения стандартных растворов в окне градуировочного графика (2 на рис. 1.13.1) будут появляться точки в соответствии с выбранными единицами измерения и проводиться зависимость. По окончании анализа всех проб капилляр пробоотборника необходимо поместить в емкость с деионизированной водой (или другим подходящим растворителем) и дождаться нулевого значения аналитического сигнала в области индикации (6 на рис. 1.13.1), что свидетельствует о тщательной промывке системы подачи пробы.

Построение градуировочных графиков

По мере измерения аналитического сигнала стандартных растворов в окне градуировочного графика (2 на рис. 1.13.1) будут появляться точки в соответствии с выбранными единицами измерения и проводиться зависимость, уравнение которой будет отображаться вверху этого окна. В режиме абсорбции аналитический сигнал в программном обеспечении обозначается A . Все значения аналитического сигнала приводятся с учетом «нулевого стандарта».

Вне зависимости от режима измерения используется только одна формула для построения градуировочной зависимости:

$$Y = aC^3 + bC^2 + cC + d,$$

где C – концентрация элемента в выбранных единицах измерения,

Y – измеряемый аналитический сигнал (A или I),

a, b, c, d – параметры уравнения, определяемые экспериментально.

Переход между типами уравнения (кубическим, квадратичным, линейным) осуществляется с помощью кнопки «Тип» (расположена на панели инструментов 4 на рис. 1.13.1) и выбора в появляющемся окне необходимых параметров.

Метод наименьших квадратов, используемый для построения градуировочной зависимости, основан на достижении минимальных квадратов отклонений абсолютных значений от идеальной зависимости. Недостатком градуировочной зависимости в координатах $A - C$ является то, что при большом диапазоне концентраций абсолютные значения отклонений всех точек примерно одинаковы, тогда как относительные значения в области малых концентраций существенно больше значений в области больших концентраций. Относительные отклонения для малых концентраций могут достигать 50% и больше, что, естественно, свидетельствует о невозможности использования данной градуировочной зависимости для количественного определения малых концентраций. Данный факт имеет место в том числе при коэффициенте корреляции $r > 0.99$.

Решением данной проблемы является сужение диапазона градуировочного графика так, чтобы отклонение определяемого значения концентрации (отображаемое в столбце «Конц»/«Сопс» в таблице данных (3 на рис. 1.13.1)) от истинного не превышало определенной величины (например, 10%). Для исключения какой-либо точки (стандартного образца) из построения градуировочной зависимости следует двойным щелчком мыши нажать на ячейку столбца «X» и строки пробы в таблице данных (3 на рис. 1.13.1). Таким образом можно исключить как всю пробу (используя ячейку строки со средним значением), так и одно из ее параллельных определений (используя ячейку строки с параллельным определением). Возвращение пробы для расчетов производится аналогично, но всегда отдельно для каждого параллельного определения (нет возможности вернуть сразу всю пробу). Сужать диапазон концентраций градуировочного графика нужно таким образом, чтобы конечный диапазон соответствовал определяемым концентрациям элементов в пробах (для разных элементов и разных проб необходимо подбирать свой оптимальный диапазон).

Помимо сужения диапазона линейности, добиться уменьшения отклонения значений концентраций можно, используя другой порядок уравнения градуировочного графика (линейный, квадратичный, кубический). При этом стоит избегать ситуаций, когда градуировочный график меняет направление (что имеет место иногда для квадратичной зависимости и часто – для кубической). При желании можно построить градуировочный график по иной зависимости (например, логарифмической) самостоятельно в сторонних программах, используя исходные данные. В этом случае возможно расширение диапазона определяемых концентраций и уменьшение разброса точек.

После определения оптимального диапазона концентраций и выбора порядка градуировочной зависимости необходимо убедиться в правильности построенного графика, что проще всего сделать с помощью коэффициента корреляции r , значение которого отображается в окне градуировочного графика (2 на рис. 1.13.1) под уравнением зависимости. В случае, если значение коэффициента неудовлетворительное, необходимо исключить «выпадающие» точки (промахи). При наличии возможности рекомендуется переделать растворы «выпадающих» точек и повторить измерения. Обновленные параметры градуировочного графика автоматически применяются ко всем анализируемым пробам.

Обработка результатов анализа

Определенные в результате количественного анализа концентрации отображаются в таблице данных (3 на рис. 1.13.1) в столбце «Конц»/«Conc». Для расчета концентраций автоматически используется аналитический сигнал за вычетом «нулевого стандарта». Программное обеспечение не способно ограничиваться диапазоном градуировочного графика, поэтому полученные концентрации необходимо вручную проверить на предмет соответствия рабочему диапазону. В случае, если для какой-либо пробы определенная концентрация превышает верхнюю границу, следует разбавить пробу подходящим растворителем и повторить измерение. При выходе за диапазон снизу элемент считается неопределенным (его содержание меньше нижней границы диапазона определяемых концентраций).

В данной таблице отображаются не только результаты параллельных измерений и средние значения, но также среднеквадратичные отклонения (в столбце «SD») и относительные среднеквадратичные отклонения, выраженные в % (в столбце «%RSD»). При необходимости сильно выпадающие значения параллельных определений (промахи) можно исключить. Для этого следует двойным щелчком мыши нажать на ячейку столбца «X» и строки соответствующей пробы в таблице данных (3 на рис. 1.13.1). Возвращение пробы для расчетов производится аналогично.

Следует иметь в виду, что результаты количественного определения содержаний отображаются для каждого определяемого элемента на отдельном листе. Переход между различными листами (различными элементами) осуществляется с помощью выпадающего меню на панели инструментов (4 на рис. 1.13.1).

1.14. Лабораторная работа «Определение растворенных форм меди в природных водах методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии»

на основе ПНД Ф 14.1:2:4.214-06

Цель работы: знакомство с методологией количественного атомно-абсорбционного анализа, приобретение опыта работы с пламенным атомно-абсорбционным спектрометром, изучение основ количественного анализа реальных объектов.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- подготовленные пробы природной воды, 15 мл
- HNO_3 1%, 1 л
- стандартный раствор Cu 50 мг/л, 5 мл
- моющая смесь (смесь HCl и H_2O_2), 50 мл
- набор автоматических дозаторов с одноразовыми наконечниками и мерных пипеток
- колба мерная вместимостью 50 мл 2 кл, 6 шт
- колба мерная вместимостью 25 мл 2 кл, 6 шт
- стаканчик для отбора раствора вместимостью 20 мл, 3 шт
- пробирка полимерная вместимостью 50 мл с завинчивающейся крышкой, 3 шт
- спектральная установка Shimadzu AA-7000 с пламенным атомизатором

Ход работы:

- Подготовленные анализируемые и холостые образцы разбавить в мерных колбах вместимостью 50 мл в 10 раз, в качестве раствора для разбавления использовать HNO_3 1%.
- Разработать схему приготовления 7 градуировочных растворов, содержащих Cu в диапазоне 0.002-2 мг/л в мерных колбах вместимостью 25 мл с учетом имеющихся в наличии пипеток и дозаторов для взятия аликвот. Представить преподавателю схему приготовления растворов.
- Приготовить описанные выше градуировочные растворы (головной раствор запрещено отбирать из исходной емкости). Готовить раствор с максимальной концентрацией (соответствующий исходному стандартному раствору) не нужно. В качестве основы растворов использовать HNO_3 1%. Дополнительно приготовить три «нулевых стандарта» (холостые пробы для стандартных растворов).
- Подготовить спектральный прибор к работе, установить и прогреть лампу с полым катодом для определяемого элемента. Проверить параметры спектрального прибора (согласно табл. 1.14.1). Создать в программном обеспечении таблицу анализа, ввести перечень стандартных образцов (с концентрациями для каждого) и анализируемых проб.

- Зажечь пламя, проанализировать все растворы (после последнего стандартного раствора, а также между анализируемыми и холостыми пробами промывка системы подачи раствора в распылительную камеру обязательна до отсутствия аналитического сигнала).
- Построить корректную градуировочную зависимость. Убедиться в линейности построенной градуировочной зависимости. В случае получения некорректной зависимости следует повторить измерения (для отдельных растворов) и/или приготовить растворы заново и повторить измерения.
- Убедиться в стабильности градуировочной зависимости, используя характеристики из табл. 1.14.2. Если условие стабильности не выполняется для какого-либо образца для градуировки, следует повторить построение зависимости, используя не все точки, и снова убедиться в стабильности.
- По градуировочной зависимости произвести количественное определение элемента (при необходимости пробы следует разбавить раствором для разбавления).
- Рассчитать объем стандартной добавки, чтобы при ее введении в разбавленную анализируемую пробу концентрация определяемого элемента увеличилась в ≈ 3 раза с учетом имеющихся в наличии пипеток и дозаторов для взятия аликвот. В случае, если концентрация определяемого элемента в анализируемой пробе меньше предела определения, следует вводить такую добавку, чтобы концентрация элемента была на уровне предельно допустимой (с учетом разбавления). Представить преподавателю схему введения добавки.
- Приготовить в полимерных пробирках разбавленные анализируемые пробы, введя в них необходимые добавки.
- В программном обеспечении в таблице анализа ввести дополнительные анализируемые пробы. Проанализировать дополнительные растворы.
- По построенной ранее градуировочной зависимости произвести количественное определение элемента. Потушить пламя. Зафиксировать в лабораторном журнале необходимую аналитическую информацию.
- Проверить правильность получаемых данных путем сравнения результатов, полученных при анализе проб и проб с добавкой (способ «введено-найдено»), используя характеристики из табл. 1.14.2.
- Произвести пересчет полученных концентраций на содержание аналита в исходном образце (мг/л). Сравнить полученные значения с литературными данными и нормативными показателями (которые следует найти самостоятельно), оценить образец с точки зрения определяемого компонента.
- Вымыть всю используемую посуду, сдать рабочее место преподавателю.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- шифр пробы и ее паспорт;
- блок-схему спектральной установки и оптическую схему спектрального прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- исходные экспериментальные данные абсорбционности для стандартных и всех анализируемых растворов (параллельные измерения сигнала для каждого раствора можно не приводить);
- крупномасштабный градуировочный график; в случае, если для количественного анализа использовалась градуировочная зависимость не во всем диапазоне концентраций, необходимо приведение двух графиков – исходного и рабочего, с объяснением причин выбора;
- характеристики градуировочного графика: уравнение, рабочий диапазон концентраций;
- результаты количественного анализа (для каждой анализируемой пробы и среднее значение) с указанием доверительного интервала, полученного после поиска и исключения выбросов;
- результаты проверки правильности при сравнительном анализе исходной пробы и пробы с добавкой;
- оценку безопасности образца с точки зрения определяемого элемента на основе информации из литературных данных и нормативных документов.

Итоговые результаты должны содержать среднее значение концентрации аналита (с указанием доверительного интервала) в исходной пробе природной воды (мг/л).

Таблица 1.14.1. Рабочие параметры абсорбционного спектрального прибора с пламенной атомизацией

параметр	величина
сила тока лампы с полым катодом, мА	8
время прогрева лампы, мин	20
ширина выходной щели, мм	0.7
горючая смесь	ацетилен-воздух
расход горючего газа, л/мин	1.8
расход газа-окислителя, л/мин	15
высота горелки, мм	7
число параллельных определений стандартных растворов	3
число параллельных определений анализируемых растворов	3
длина волны при определении Си, нм	324.7

Таблица 1.14.2. Значения относительного СКО воспроизводимости σ_R для различных диапазонов определяемых концентраций С

С, мг/л	σ_R , %
свыше 0.001 до 0.01	18
свыше 0.01 до 0.025	12
свыше 0.025 до 10	8

Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы
представлена по ссылке:

<https://youtu.be/sHjIRvhdbDs>



2. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

2.1. Теоретические основы спектрофотометрических методов

Методы анализа, основанные на измерении поглощения молекулами электромагнитного излучения в УФ (200-400 нм) и видимой (400-700 нм) областях спектра, называются спектрофотометрическими. Объектами спектрофотометрических измерений, как правило, являются растворы.

Ослабление интенсивности монохроматического излучения при его поглощении слоем раствора аналита толщиной l (аналогично ААС, рис. 1.11.1) описывается законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon_\lambda \cdot C \cdot l,$$

где A – оптическая плотность раствора (безразмерная величина);

I_0 и I – интенсивность светового потока до и после его прохождения через слой поглощающего раствора;

ε_λ – молярный коэффициент светопоглощения при заданной длине волны λ (л·моль⁻¹·см⁻¹);

C – молярная концентрация поглощающего вещества в растворе (моль/л).

Отношение I/I_0 называют пропусканием и обозначают T ($0 \leq T \leq 1$). Величина пропускания обычно выражается в %.

Если в растворе присутствует несколько поглощающих веществ, то оптическая плотность раствора равна сумме парциальных оптических плотностей, создаваемых входящими в него компонентами (закон аддитивности):

$$A = \sum \varepsilon_i \cdot C_i \cdot l,$$

где ε_i – молярный коэффициент светопоглощения i -ого компонента при заданной длине волны λ (л·моль⁻¹·см⁻¹);

C_i – молярная концентрация i -ого компонента в смеси (моль/л).

При выводе закона Бугера-Ламберта-Бера в качестве обязательного условия принимается монохроматичность светового потока, но в тоже время не делается никаких допущений о природе поглощающей среды. Таким образом, он является универсальным и одинаково справедливым для любых поглощающих сред. Но в варианте спектрофотометрии этот закон рассматривается применительно к растворам. При этом предполагается, что:

- процесс поглощения квантов света уже возбужденными молекулами маловероятен (имеют место только однофотонные переходы);
- не происходят изменения состояния молекул поглощающего вещества в растворе;
- пучок лучей падающего светового потока параллелен;

- отсутствуют фотохимические процессы.

Только при соблюдении всех этих условий в совокупности с общим условием монохроматичности светового потока выполняется закон Бугера-Ламберта-Бера.

В действительности линейный характер зависимости оптической плотности от концентрации аналита в растворе часто нарушается, что является следствием инструментальных и физико-химических причин. Отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера бывают истинные и кажущиеся.

Истинные отклонения связаны с изменением коэффициента преломления среды при изменении C поглощающего вещества. Они заметно проявляются при больших C , следствием чего являются сравнительно «узкие» диапазоны определяемых C для спектрофотометрических методик, обычно в пределах двух порядков.

Кажущиеся отклонения связаны с инструментальными и химическими причинами. К числу инструментальных причин относятся немонохроматичность источника излучения и влияние рассеяния света.

Влияние немонохроматичности поясняется на рис. 2.1.1. Монохроматор пропускает свет в определенном интервале длин волн $\Delta\lambda$. Чем шире $\Delta\lambda$, тем больше эффект снижения оптической плотности по сравнению с её максимальным значением. Величина A_2 , измеренная в диапазоне длин волн $\Delta\lambda_2$, будет меньше A_1 , соответствующей диапазону $\Delta\lambda_1$, и обе они будут меньше A_{\max} , полученной при λ_{\max} . При этом, учитывая экспоненциальный характер зависимости I светового потока после его прохождения через слой поглощающего раствора от C , эффект отклонения усредненного значения оптической плотности ($A_{\text{изм}}$) от значения оптической плотности при λ_{\max} (A_{\max}) тем больше, чем больше концентрация.

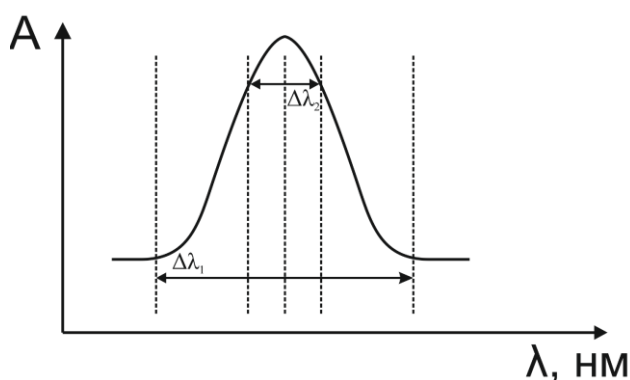
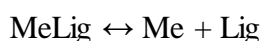


Рисунок 2.1.1. Измерение оптической плотности A при различных диапазонах длин волн $\Delta\lambda$, выделяемых монохроматором

Таким образом:

- для узких полос поглощения необходима максимально высокая монохроматичность, что реализуется в приборах – спектрофотометрах;
- для соединений, имеющих широкие полосы поглощения, допустимо применение приборов типа фотоэлектроколориметров (ФЭК) с низкой монохроматизацией (большими $\Delta\lambda$).

Значительные отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера может вызывать и влияние рассеяния света, когда некоторая часть светового потока, минуя фотометрируемый раствор, попадает непосредственно на детектор. Химические причины отклонений связаны с изменениями состояния молекул поглощающего вещества в растворе. Закон справедлив по отношению к определённому типу молекул, характеризующихся своим ϵ . Любые процессы в растворе, приводящие к непропорциональному изменению доли поглощающих молекул при изменении общей C вещества, приводят к отклонениям от линейности зависимости A от C . Например, в растворе присутствует способный к диссоциации комплекс:



При этом общая концентрация комплексной и ионной форм металла является постоянной величиной: $[\text{MeLig}] + [\text{Me}] = C$, а концентрация комплексной формы $[\text{MeLig}]$ – переменной, зависящей от pH и ионной силы раствора. Изменение соотношения $[\text{MeLig}]/C$ приводит к погрешности в результатах анализа, так как градуировочный график построен в координатах A от C , а не от концентрации аналитической формы $[\text{MeLig}]$:

$$A_{\text{изм}} = \epsilon_A(C - [\text{Me}])l + \epsilon_{\text{Me}} [\text{Me}]l,$$

где ϵ_A и ϵ_{Me} – молярные коэффициенты поглощения комплексной и ионной форм металла, соответственно.

Могут быть отрицательные отклонения, когда $\epsilon_{\text{Me}} < \epsilon_A$ и положительные при $\epsilon_{\text{Me}} > \epsilon_A$ (рис. 2.1.2).

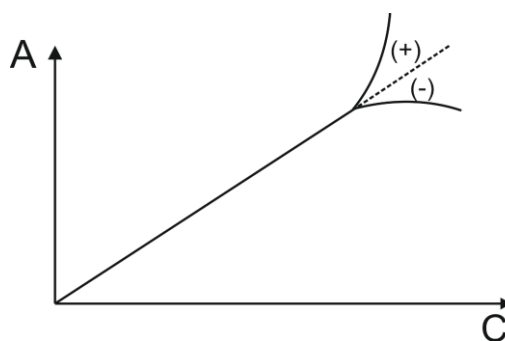


Рисунок 2.1.2. Зависимость оптической плотности A от концентрации аналита C ; положительные (+) и отрицательные (-) отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера

2.2. Приборы для спектрофотометрического анализа

Принципиальная схема прибора для измерения оптических плотностей растворов представлена на рис. 2.2.1. В спектрофотометрии необходимо варьировать длину волны света источника в широких пределах (от 200 до 700 нм). Для этих целей используют источники непрерывного спектра: для ультрафиолетовой области – водородную или дейтериевую лампы, для видимой области – обычно лампу накаливания (например, галогенную). Все оптические узлы прибора должны быть прозрачными для излучения в используемой области спектра. При работе в ультрафиолетовой области используют кварцевую оптику, а в видимой – стеклянную.

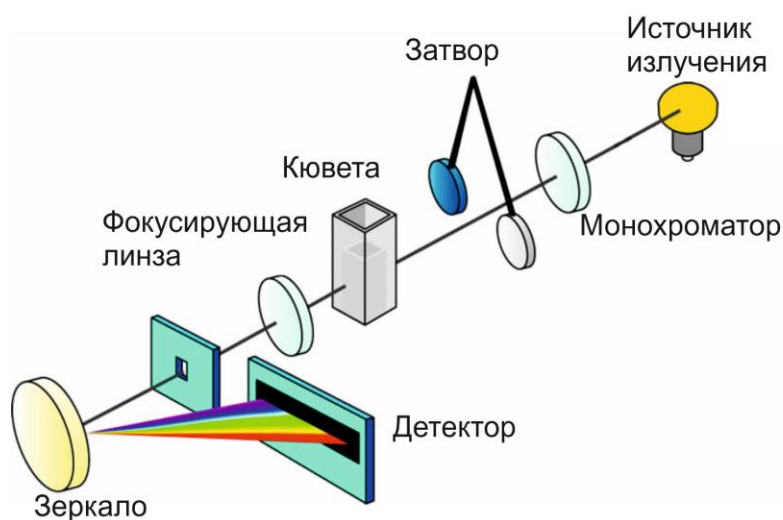


Рисунок 2.2.1. Общая схема измерительного прибора в спектрофотометрии

В зависимости от типа применяемого монохроматора приборы подразделяют на ФЭК и спектрофотометры. В ФЭК для монохроматизации используют набор сменных светофильтров. Их спектральная полуширина полос пропускания достаточно велика: 20 нм и выше. Такая степень монохроматизации может считаться достаточной только для веществ, обладающих широкополосными спектрами поглощения. Более эффективная монохроматизация достигается в спектрофотометрах, в которых в качестве монохроматоров используют призмы или дифракционные решетки в комплексе с выходными щелями, обеспечивающие полуширину полос пропускания от нескольких долей нанометра до 2–3 нм.

Конструкция кюветного отделения зависит от схемы измерения: одно- или двухлучевой. При двухлучевой схеме кюветы с раствором сравнения и фотометрируемым раствором фиксируются параллельно лучу проходящего через них света. При однолучевой схеме предусматривается возможность последовательного пропускания луча света через обе кюветы. Преимущества той и другой схем не однозначны. Двухлучевая схема

представляется более удобной, т.к. позволяет в качестве аналитического сигнала сразу получать разность оптических плотностей анализируемого раствора и раствора сравнения, но для этого необходимо обеспечить строго одинаковую чувствительность детекторов светового потока через обе кюветы, что представляет определенные трудности. Однолучевая схема свободна от этого недостатка, однако она требует последовательного ввода в световой поток исследуемого раствора и раствора сравнения, временные флуктуации автоматически не учитываются.

В качестве детекторов используют фотоэлектрические преобразователи – фотоэлементы, фотодиоды или фотоэлектронные умножители. Для регистрации сигнала применяются микроамперметры.

В данном практическом курсе работы выполняются на спектрофотометре Shimadzu UV/Vis 1280, внешний вид которого показан на рис. 2.2.2. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно. Регистрация и обработка спектральных данных производится в программном обеспечении с выводом на дисплей прибора, управление осуществляется с использованием кнопок на приборной панели (рис. 2.2.3). Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включение спектрального прибора, прогрев источника излучения.
- Коррекция базовой линии посредством помещения в кюветное отделение прибора кюветы с длиной оптического пути 10 мм, заполненной раствором холостой пробы. На дисплее следует выбрать «Спектральный режим» (нажав кнопку «2» на приборной панели, рис. 2.2.3), установить необходимый диапазон длин волн (нажав кнопку «2» на приборной панели, указав диапазон и нажав кнопку «Enter») и далее запустить коррекцию (нажав кнопку «F1. Base Correction» на приборной панели).
- Измерение спектра поглощения аналита в выбранном диапазоне длин волн посредством помещения в другую кювету раствора, содержащего аналит, и запуска измерения (нажав кнопку «Start» на приборной панели). Спектр поглощения выводится непосредственно на дисплее (рис. 2.2.2В).
- Определение λ_{\max} для проведения в снятом спектре поглощения (путем нажатия кнопки «F2. Peak» на приборной панели).
- Возвращение в исходное окно выбора режима измерений для выполнения прочих манипуляций (путем последовательно нажатия кнопок «Return» – «←» – «OK» – «Enter» на приборной панели).
- Переход в фотометрический режим (путем нажатия кнопки «1» на приборной панели).

- Выбор рабочей длины волны (путем нажатия кнопки «GoToWl», указания численного значения λ (в нм) с помощью кнопок цифр, установления введенного значения нажатием кнопки «Enter» на приборной панели).
- Обнуление базовой линии посредством помещения в кюветное отделение прибора кюветы с длиной оптического пути 10 мм, заполненной раствором холостой пробы (с последующим нажатием кнопки «AutoZero» на приборной панели).
- Измерение аналитического сигнала посредством помещения в кюветное отделение прибора кюветы с длиной оптического пути 10 мм, заполненной исследуемым раствором. На дисплее отобразится значения оптической плотности для исследуемого раствора.
- Повторение измерения аналитического сигнала для всех анализируемых растворов по описанной выше схеме.
- Выключение спектрального прибора по окончании всех измерений.



Рисунок 2.2.2. Внешний вид спектрофотометра Shimadzu UV/Vis 1280: 1 – кюветное отделение, 2 – цифровой дисплей, 3 – приборная панель, 4 – кнопка включения

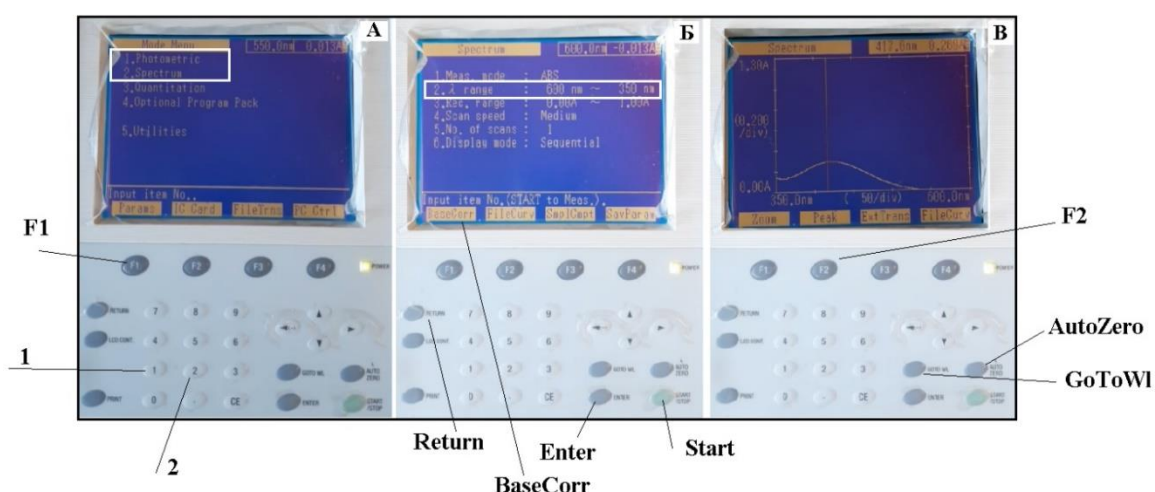


Рисунок 2.2.3. Внешний вид приборной панели спектрофотометра Shimadzu UV/Vis 1280 для настройки спектрального режима (А), условий измерения и коррекции базовой линии (Б), снятия спектра поглощения аналитической формы и определения максимума поглощения (В)

Также работы выполняются на фотоэлектроколориметре КФК-3-01, внешний вид которого показан на рис. 2.2.4. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно. Регистрация аналитического сигнала производится с выводом на дисплей прибора, управление осуществляется с использованием кнопок на приборной панели. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включение спектрального прибора, прогрев источника излучения.
- Установление рабочей λ поворотом ручки установления длины волны, значение λ при этом отображается на дисплее.
- Помещение в кюветное отделение прибора кювет с растворами: холостая проба – в дальнее отделение, исследуемая проба – в ближнее.
- Закрытие крышки кюветного отделения, проверка помещения кюветы с раствором холостой пробы в световой поток (рычаг для перемещения кювет находится слева).
- Выбор режима «А-оптическая плотность» (путем нажатия кнопки «#» на приборной панели). Обнуление аналитического сигнала (путем нажатия кнопки «#» на приборной панели). На дисплее должно отображаться значение $A=0.000$, при отклонении более ± 0.001 процедуру обнуления следует повторить.
- Измерение аналитического сигнала исследуемого раствора при его введении в световой поток при переводе рычага для перемещения кювет вправо. На дисплее будет отображаться значение A .
- Повторение измерения аналитического сигнала для всех анализируемых растворов по описанной выше схеме.
- Выключение спектрального прибора по окончании всех измерений.



Рисунок 2.2.4. Составные элементы фотоэлектроколориметра КФК-3-01

2.3. Общие схемы проведения спектрофотометрического анализа

Спектрофотометрические методы анализа только в исключительных случаях основаны на непосредственном измерении оптических плотностей растворов веществ, молекулы которых способны к поглощению света в видимой области спектра, несколько чаще – в УФ-области. Обычно общая схема спектрофотометрического анализа включает два обязательных этапа:

- образование аналитической формы при добавлении к аликвоте пробы буферного раствора и раствора фотометрического (хромогенного) реагента (проведение реакции образования фотометрируемого соединения);
- фотометрирование полученного окрашенного раствора аналитической формы.

В спектрофотометрическом анализе применяются различные по природе фотометрические реагенты, наиболее распространенными продуктами реакций которых с аналитами являются:

- хелатные (внутрикомплексные) соединения ионов металлов;
- соединения ионов металлов с кислотными и основными органическими красителями;
- разнолигандные комплексные соединения и ионные ассоциаты;
- монолигандные комплексы металлов с неорганическими лигандами и гетерополисоединения.

Все фотометрические реагенты объединяет общее требование: наличие у них хромофорных групп атомов, которыми поглощаются кванты света определенных λ за счет электронных переходов из основного состояния в возбужденное.

При проведении анализа в растворы вводят реагенты, необходимых для образования аналитической формы аналита, выдерживают их в течение времени, требуемого для развития окраски растворов, измеряют оптические плотности приготовленных стандартных растворов относительно холостого раствора. Холостым раствором служит раствор всех вспомогательных реагентов, необходимых для образования аналитической формы определяемого вещества, но не содержит самого аналита.

Для определения концентрации веществ в растворе спектрофотометрическим методом предложен целый ряд общих схем проведения анализа, которые часто условно называют «методами». Метод одного эталона можно использовать, если измеряемая величина оптической плотности лежит на прямолинейном участке градуировочного графика, идущего из начала координат. Данный метод применяется относительно редко и только в случае единичных анализов. Ограниченные возможности этой схемы связаны с

отсутствием, как правило, априорной информации о величине C в анализируемой пробе, что приводит к большой погрешности ее определения.

В методе абсолютной градуировки выбирают длину кюветы таким образом, чтобы оптические плотности для серии стандартных растворов во всем интервале концентраций были от 0.1 до 1.0. Достоинство этого метода состоит в том, что его можно использовать и при наличии отклонений от закона Бугера–Ламберта–Бера. В случае нелинейности градуировочного графика число точек, по которым он строится, должно быть достаточно велико, чтобы уверенно установить характер зависимости.

Метод добавок применяют, когда величина оптической плотности раствора зависит не только от концентрации определяемого компонента, но и от содержания в анализируемом растворе других веществ, учесть присутствие которых при построении градуировочного графика невозможно.

2.4. Выбор условий проведения спектрофотометрического анализа

Как уже отмечалось выше, во всех случаях при проведении фотометрических измерений раствором сравнения обычно считают холостой раствор, содержащий все добавленные реагенты в тех же концентрациях, которые необходимы для образования аналитической формы, но не содержащий определяемое вещество. Если раствор сравнения не поглощает в выбранной области спектра, то вместо него можно применять дистиллированную воду.

Раствор сравнения иногда называют нулевым раствором. В случае, когда необходимо нивелировать влияние примесей, появляющихся в растворе при разложении твердого образца, при предварительном концентрировании или отделении мешающих компонентов и т. п., через все стадии анализа проводят холостой опыт. Полученный в результате раствор используют в качестве раствора сравнения.

Если добавляемый фотометрический реагент не поглощает в выбранной области спектра, то измерение аналитического сигнала проводят при λ (диапазоне $\Delta\lambda$), соответствующей максимуму в спектре поглощения фотометрируемого соединения. Если применяемый для образования аналитической формы реагент окрашен, то для работы следует выбрать область длин волн, в которой наблюдается максимальное различие в спектрах поглощения раствора аналитической формы определяемого вещества и раствора реагента. В этом случае раствором сравнения будет служить раствор реагента.

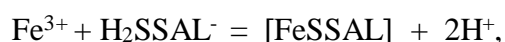
При выборе кюветы необходимо учесть, что случайная погрешность при измерении оптической плотности растворов минимальна, если $A=0.434$. Поэтому поступают следующим образом: измеряют оптическую плотность раствора в кюветах разной толщины

и выбирают ту из них, в которой A анализируемого раствора составляет 0.3 – 0.5. Как уже отмечалось выше, при построении градуировочной зависимости по серии стандартных растворов с увеличивающейся концентрацией кювету выбирают такой, чтобы оптическая плотность растворов во всем интервале концентраций изменялась от 0.1 до 1.0.

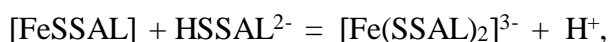
2.5. Лабораторная работа «Определение железа (III) методом молекулярной фотометрии по реакции образования комплексов с сульфосалициловой кислотой» на основе ГОСТ 4011-72

Цель работы: знакомство с методологией спектрофотометрического анализа, приобретение опыта работы на спектрофотометре, изучение основ количественного анализа и получение навыков оценки предела обнаружения методики.

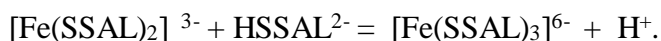
Ионы Fe (III) образуют с сульфосалициловой кислотой (SSAL) комплексные ионы, состав и окраска которых зависят от pH раствора. SSAL является слабой трехосновной кислотой. Ее сульфогруппа диссоциирована практически целиком. Несколько меньше диссоциирована карбоксильная группа ($pK = 2.9$) и очень слабо оксигруппа ($pK = 11.7$). При $pH = 1-2$ между Fe (III) и SSAL протекает реакция с образованием соединения фиолетового цвета:



при $pH = 3 - 5$ – комплексного иона бурого цвета:



при $pH = 7 - 10$ – трисульфосалицилата железа (III) желтого цвета:



При $pH > 12$ трисульфосалицилат Fe разлагается с выделением гидроксида Fe.

В основе метода фотометрического определения Fe (III) лежит измерение светопоглощения трисульфосалицилат-иона в слабощелочной среде. Определению мешают сильные окислители и восстановители. Cu (II), Co (II), Ni (II) мешают из-за собственной окраски своих ионов, Cu можно связать в комплексное соединение с тиосульфат-ионом. Al и Mg образуют с SSAL бесцветные комплексы, поэтому в их присутствии необходимо дополнительное количество реагента. Определению Fe (III) не мешает 100-кратный избыток фосфат-иона.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- 10%-ный раствор сульфосалициловой кислоты (SSAL), 50 мл
- раствор аммиака (1:1), 100 мл
- стандартный раствор ионов железа (III) 0.1 г/л, 10 мл

- набор автоматических дозаторов и мерных пипеток
- колба мерная вместимостью 50 мл 2 кл, 10 шт
- колба мерная вместимостью 100 мл 2 кл, 1 шт
- стаканчик для отбора стандартного раствора вместимостью 15 мл, 1 шт
- спектрофотометр Shimadzu UV/Vis 1280, 1 шт

Ход работы:

- Приготовить серию градуировочных растворов в мерных колбах вместимостью 50 мл, для чего ввести в них с помощью пипетки вместимостью 5 мл 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 мл стандартного раствора ионов Fe (III) с концентрацией 0.1 г/л. Прилить в каждую колбу по 5 мл 10% раствора SSAL и по 10 мл аммиака (1:1). Все растворы довести до метки дистиллированной водой и перемешать.
- Снять спектр поглощения аналитической формы в диапазоне длин волн от 300 до 600 нм, используя градуировочный раствор со средней концентрацией аналита. Для всех измерений использовать стеклянные кюветы с длиной оптического пути 10 мм. Спектр поглощения, выведенный на дисплей прибора, сфотографировать для отчета.
- Определить λ_{\max} для проведения последующих измерений A . Рассчитать ϵ при λ_{\max} :
- Настроить спектрофотометр для измерения A : перевести в Фотометрический режим, установить рабочую длину волны λ_{\max} , обнулить базовую линию по раствору холостой пробы.
- В выбранных условиях провести фотометрирование стандартных растворов. Кювету последовательно заполнять растворами от меньшей к большей C аналита. Между измерениями кювету промывать три раза соответствующим градуировочным раствором.
- Построить градуировочный график – зависимость A от C аналита (мг/л). Убедиться в линейности градуировочной зависимости.
- Аликвоту пробы объемом 20 мл отобрать в мерную колбу вместимостью 100 мл, довести до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать.
- В три мерные колбы вместимостью 50 мл ввести по 2 мл приготовленного анализируемого раствора, прилить в каждую по 5 мл 10% раствора SSAL и по 10 мл аммиака (1:1). Все растворы довести до метки дистиллированной водой и перемешать.
- Измерить A анализируемых растворов при выбранной λ_{\max} , определить содержание ионов Fe (III) с помощью градуировочного графика.
- Произвести пересчет полученных концентраций на содержание аналита в исходном образце (мг/л).

- Измерить 5 раз аналитический сигнал холостой пробы при выбранной λ_{\max} , найти СКО холостого опыта, рассчитать предел обнаружения методики.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- шифр пробы;
- блок-схему спектрального прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- основные и побочные химические реакции, протекающие при образовании аналитической формы;
- спектр поглощения комплекса Fe (III) с сульфосалициловой кислотой с указанием максимума поглощения;
- исходные экспериментальные данные аналитического сигнала для стандартных и всех анализируемых растворов;
- крупномасштабный градуировочный график;
- характеристики градуировочного графика: уравнение, рабочий диапазон концентраций;
- результаты количественного анализа (для каждой анализируемой пробы и среднее значение) с указанием доверительного интервала, полученного после поиска и исключения выбросов;
- рассчитанное значение предела обнаружения методики.

Итоговые результаты должны содержать среднее значение концентрации аналита (с указанием доверительного интервала) в исходной пробе (мг/л).

Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы

представлена по ссылке:

https://youtu.be/_99Hnb_e5D0



2.6. Жидкостная дисперсионная микроэкстракция

В химическом анализе для концентрирования аналитов находит широкое применение жидкостная дисперсионная микроэкстракция, которая предполагает диспергирование экстрагента в водной фазе (пробе) при его введении в виде смеси с диспергирующим растворителем.

Как правило, в качестве диспергирующих растворителей используют полярные органические растворители (метанол, этанол, ацетон, ацетонитрил и др.), которые неограниченно смешиваются как с экстрагентом, так и с водной фазой. Образование тонкодисперсной эмульсии экстрагента в водной фазе приводит к резкому увеличению

поверхности массообмена и как следствие сокращению времени установления равновесия в системе и увеличению эффективности экстракции (рис. 2.6.1.)

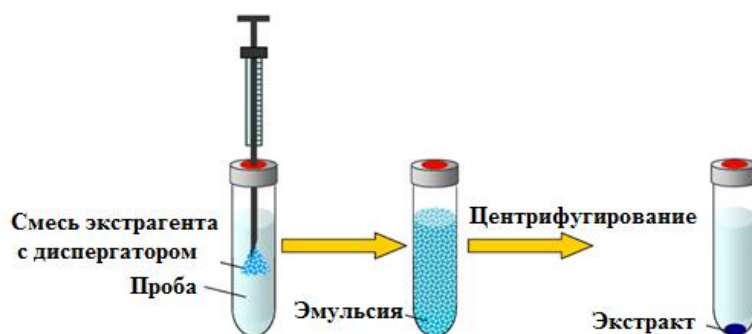


Рисунок 2.6.1. Схема осуществления дисперсионной жидкостной микроэкстракции

К экстрагенту предъявляют ряд требований. Во-первых, плотность экстрагента должна максимально отличаться от плотности воды для обеспечения последующей агрегации эмульсии экстракта в водной фазе. Во-вторых, экстрагент должен быть плохо растворим в водной фазе и обеспечивать высокие значения коэффициентов распределения аналитов. В качестве экстрагентов обычно используют хлороформ, четыреххлористый углерод, хлористый метилен, хлорбензол и др.

По сравнению с классической жидкостной экстракцией метод жидкостной дисперсионной микроэкстракции позволяет наряду с сокращением времени установления равновесия минимизировать количество экстрагента, что делает его экологически более безопасными. Основным ограничением жидкостной дисперсионной микроэкстракции является увеличение растворимости аналитов в водной фазе в присутствии диспергирующих растворителей и как следствие снижение значений их коэффициентов распределения.

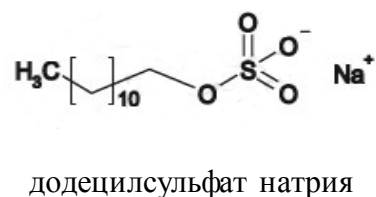
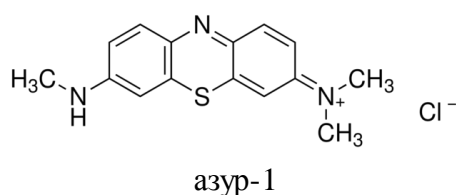
2.7. Лабораторная работа «Определение анионных поверхностно-активных веществ методом молекулярной фотометрии с микроэкстракционным концентрированием»

Цель работы: знакомство с принципами жидкостной микроэкстракции и методологией фотометрического анализа, приобретение опыта работы на фотоэлектроколориметре, изучение основ количественного анализа.

Для фотометрического определения анионных поверхностно-активных веществ (АПАВ) в воде, как правило, применяется жидкостная экстракция в неполярные экстрагенты их ион-парных ассоциатов с органическими красителями и последующим

детектированием экстракта. В данной работе для определения АПАВ используется дисперсионная жидкостная микроэкстракция, где хлороформ применяется в качестве экстрагента, в то время как ацетон выступает диспергатором. Для образования ион-парных ассоциатов с АПАВ чаще всего применяются основные красители, например, азур-1. Реакция образования ионных ассоциатов АПАВ с азур-1 протекает в среде цитратного буферного раствора (pH=5).

Для построения градуировочной зависимости используют водные растворы додецилсульфата натрия. Данное вещество является наиболее распространенным загрязнителем среди АПАВ.



Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- стандартный раствор додецилсульфата натрия 25 мг/л, 26 мл
- цитратный буферный раствора (pH=5), 10 мл
- раствор азур-1 1 г/л, 10 мл
- органическая смесь хлороформ–ацетон (2:1), 15 мл
- набор автоматических дозаторов и мерных пипеток
- колба мерная вместимостью 25 мл 2 кл, 8 шт
- шприц на 5 мл, 2 шт
- колба мерная вместимостью 100 мл 2 кл, 1 шт
- пенициллиновые флаконы, 8 шт
- фотометр КФК-3-01, 1 шт

Ход работы:

- Приготовить серию градуировочных растворах в мерных колбах вместимостью 25 мл, для чего ввести в них с помощью пипетки вместимостью 10 мл 1, 2, 4, 6, 8 мл раствора додецилсульфата натрия 25 мг/л. Все растворы довести до метки дистиллированной водой и перемешать. Рассчитать содержание додецилсульфата натрия в приготовленных растворах.
- В пенициллиновый флакон поместить 5 мл приготовленного стандартного раствора додецилсульфата натрия, 1 мл цитратного буферного раствора (pH=5) и 2 мл 0.1 г/л

раствора азур-1. Для приготовления холостой пробы провести вышеописанные процедуры с применением в качестве водной фазы дистиллированной воды.

- Затем с помощью шприца вместимостью 3 мл в каждый флакон быстро ввести 1.6 мл смеси хлороформ–ацетон (2:1), при этом кончик иглы не должен касаться водной фазы. Флаконы закрыть пробкой, аккуратно перемешивать содержимое в течение 1 мин и отставить на 5 мин для разделения фаз без пробок.
- Подготовить спектральный прибор к работе, выставив рабочую $\lambda=625$ нм. При необходимости с помощью шприца промыть кюветы смесью органических растворителей из ёмкости для «промывки». Водой кюветы НЕ промывать.
- После разделения фаз органическую нижнюю фазу исследуемого раствора аккуратно отобрать шприцом так, чтобы она была прозрачной, и перенести в кювету с длиной оптического пути 1 мм. Измерить A экстракта при длине волны 625 нм относительно холостой пробы. Зафиксировать значение в лабораторном журнале.
- Кювету после экстракта пробы и шприц промыть смесью хлороформ-ацетон из ёмкости для «промывки».
- По аналогичной схеме измерить аналитический сигнал для всех стандартных растворов.
- Построить градуировочный график – зависимость A экстракта от C аналита (мг/л). Убедиться в линейности градуировочной зависимости.
- Аликвоту пробы объемом 7 мл отобрать в мерную колбу вместимостью 25 мл, довести до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать.
- Для подготовленного анализируемого раствора провести микроэкстракционное концентрирование и измерение аналитического сигнала по описанной выше схеме, аликвота пробы составляет 5 мл. Провести три параллельных определения.
- Определить содержание АПАВ с помощью градуировочного графика.
- Произвести пересчет полученных концентраций на содержание аналита в исходном образце (мг/л).

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- шифр пробы;
- блок-схему спектрального прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- оптическую схему прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;

- основные и побочные химические реакции, протекающие при образовании аналитической формы;
- крупномасштабный градуировочный график;
- характеристики градуировочного графика: уравнение, рабочий диапазон концентраций;
- результаты количественного анализа (для каждой анализируемой пробы и среднее значение) с указанием доверительного интервала, полученного после поиска и исключения выбросов.

Итоговые результаты должны содержать среднее значение концентрации аналита (с указанием доверительного интервала) в исходной пробе (мг/л).

Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы

представлена по ссылке:

<https://youtu.be/dx-4sV27fXk>



2.8. Теоретические основы люминесцентных методов

Люминесцентные методы анализа основаны на измерении I испускаемого частицами (атомами, молекулами, ионами и др.) света при переходе из возбужденного состояния в основное. Классификацию люминесцентных методов можно провести по нескольким независимым признакам:

- природе излучающих частиц: атомная и молекулярная люминесценция;
- природе процесса люминесценции: флуоресценция и фосфоресценция;
- источнику энергии для возбуждения излучающих частиц: фотолюминесценция (излучение УФ- и видимого диапазона), радиолюминесценция (радиоактивные излучения), хемилюминесценция (энергия химических реакций), катодолюминесценция (поток электронов) и т.д.

В аналитической практике чаще всего используется флуоресценция. В этом случае важнейшим фактором, определяющим интенсивность люминесценции, является квантовый выход ($\varphi_{\text{кв}}$), равный отношению числа испущенных квантов света ($N_{\text{люм}}$) к числу поглощенных при возбуждении молекулы ($N_{\text{погл}}$):

$$\varphi_{\text{кв}} = \frac{N_{\text{люм}}}{N_{\text{погл}}}$$

Для подавляющего большинства молекул величина $\varphi_{\text{кв}}$ ничтожно мала. Такие вещества можно считать нелюминесцирующими. Для люминесцирующих веществ $0.01 < \varphi_{\text{кв}} < 1$.

Большинству элементарных актов люминесценции предшествует потеря части поглощённой энергии вследствие колебательной релаксации. Поэтому энергия испускаемого кванта ниже, чем поглощённого. Вследствие этого полосы излучения в спектре люминесценции смещены относительно полос поглощения в абсорбционном спектре в сторону меньших энергий (больших λ). Эта закономерность называется правилом Стокса-Ломмеля, которое справедливо как для флуоресценции, так и для фосфоресценции. При этом полосы в спектрах флуоресценции и поглощения одного и того же вещества, нормированные к их максимумам, зеркально симметричны относительно вертикали, проходящей через точку их пересечения (правило зеркальной симметрии В.Л. Левшина, рис. 2.8.1).

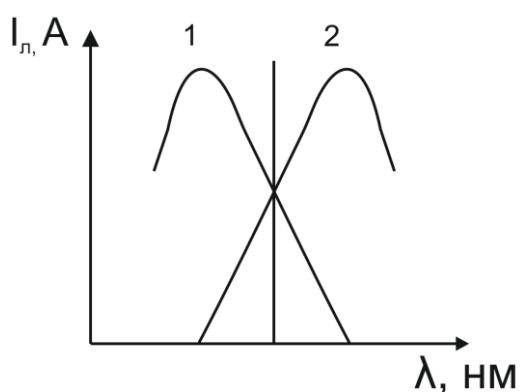


Рисунок 2.8.1. Спектры поглощения (1) и флуоресценции (2)

При низких концентрациях люминесцирующего вещества интенсивность люминесценции I_l пропорциональна его C :

$$I_l = 2,3 \cdot g \cdot K_n \cdot \varphi_{кв} \cdot I_o \cdot \varepsilon_\lambda \cdot C \cdot l,$$

где ε_λ — молярный коэффициент поглощения возбуждающего излучения, л·моль⁻¹·см⁻¹,

l — толщина поглощающего слоя, см,

g — приборный фактор (коэффициент), учитывающий долю регистрируемого люминесцирующего излучения,

K_n — коэффициент пропорциональности.

Объединив все постоянные величины в вышеуказанном уравнении в одну (K), приходим к упрощенному выражению: $I_l = K \cdot C$, используемому в качестве уравнения градуировочного графика в методах люминесцентного анализа.

2.9. Приборы для спектрофлуориметрического анализа

Для измерения I люминесценции необходимо регистрировать испускаемое излучение отдельно от исходного. Для этого люминесценцию, как правило, измеряют под прямым

углом к направлению луча возбуждающего излучения. Схема простейшего люминесцентного фотометра (флуориметра) приведена на рис. 2.9.1. Так как большинство флуоресцирующих молекул поглощают УФ-излучение, в качестве источников возбуждающего излучения обычно используется ртутная лампа. В более сложных приборах (спектрофлуориметрах), которые обеспечивают возможность регулирования длин волн возбуждающего излучения, используют ксеноновые лампы высокого давления.

В флуориметре (рис. 2.9.1) первичный фильтр (фильтр 1) служит для монохроматизации возбуждающего излучения, а вторичный фильтр (фильтр 2) – для устранения влияния рассеянного света. Фильтры и кюветы изготавливают из кварцевого стекла. В спектрофлуориметрах вместо фильтров устанавливаются два сканирующих монохроматора: один выделяет длину волны возбуждающего излучения, другой – флуоресценции.

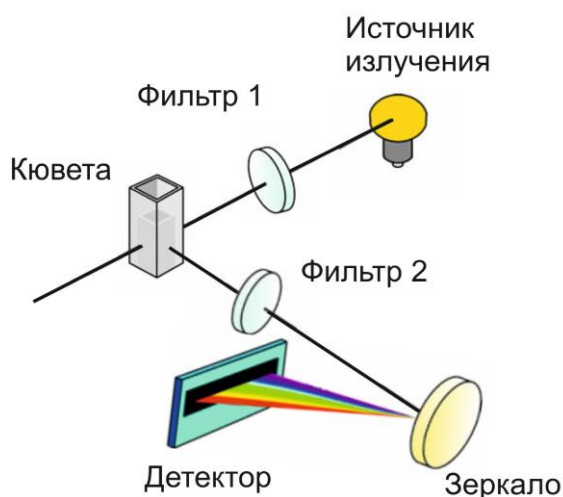


Рисунок 2.9.1. Схема флуориметра

В аналитической практике наиболее часто используют явление флуоресценции. При этом следует отметить, что число флуоресцирующих веществ весьма ограничено, лишь около 15% органических соединений способны к естественной флуоресценции за счет наличия у них таких общих свойств, как жесткая и планарная структура. Это относится к полиароматическим, гетероциклическим и фуранильным соединениям. Однако большинство молекул можно модифицировать так, чтобы стало возможным использовать метод исследования, основанный на флуоресценции.

Фосфоресценцию используют для количественного анализа крайне редко, несмотря на то, что фосфоресцентный метод, как правило, селективнее флуоресцентного. Причины состоят в низкой точности фосфоресценции и необходимости использования низких

температур. Известны методики фосфоресцентного определения ряда органических и биологических соединений – пестицидов, аминокислот, нуклеиновых кислот.

В данном практическом курсе работы выполняются на спектрофлуориметре Shimadzu RF 5301-PC, внешний вид которого представлен на рис.2.9.2. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно. Регистрация и обработка спектральных данных производится в программном обеспечении «RFPC». Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).



Рисунок 2.9.2. Внешний вид спектрофлуориметра RF 5301-PC

- Изначально измеряют спектр излучения. Для этого в программе «RFPC» во вкладке «Configure» выбирают режим «Emission» и в поле «EX Wavelength» устанавливают длину волны возбуждения. Далее устанавливают спектральный диапазон. Для этого в поле «Start» указывают длину волны на 10 нм больше длины волны возбуждения, а в поле «End» указывают 600 нм (рис. 2.9.2А), нажимают кнопку «ОК» для сохранения параметров. Далее на панели инструментов нажимают кнопку «Start» (рис.2.9.2В). Получают спектр излучения и определяют длину волны эмиссии, нажав правой кнопкой мышки и выбрав опцию «Cross Hair», подводя курсор на максимум эмиссии, устанавливают длину волны излучения.
- На следующем этапе проводят коррекцию длин волн эмиссии и возбуждения. Для этого переходят в режим «Excitation» и указывают установленную длину волны излучения в окне «EM Wavelength». В поле «Star» – указывают 220 нм, а в поле «End» – длину на 10 нм меньше длины волны возбуждения. Снимают спектр возбуждения и оценивают максимум (рис.2.9.1Б).
- При этом максимуме снова снимают спектр эмиссии и выбирают корректные для данного прибора длины волн. При этих длинах волн проводят измерения. При правильно выбранных параметрах максимумы спектров возбуждения и эмиссии будут зеркально симметричные.

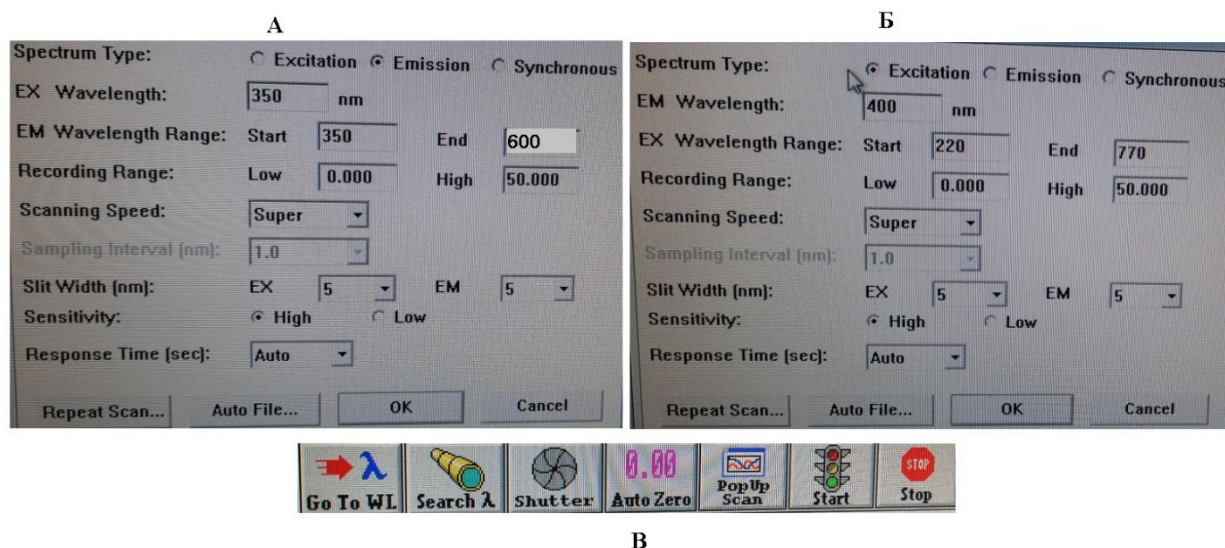
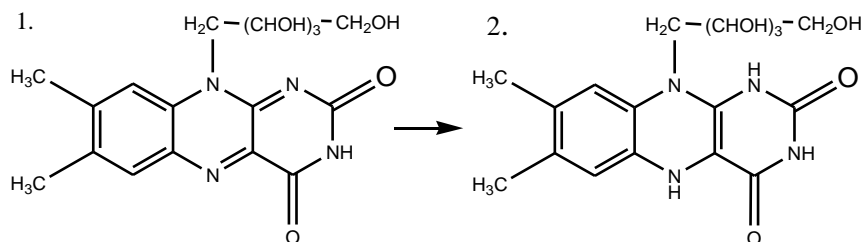


Рисунок 2.9.2. Установление параметров измерения флуоресценции (А)-длины волны эмиссии; (Б) – длины волны возбуждения. (В)-панель инструментов

2.10. Лабораторная работа «Определение рибофлавина в витаминно-минеральных комплексах методом спектрофлуориметрии»

Цель работы: знакомство с методологией спектрофлуориметрического анализа, приобретение опыта работы на спектрофлуориметре, изучение основ количественного анализа.

Для флуориметрического определения рибофлавина (витамина В₂) используют его собственную флуоресценцию (максимум которой наблюдается при рН 6–8) или уменьшение его флуоресценции в присутствии восстановителя, например, тиосульфата натрия. При восстановлении рибофлавина (1) происходит образование нелюминесцирующего лейкофлавина (2):



При определении рибофлавина необходимо поддерживать кислую среду, т.к. в щелочной среде происходит его быстрое разрушение с образованием люмифлавина. Приготовленные растворы рибофлавина следует хранить в защищенном от света месте.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- стандартный раствор рибофлавина 2.5 мг/л, 10 мл
- раствор уксусной кислоты 5%, 200 мл

- раствор соляной кислоты 0.1 моль/л, 70 мл
- раствор гидроксида натрия 1 моль/л, 40 мл
- витаминно-минеральный комплекс;
- набор автоматических дозаторов и мерных пипеток
- колба мерная вместимостью 25 мл 2 кл, 8 шт
- колба мерная вместимостью 100 мл 2 кл, 1 шт
- спектрофотометр Shimadzu UV/Vis 1280, 1 шт
- спектрофлуориметр Shimadzu RF 5301-PC, 1 шт

Ход работы:

- Провести кислотное разложение пробы. Для этого взвесить таблетку витаминно-минерального комплекса и измельчить ее в ступке. 1 г измельченной пробы, отобранной на аналитических весах, поместить в стакан, добавить 70 мл 0.1 моль/л раствора соляной кислоты, прикрыть стакан часовым стеклом и кипятить содержимое в течение 40 мин.
- В мерную колбу вместимостью 25 мл поместить 10 мл 2.5 мг/л раствора рибофлавина, довести объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешать.
- Исследуемый раствор поместить в кварцевую кювету с длиной оптического пути 10 мм и, используя спектрофотометр Shimadzu UV/Vis 1280, зарегистрировать спектр поглощения, определить максимум поглощения рибофлавина. Этот максимум соответствует длине волны возбуждения, которую в дальнейшем необходимо указать на первой стадии при снятии спектра эмиссии на спектрофлуориметре.
- Кювету с исследуемым раствором поместить в спектрофлуориметр и провести определение оптимальных длин волн возбуждения и эмиссии.
- В пять мерных колб вместимостью 25 мл поместить 2, 4, 6, 8 и 10 мл 2.5 мг/л раствора рибофлавина, довести объемы растворов до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешать.
- Последовательно провести измерение интенсивности флуоресценции для каждого из приготовленных растворов при выбранных длинах волн.
- Построить градуировочную зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации аналита в растворе.
- Полученный после кислотной минерализации раствор охладить и нейтрализовать 1 моль/л раствором гидроксида натрия, изменение кислотности контролировать с помощью индикаторной бумаги до pH 6-7. Раствор количественно перенести в колбу вместимостью 100 мл, промывая стакан несколькими порциями 5% раствора уксусной кислоты. Довести

объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешать. При необходимости раствор следует профильтровать через бумажный фильтр «синяя лента».

- В мерную колбу вместимостью 25 мл отобрать от 0.5 до 2 мл анализируемого раствора пробы, довести объем раствора до метки 5% раствором уксусной кислоты и тщательно перемешать.
- Провести два параллельных измерения интенсивности флуоресценции раствора пробы при выбранных длинах волн возбуждения и регистрации свечения в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм.
- После выполнения двух параллельных измерений определить содержание рибофлавина (мг/г) и вычислить среднее значение.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- шифр пробы;
- блок-схему спектрального прибора с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- структурную формулу аналита;
- спектры возбуждения и излучения аналита с указанием оптимальных длин волн;
- крупномасштабный градуировочный график;
- характеристики градуировочного графика: уравнение, рабочий диапазон концентраций, проверка правильности;
- результаты количественного анализа (для каждой анализируемой пробы и среднее значение) с указанием доверительного интервала (полученного после поиска и исключения выбросов).

Итоговые результаты должны содержать среднее значение содержания определяемого аналита (с указанием доверительного интервала) в витаминно-минеральном комплексе (мг).

Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы

представлена по ссылке:

<https://youtu.be/945TZZrhmas>



3. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

3.1. Теоретические основы электрохимических методов анализа и их классификация

Группу методов, в основе которых, лежит проявление характеристических свойств веществом вследствие переноса заряда, называют электрохимическими. Процессы, протекающие на границе раздела фаз или в растворе, могут быть обусловлены термодинамическими или кинетическими параметрами процесса. В первую очередь для применения любого метода из группы необходима замкнутая электрическая цепь и электрохимическая ячейка. Самая простая цепь может быть составлена из двух электродов, погруженных в раствор электролита и подключенных к измерительным приборам. Такая цепь представляет собой двухэлектродную электрохимическую ячейку без переноса. В случае, когда электроды погружены в различные растворы, а перенос электронов проходит через электролитический мостик, то речь идет о ячейке с переносом. При необходимости в электрохимической ячейке число электродов может быть увеличено, но не уменьшено.

В зависимости от того, какой электрический параметр является аналитическим сигналом и каким электрохимическим процессом обусловлено проявление характеристических свойств вещества, электрохимические методы разделяют на равновесные и неравновесные. К равновесным методам относят потенциометрию, аналитическим сигналом в данном методе служит электродвижущая сила (ЭДС), которая представляет собой разность потенциалов между электродом сравнения и рабочим электродом. Необходимо отметить, что в данном методе силу тока считают равной нулю, т.е. на систему не накладывают никакие внешние воздействия. К неравновесным методам относят кулонометрию, вольтамперометрию и кондуктометрию. Они отличаются друг от друга тем, какой параметр является аналитическим сигналом и какой фактор выводит систему из состояния равновесия. Кондуктометрия – один из самых простых неравновесных методов. Здесь аналитическим сигналом является электропроводность раствора (величина обратная сопротивлению), в которую вносят вклад все растворенные компоненты. Фактором возбуждения является приложенный переменный электрический ток с частотой порядка 1000 Гц. Наиболее широко данный метод применяется в системах очистки воды, поскольку позволяет судить об общем содержании примесей. В кулонометрии измеряют количество электричества, затраченного на выделение определенного количества определяемого вещества. Измерения могут быть проведены при постоянном токе или напряжении, прикладываемом к электродам. Вольтамперометрия включает в себя целый перечень различных методов. В данной подгруппе электрохимических методов изучают функциональную зависимость между силой тока,

протекающей в ячейке, и потенциалом, приложенным к системе. По типу наложенной развертки поляризующего напряжения можно выделить различные варианты метода: постоянноточковые, переменноточковые и импульсные, а по направлению развертки: анодные и катодные. При протекании процессов в стационарных условиях выделяют амперометрию и инверсионную вольтамперометрию. Кроме того, отдельно принято выделять полярографию, где в качестве рабочего электрода используют ртутный капающий электрод. Во всех вольтамперометрических методах сила тока связана с количеством определяемого вещества в растворе, а потенциал полуволны является качественной характеристикой определяемого вещества.

3.2. Теоретические основы прямой потенциометрии

Потенциометрия – равновесный электрохимический метод, основанный на измерении ЭДС гальванического элемента. Гальванический элемент состоит из индикаторного электрода и электрода сравнения (ЭС). ЭДС такого элемента регистрируют при помощи потенциометра (или милливольтметра) с высоким входным сопротивлением для предотвращения протекания тока. В качестве электродов сравнения зачастую используют электроды второго рода. Потенциал ЭС должен оставаться постоянным в процессе измерений и не должен реагировать на аналит. Наиболее распространенные электроды сравнения: хлорсеребряный и каломельный. Потенциал индикаторного электрода пропорционален логарифму активности аналита в растворе. В потенциометрии используют индикаторные электроды двух классов: металлические и ионоселективные (ИСЭ). В зависимости от задачи может быть реализована прямая и косвенная потенциометрия (титрование).

Ионометрия – равновесный электрохимический метод, позволяющий напрямую определить активность (концентрацию) ионов в растворе. Данный метод основан на регистрации ЭДС между электродом сравнения (ЭС) и ионоселективным электродом (ИСЭ), погруженными в раствор электролита. ИСЭ – электрод, обладающий избирательной чувствительностью к определенным ионам, от активности которых зависит его потенциал. ЭДС гальванического элемента представляет собой разность потенциала ИСЭ и ЭС.

$$E = E_{\text{ИСЭ}} - E_{\text{ЭС}}$$

Поскольку потенциал ЭС в условиях анализа остается постоянным, то ЭДС гальванического элемента определяется только потенциалом ИСЭ. В свою очередь отклик ИСЭ в определенном диапазоне активностей подчиняется уравнению Нернста:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln a_i,$$

где a_i – активность определяемого иона, z – заряд иона (с учетом знака), F – число Фарадея, R – универсальная газовая постоянная, T – температура.

Активность иона i зависит от C вещества и связана с общей ионной силой раствора через коэффициент активности f_i :

$$C_i = \frac{a_i}{f_i}; \text{ тогда } E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln C_i f_i$$

Коэффициент f_i может быть приблизительно рассчитан по уравнению Дебая-Хюккеля.

Интерпретацию аналитического сигнала проводят по методу абсолютной градуировки: во всех градуировочных и анализируемых растворах добавлением одинаковых количеств индифферентного электролита поддерживается постоянная ионная сила раствора или работают в достаточно разбавленных растворах. Таким образом, различия в коэффициентах активности определяемого иона не будут значительно влиять на активность, и уравнение градуировочного графика будет иметь вид:

$$E = \text{const} + \frac{0,059}{z} \lg C_i$$

где $\text{const} = \frac{0,059}{z} \lg f_i + E^0$ – смещение градуировочного графика по оси ординат,

$\frac{0,059}{z}$ – тангенс угла наклона линейного участка градуировочного графика при 25 °С, называется крутизной электродной функции.

Зависимость потенциала ИСЭ от отрицательного логарифма C определяемого иона, в рабочем диапазоне, должна быть линейной. Рабочий диапазон определяемых C для каждого вида ИСЭ определяется индивидуально и указывается в паспорте электрода.

Традиционно для ИСЭ пределы обнаружения определяются как значения C (активностей) целевого аналита, при которых погрешность анализа составляет 100%. У ИСЭ существует нижний и верхний предел обнаружения. Они определяются как максимальное отклонение полученных значений потенциала от экстраполированного линейного участка градуировочного графика. Рассчитать максимальное отклонение результатов измерений от экстраполированного линейного участка градуировочного графика можно по формуле:

$$\Delta E = \pm \frac{0,059}{z} \lg(2).$$

Если необходимо получить результат с заданной погрешностью, то вводится понятие нижней границы рабочего диапазона градуировочного графика. Рассчитать максимальное отклонение полученных результатов измерений от экстраполированного линейного участка градуировочного графика можно по формуле:

$$\Delta E = \frac{0,059}{z} \lg X,$$

$$X = \frac{(100 + \text{заданная погрешность в процентах})}{100}$$

Если заданная погрешность равна 15%, то нижним пределом определяемой концентрации будет точка на графике, где зарегистрированный потенциал будет отличаться от теоретического значения на 3,6 мВ. На рис. 3.2.1 представлены графические визуализации предела обнаружения и нижней границы рабочего диапазона градуировочного графика.

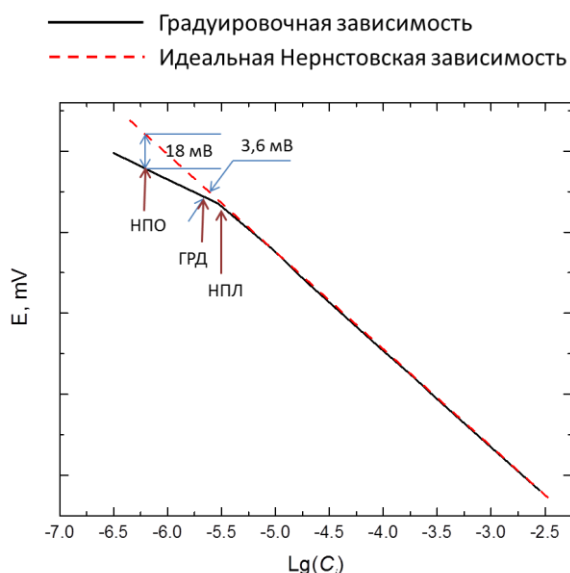
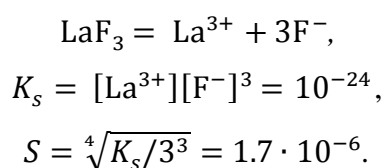


Рисунок 3.2.1 Градуировочный график, демонстрирующий нижний предел линейности (НПЛ), нижнюю границу рабочего диапазона при погрешности 15% (ГРД) и нижний предел обнаружения (НПО)

В случае мембран, которые содержат определяемый элемент, нижняя граница рабочего диапазона может быть обусловлена растворимостью электродноактивного компонента мембраны. Поликристаллическая мембрана фторидселективного электрода состоит из фторида лантана, легированного фторидами двухвалентных элементов для повышения проводимости. Схема гальванического элемента для измерительной системы с фторидселективным электродом имеет следующий вид:



Концентрация фторид-иона вблизи поверхности мембраны зависит от растворимости мембраны электрода:



В результате растворения у поверхности мембраны формируется равновесная концентрация фторид-иона $[F^-] = 3S = 5 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Принимая во внимание, что скорость растворения мембраны и отвода продуктов растворения является величиной неопределённой и что состав анализируемого раствора может влиять на K_s , то предел обнаружения следует оценивать на основании экспериментальных данных.

3.3. Приборы для прямого потенциометрического анализа

Частью прибора, которая отвечает за то, какой именно ион будет определен в результате анализа, является ИСЭ. Индикаторные электроды при прямой потенциометрии должны непосредственно реагировать на изменение активности определяемого иона в растворе. В случае ИСЭ чувствительность сенсора обеспечивает мембрана, а его потенциал определяется процессами распределения ионов между раствором и мембраной. Мембрана может быть поликристаллическая, стеклянная или с подвижным носителем. Кроме того, поверхность мембраны может быть модифицирована (сенсibiliзирована) и тогда появляется возможность оценивать S субстратов, взаимодействующих с ферментами на поверхности ИСЭ. Кроме материала мембраны у ИСЭ могут быть отличия в реализации перехода от ионной проводимости к электронной. Существуют ИСЭ с жидким и твердым контактом. Электроды с жидким контактом комплектуются внутренним электродом сравнения и должны быть заполнены внутренним раствором. В случае ИСЭ с твердым контактом внутреннюю поверхность мембраны приводят в контакт с веществом, способным конвертировать ионную проводимость в электронную, например, проводящим полимером. В таком случае внутренний электрод сравнения и раствор не нужны. Важной характеристикой ИСЭ является коэффициент селективности, который определяет способность электрода избирательно реагировать на изменение концентрации определяемого иона в присутствии других. Коэффициенты селективности обычно определяются к некоторому перечню ионов и должны быть указаны в паспорте электрода.

Потенциал ЭС должен оставаться постоянным и не должен реагировать на изменение активности аналита. Для ионометрических измерений необходима комбинация: ЭС и ИСЭ. Данная пара может быть реализована отдельно или представлена в виде комбинированного электрода.

Регистрация разности потенциалов между ЭС и ИСЭ может быть проведена при помощи цифрового или аналогового вольтметра с высоким входным сопротивлением. При необходимости могут быть использованы многоканальные вольтметры, к которым может быть подключено большее число индикаторных электродов. Такие системы позволяют проводить одновременный многоэлементный анализ проб, если позволяют характеристики

ИСЭ и состав пробы. Иономеры могут представлять результаты измерений в мВ или в единицах рН.

Большинство иономеров оснащены дисплеем, а некоторые из них могут быть подключены к персональному компьютеру для сбора, обработки и хранения информации. В случае вывода на дисплей результаты измерений могут быть представлены в мВ или единицах рН. При помощи клавиш управления на корпусе иономера можно переключаться между режимами, выводить значения ЭДС в градуировочных растворах, запоминать измеренные значения и градуировочные зависимости. Функции запоминания особенно удобны при градуировки рН электродов по растворам стандарт-титров рН.

В данном практическом курсе работы выполняются на иономере И-500, внешний вид которого представлен на рис. 3.3.1. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно. Регистрация аналитического сигнала производится с выводом на дисплей прибора, управление осуществляется с использованием кнопок на приборной панели. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включить прибор 3 секундным нажатием клавиши «O/I»
- Перемещаясь по меню при помощи клавиш «>» и «<», найти режим регистрации мВ.
- Выбрать необходимый режим нажатием клавиши ввод «←».
- При проведении измерений значения аналитического сигнала будут отображаться на дисплее в режиме реального времени.



Рисунок 3.3.1. Общий вид иономера И-500.Клавиши: «>» и «<» позволяют перемещаться меню и устанавливать числовые значения; «←» подтверждать введенные значения или вызывать выбранные параметры; «O/I» включать и выключать прибор

3.4. Лабораторная работа «Ионометрическое определение содержания фторид-ионов в растворе»

Цель работы: знакомство с методологией количественного анализа растворов методом прямой потенциометрии, приобретение опыта работы с иономером.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- ацетатный буферный раствор 1 моль/л с рН=5, 2 мл
- раствор хлорида натрия 1 моль/л, 20 мл
- стандартные растворы фторида натрия с концентрациями 10^{-4} моль/л, 10^{-3} моль/л, 10^{-2} моль/л, 10^{-1} моль/л, по 2 мл каждого
- колба мерная вместимостью 100 мл, 2 шт
- пипетка Мора вместимостью 50 мл, 1 шт
- пипетка Мора вместимостью 10 мл, 1 шт
- стакан мерный вместимостью 50 мл, 1 шт
- стакан мерный вместимостью 150 мл, 1 шт
- промывалка лабораторная, 1 шт
- иономер Аквилон И-500, 1 шт
- электрод сравнения хлорсеребряный, 1 шт
- электрод фторид ионоселективный, 1 шт
- штатив для электродов, 1 шт
- магнитная мешалка с вкладышем, 1 шт
- пластиковая или тефлоновая измерительная ячейка, 1 шт
- автоматический дозатор переменного объема (с диапазоном пипетируемых объемов от 0.1 до 1 мл с шагом 0.01), 1 шт
- наконечники к автоматическому дозатору, 5 шт
- фильтровальная бумага, 1 уп

Ход работы:

- Подготовить электроды к работе. Ополоснуть электроды дистиллированной водой из промывалки над стаканом для слива. Заполнить ячейку дистиллированной водой, опустить в нее магнитный вкладыш и электроды. Включить магнитную мешалку и оставить систему на 10 мин. По истечении 10 мин электроды вынуть, капли воды с них собрать фильтровальной бумагой.
- В мерной колбе вместимостью 100 мл приготовить фоновый раствор состава: ацетатный буферный раствор (с рН = 5) 10^{-2} моль/л и хлорид натрия 10^{-1} моль/л.

- Аликвоту фонового раствора 50 мл перенести в измерительную ячейку, опустить в нее магнитный вкладыш и электроды. Включить магнитную мешалку. Перевести иономер в режим регистрации потенциала (мВ) и через 5 мин зафиксировать значение ЭДС. До окончания измерения аналитического сигнала для всех градуировочных растворов нельзя вынимать электроды из ячейки и выключать мешалку.
- Дозатором переменного объема прилить в измерительную ячейку объем стандартного раствора фторида натрия с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, соответствующий измерению № 2 в табл. 3.4.1. Когда потенциал перестанет меняться, зафиксировать значение ЭДС. Рассчитать концентрацию фторид-ионов в исследуемом растворе с учетом разбавления и внести в таблицу 3.4.1.
- По аналогичной схеме провести измерение аналитического сигнала для оставшихся растворов при последовательном приливании определенных объемов стандартных растворов фторида натрия в соответствие с таблицей 3.4.1.
- По окончании измерений электроды и ячейку ополоснуть дистиллированной водой.
- Ячейку высушить, заполнить приготовленным фоновым раствором.
- Сухие электроды опустить в ячейку с раствором и промыть в течение 15 мин при перемешивании.
- Построить корректную градуировочную зависимость в полулогарифмических координатах E (мВ) – рF. Убедиться в линейности построенной градуировочной зависимости.
- Оценивают аналитические характеристики используемого электрода.
- Получить в мерной колбе раствор с неизвестным содержанием фторид-ионов, внести в колбу необходимые компоненты для создания рН и ионной силы раствора, чтобы состав фонового электролита соответствовал составу фонового раствора в градуировочных образцах. Довести объем до метки дистиллированной водой и перемешать.
- Половину объема приготовленного анализируемого раствора из мерной колбы перенести в сухую измерительную ячейку. Зафиксировать значение ЭДС в растворе задачи при его перемешивании.
- Повторить измерения со второй половиной анализируемого раствора. После каждого измерения промыть электроды дистиллированной водой.
- По градуировочному графику определить концентрацию фторид-иона в анализируемом растворе. Рассчитать содержание F^- (мг) в мерной колбе. После каждого измерения промывают электроды дистиллированной водой.
- Вымыть всю используемую посуду, сдать рабочее место преподавателю.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- экспериментальные данные аналитических сигналов для градуировочных и анализируемых растворов (в т.ч. холостых проб);
- градуировочный график в графическом виде;
- аналитические характеристики электрода: диапазона линейности электродной функции, крутизна электродной функции, нижний предел обнаружения и нижний предел определяемых концентраций при допустимой погрешности в 10%;
- результаты количественного анализа с указанием доверительного интервала (полученного после поиска и исключения выбросов).

Итоговые результаты должны содержать среднее значение содержания фторид ионов (с указанием доверительного интервала) в исходном растворе (мг).

Таблица 3.4.1. Объемы V вводимых в ячейку добавок стандартных растворов фторида натрия с известными концентрациями C для получения градуировочных растворов

№ измерения	$V_{\text{доб}}$, мл	$C_{\text{доб}}$, моль/л
1	0.00	-
2	0.50	10^{-4}
3	1.00	10^{-4}
4	0.35	10^{-3}
5	0.50	10^{-3}
6	0.50	10^{-3}
7	0.36	10^{-2}
8	0.50	10^{-2}
9	0.50	10^{-2}
10	0.40	10^{-1}
11	1.00	10^{-1}

3.5. Теоретические основы дифференциально импульсной полярографии

В основе классической полярографии лежит зависимость тока от наложенного поляризующего напряжения. Значение потенциала полуволны является качественной характеристикой определяемого компонента в растворе, а величина предельного диффузионного тока прямо пропорциональна его концентрации.

В дифференциальной импульсной полярографии помимо линейно увеличивающегося постоянного напряжения через равные промежутки времени подают импульсы постоянной амплитуды и продолжительности. Регистрируют разность между током Δi , измеренным незадолго до конца импульса и непосредственно перед его наложением. Такой способ позволяет повысить селективность и чувствительность анализа. Аналитическим сигналом является максимальное значение тока Δi_{max} (разности токов), которое соответствует

высоте пика полярограммы и пропорционально концентрации определяемого компонента. В общем случае уравнение взаимосвязи между C и максимальным значением тока выглядит следующим образом:

$$\Delta i_{max} = 0,85 \frac{n^2 F^2}{4RT} m^{2/3} t^{1/6} C (-\Delta E) \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}}$$

где n – валентность определяемого иона или число электронов,

F - число Фарадея,

R - универсальная газовая постоянная,

T – температура,

m – скорость вытекания ртути г/с, вытекающей из капилляра,

t - время образования капли,

ΔE – амплитуда импульса,

D - коэффициент диффузии,

t_m – время от начала импульса до момента измерения тока; C – концентрация аналита.

Большинство членов в приведенном уравнении характеризуют условия измерения или электрод, а величина коэффициента диффузии определена не для всех ионов. В таких условиях удобно использовать метод абсолютной градуировки или метод добавок, т.к. это позволит значительно упростить математическое выражение взаимосвязи между i_{max} и C аналита:

$$\Delta i_{max} = kC$$

где k – константа, включающая все параметры ячейки и условия полярографирования.

3.6. Измерительные устройства для вольтамперометрии

Для реализации вольтамперометрических и полярографических исследований потребуется измерительный стенд, который включает в себя потенциостат, усилитель тока, аналого-цифровой и цифроаналоговый преобразователи, устройства для подачи газа и перемешивания раствора. В современных приборах все перечисленные агрегаты объединены в единые измерительные приборы, управляемые с персонального компьютера. В данном практическом курсе работы выполняются на полярографе 757 VA Computrace, внешний вид которого показан на рис. 3.6.1. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно.

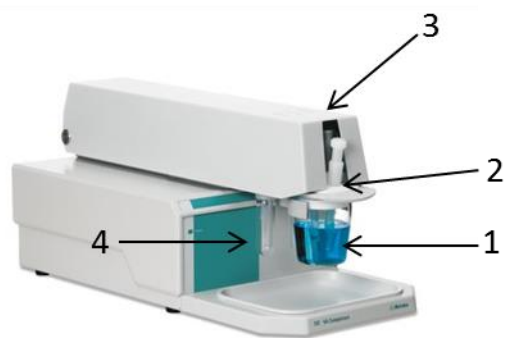


Рисунок 3.6.1. Внешний вид полярографа 757 VA Computrace: 1 – измерительная ячейка, 2 – отверстие для ввода проб, 3 – защитный кожух, 4 – водный затвор для системы подачи инертного газа

Кроме самого стенда, важной частью измерительной установки является измерительная ячейка. Для работы в режиме дифференциально импульсной вольтамперометрии потребуется трехэлектродная ячейка с ртутным капающим (статическим капающим) электродом, электродом сравнения и вспомогательным электродом. Электроды подключаются к электрической схеме измерительного стенда.

В качестве рабочего электрода предложено использовать многоцелевой электрод производства Metrohm. На рис. 3.6.2 представлено изображение данного электрода и подписаны основные узлы.

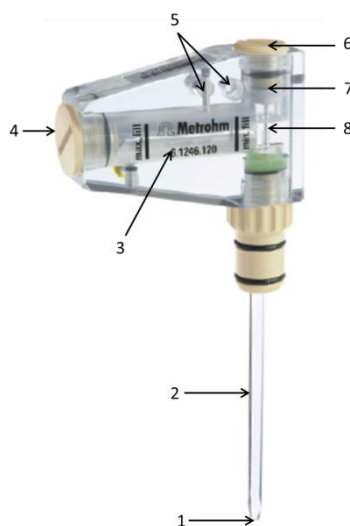


Рисунок 3.6.2. Многоцелевой электрод Metrohm: 1 – область формирования ртутной капли, 2 – стеклянный капилляр (внутренний диаметр ~50мкм) , 3 – резервуар для ртути, 4 – заглушка, 5 – гнезда для подвода азота, 6 – винтовая заглушка, 7 – пружина, 8 – игольчатый поршень.

В данном электроде истечением ртути управляют при помощи игольчатого поршня, подключенного к пневматической системе. Такая конструкция электрода позволяет использовать его в качестве ртутного статического, стационарного или капающего. В работе предлагается проводить измерения в режиме ртутного статического электрода, поскольку он имеет преимущество по сравнению с ртутным капающим электродом. В статическом режиме капля формируется на конце капилляра и не меняется в размерах на протяжении интервала измерения тока, а затем стряхивается ударом игольчатого поршня. Таким образом, площадь поверхности электрода остаётся постоянной и ёмкостью ток уменьшается, в результате возрастает чувствительность. Для работы пневматической системы прибора и удаления кислорода, растворенного в пробе, стенд должен быть подключен к системе подачи инертного газа.

3.7. Порядок управления полярографом 757 VA Computrace

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием полярографа 757 VA Computrace, регистрация и обработка аналитического сигнала производится в программном обеспечении «757 VA Computrace», вид основного рабочего окна которого представлен на рис. 3.7.1. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включить прибор: нажать красную кнопку на задней панели прибора.
- Запустить управляющую программу «757 VA Computrace».
- Работу нужно проводить в «Исследовательском режиме». Для перехода в режим необходимо в основной панели выбрать Exploratory mode. (рис. 3.7.1)
- В окне настройки режима (рис. 3.7.2) установить параметры согласно указаниям к лабораторной работе.
- Для начала измерений нажать кнопку Старт (Start на рис. 3.7.2).
- Зарегистрированные полярограммы можно сохранить путем последовательного выбора: File -> Save signal as -> Desktop -> папка «Ваше ФИО».

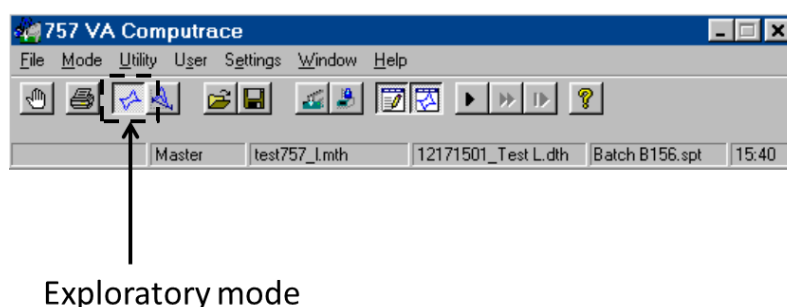


Рисунок 3.7.1 Внешний вид основного окна программы. Выбор Исследовательского режима

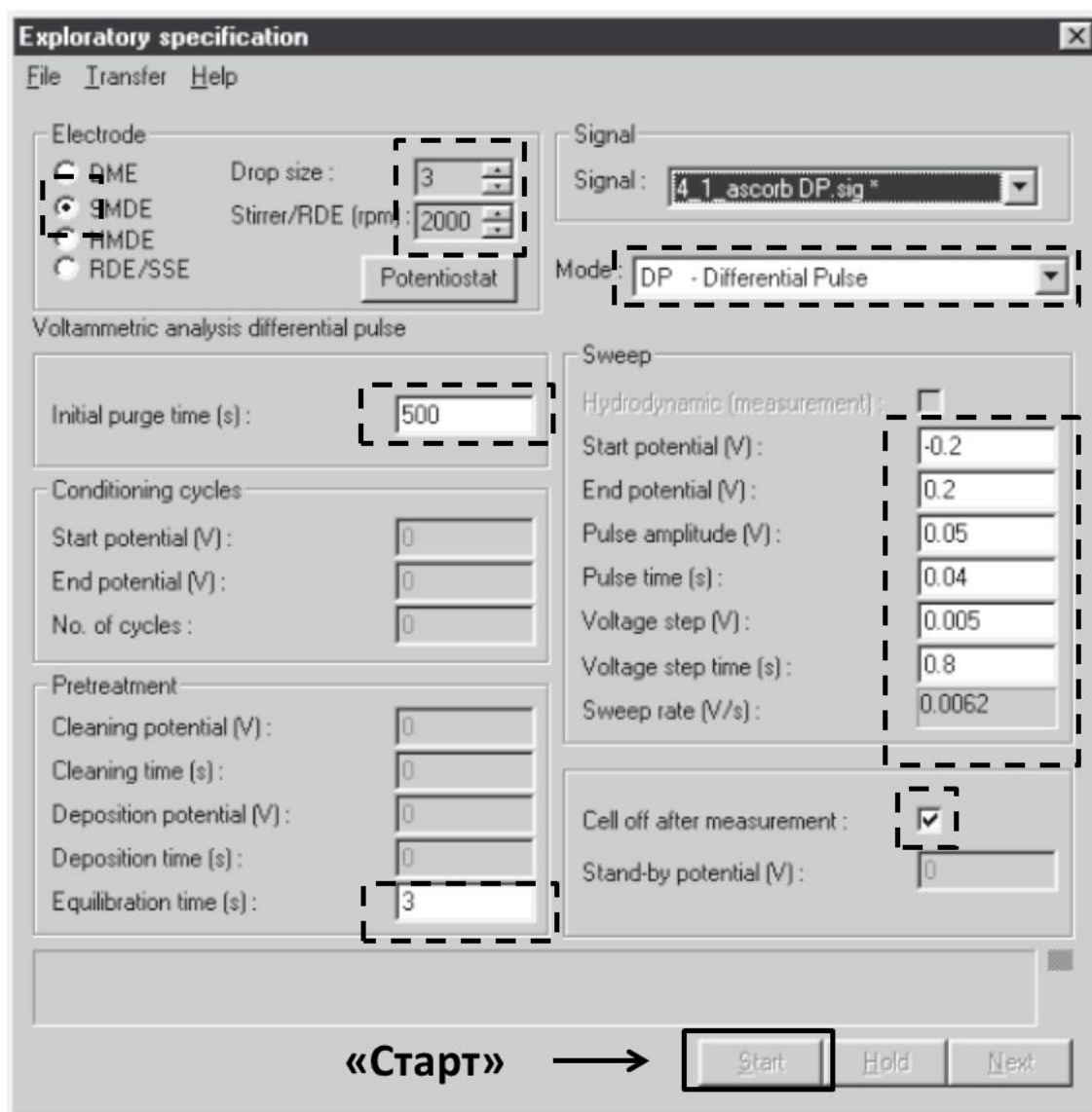


Рисунок 3.7.2 Окно настройки условий измерения

3.8. Лабораторная работа «Полярнографическое определение аскорбиновой кислоты в образцах лекарственных препаратов»

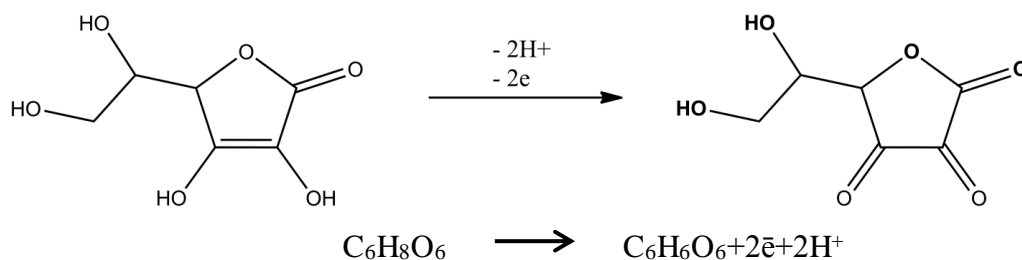
Цель работы: знакомство с методологией количественного анализа растворов методом дифференциально импульсной вольтамперометрии, приобретение опыта работы с потенциостатом/гальваностатом и стационарным ртутным капаящим электродом, изучение основ количественного анализа реальных объектов.

В данной работе предлагается определить концентрацию аскорбиновой кислоты методом дифференциально импульсной полярографии в лекарственном препарате, используя метод добавок.

Измерения проводят в трёхэлектродной ячейке, состоящей из стационарного ртутного капаящего рабочего электрода (РКЭ), платинового вспомогательного электрода

и хлоридсеребряного электрода сравнения. В качестве фонового электролита используют 0,1 моль/л ацетатный буфер с pH 4,64.

Химия процесса: аскорбиновую кислоту можно определить по току ее окисления до дегидроаскорбиновой кислоты:



Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- ацетатный буфер 0,1 М pH 4.64, 50 мл
- аскорбиновая кислота хч, 0.05 г
- образец лекарственного препарата, 1 шт
- автоматический дозатор переменного объема (с диапазоном пипетируемых от 100 до 1000 мкл) с наконечниками, 1 шт
- автоматический дозатор переменного объема (с диапазоном пипетируемых от 20 до 200 мкл) с наконечниками, 1 шт
- автоматический дозатор переменного объема (с диапазоном пипетируемых от 1 до 10 мл) с наконечниками, 1 шт
- пипетка Мора вместимостью 15 мл, 2 шт
- колба мерная вместимостью 50 мл, 2шт
- колба мерная вместимостью 25 мл, 1шт
- воронка, 2 шт
- стеклянная палочка, 2 шт
- фильтр «красная лента», 1 уп
- промывалка лабораторная, 1 шт
- полярограф 757 VA Computrace подключенный к ПК, 1 шт
- газ – азот

Техника безопасности при работе с металлической ртутью

Емкости с ртутью нельзя выносить из вытяжного шкафа. Все растворы, контактирующие с ртутью, должны быть собраны в одну емкость и оставлены в вытяжном шкафу. **Категорически запрещено сливать растворы, содержащие металлическую ртуть, в раковину.**

Ход работы:

- Приготовить стандартный раствор аскорбиновой кислоты 1 г/л. Для этого точную навеску порошка количественно перенести в мерную колбу вместимостью 25 мл, полностью растворить порошок в небольшом объеме деионизированной воды, а затем довести до метки и несколько раз перемешать. Раствор не устойчив при длительном хранении.
- Точную навеску лекарственного препарата (0.15 г) количественно перенести в мерную колбу вместимостью 50 мл. Добавить приблизительно 25 мл деионизированной воды и путем интенсивного встряхивания перемешать, затем довести до метки деионизированной водой.
- Повторить перемешивание путем многократного переворачивания колбы (не все компоненты образца растворимы в воде). Перемешанный раствор отфильтровать. Фильтрат плотно закрыть пробкой. Далее в тексте полученный фильтрат будет называться «Задача».
- Ознакомиться с прибором 757 VA Computrace.
- Поднять кожух и держатель электродов. Промыть электроды деионизированной водой, затем собрать капли с электродов фильтровальной бумагой.
- Ячейку ополоснуть небольшим объемом ацетатного буфера.
- В ячейку внести 15 мл ацетатного буфера, затем последовательно опустить держатель электродов и кожух.
- В программе сбора и обработки данных установить параметры согласно табл. 3.8.1.
- Начать измерения. Убедиться, что началась подача газа и отсчет времени на таймере.
- На рабочем столе создать папку с названием «Ваши Фамилия инициалы»(например, Сидоров КП). Сохранить зарегистрированную полярограмму в папке с вашим ФИО.
- Через отверстие для подачи пробы в измерительную ячейку автоматическим дозатором (диапазон дозируемых объемов 200 – 1000 мкл) прибавить 300 мкл «Задачи».
- В программе сбора и обработки данных нажать кнопку Редактировать (Edit) и установить начальное время продувки (Initial purging time:) на 50 с. Остальные параметры должны соответствовать предыдущему шагу. Начать измерения.
- Сохранить зарегистрированную кривую в папке с вашим ФИО. Сила тока должна изменяться плавно, на полярограмме не должно быть резких скачков и резких выступов.
- На полярограмме должен быть один пик параболической формы. Если на полярограмме есть искажения, то необходимо зарегистрировать еще одну полярограмму, не изменяя содержимого измерительной ячейки.

- В ячейку прилить 75 мкл стандартного раствора аскорбиновой кислоты 1 г/л при помощи автоматического дозатора (диапазон дозируемых объемов 20 – 200 мкл).
- В программе сбора и обработки данных нажать изменить начальное время продувки (Initial purging time:) на 25 с. Остальные параметры должны соответствовать предыдущему шагу. Начать измерения. Сохранить зарегистрированную кривую в папке с вашим ФИО.
- В ячейку прилить еще 75 мкл стандартного раствора аскорбиновой кислоты 1 г/л и зарегистрировать кривую в условиях, идентичных первой добавки. Сохранить зарегистрированную кривую в папке с вашим ФИО.
- Слить раствор из ячейки в стакан, таким образом, чтобы шарик ртути и немного раствора осталось в ячейке.
- Промыть стенки ячейки деионизированной водой, слить воду в стакан, оставляя металлическую ртуть в ячейке.
- Повторить промывку 3 раза. Затем шарик ртути вместе с частью раствора перелить в специальную емкость для сбора металлической ртути.
- Тщательно промыть измерительную ячейку, последовательно используя водопроводную воду (большой объем), дистиллированную воду, деионизированную воду.
- Стакан со сливом оставить в вытяжном шкафу.
- В окне «Exploratory specification» (рис. 3.7.2) в выпадающем меню «Сигнал (Signal)» выбрать файл с вольтамперограммой раствора «Задачи» («TaskDP»).
- На графике «Исследовательские кривые (Exploratory curves)» последовательно выбрать закладку меню «Сигнал (Signal)» -> «Поиск пиков (Peak search)» (выбранная полярограмма будет выделена синим).
- В открывшемся меню выбрать опцию «Вручную (Manual)». Далее в части «Baseline» нажимая на стрелочки, передвинуть курсор начала и окончания области пика. Данные перенести в лабораторный журнал.
- Обработать вольтамперограммы с первой и второй добавками аналогичным образом.
- Для каждой кривой заполнить таблицу 3.8.2.
- Содержание аскорбиновой кислоты в образце фармацевтического препарата рассчитать по формуле:

$$C_x = \frac{h_x V_{st} C_{st}}{h_{st} V_{st} + (h_{st} - h_x) V_x},$$

где h_x – высота пика полярографической кривой при анализе «Задачи»; V_x – аликвота анализируемой пробы; C_{st} – концентрация стандартного раствора; h_{st} – высота пика

полярографической кривой после добавления стандартного раствора; V_{st} – объем добавленного стандартного раствора.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- все полярограммы (их необходимо выгрузить полярограммы в файлы .txt, для чего в окне «Exploratory specification» в выпадающем меню «Сигнал (Signal)» выбрать необходимую кривую, далее «File» -> «Export signal points» -> «Desktop» -> Ваша папка);
- таблицу с результатами анализа полярограмм;
- результаты вычислений для двух добавок стандартного раствора;
- расчет среднего значения содержания аскорбиновой кислоты в растворе;
- расчет содержания аскорбиновой кислоты в 0.6 г лекарственного препарата.

Итоговые результаты должны содержать среднее значение содержания аскорбиновой кислоты (с указанием доверительного интервала) в таблетке лекарственного препарата (мг).

Таблица 3.8.1. Параметры проведения измерений.

Параметры рабочего электрода (Electrode)	SMDE Размер капли (Drop size): 3 Мешалка/ВДЭ (об/мин) (Stirrer/RDE (rpm):) 2000
Начальное время продувки (Initial purging time)	500 с
Режим (Mode)	Дифференциальный импульс (DP – differential pulse)
Развертка потенциала (Sweep)	
Начальный потенциал (Start potential)	-0.2 В
Конечный потенциал (End potential)	0.2 В
Амплитуда импульса (Pulse amplitude)	0.05 В
Время импульса (Pulse time)	0.04 с
Шаг изменения напряжения (Voltage step)	0.005 В
Продолжительность шага (Voltage step time)	0.8 с
Скорость развертки напряжения (Sweep rate)	0.0062 В/с
Время установления равновесия (Equilibrium time:)	3 с
Выключить ячейку после измерения (Cell off after measurement)	✓

Таблица 3.9.1 Результаты анализа полярограмм

	Объем добавки, мл	Положение пика (Position)	Высота пика (Height)
Задача			
Добавка 1			
Добавка 2			

3.9. Теоретические основы амперометрического титрования

Амперометрия – это группа неравновесных электрохимических методов анализа, основанных на измерении зависимости тока от внешних параметров аналитического процесса (например, от объема титранта) при постоянном значении поляризации рабочего электрода. Амперометрия является частным случаем вольтамперометрии. Амперометрические методы подразделяются на прямые и косвенные. В прямой амперометрии аналитический сигнал рабочего электрода напрямую зависит от содержания аналита в пробе. К косвенным методам относится амперометрическое титрование. Амперометрическое титрование, как и потенциметрическое, позволяет работать в мутных и окрашенных растворах, однако обладает большей чувствительностью, определяющейся возможностями постояннотоковой вольтамперометрии. Метод пригоден для количественного определения как неорганических, так и органических веществ. Общим для всех амперометрических методов является то, что регистрируемым аналитическим сигналом в них всегда является предельный диффузионный ток.

При амперометрическом титровании регистрируемым аналитическим сигналом является величина предельного диффузионного тока, протекающего через раствор в процессе его титрования. В общем случае величина предельного диффузионного тока определяется следующим выражением:

$$i_d = KC,$$

где i_d – измеренное значение величины предельного диффузионного тока,

K – константа, определяемая коэффициентом диффузии деполяризатора и гидродинамическими условиями, при которых проводятся измерения,

C – концентрация электрохимически активного вещества в растворе.

Это выражение является упрощённым уравнением Ильковича и демонстрирует прямую пропорциональность между величиной предельного диффузионного тока и объёмной концентрацией электроактивного вещества. Для обеспечения амперометрической индикации в титровании необходимо, чтобы хотя бы один из участников реакции был электроактивен – титруемое вещество, титрант или продукт реакции. Титриметрическая реакция может быть реакцией окисления-восстановления, комплексообразования или осаждения. В основе измерительного устройства (рис. 3.9.1) лежит классическая двухэлектродная схема, которая включает в себя рабочий электрод и электрод сравнения, на которые подается напряжение от источника постоянного напряжения. В качестве электрода сравнения чаще всего применяют хлоридсеребряный электрод. Рабочим электродом может быть твёрдый электрод (вращающийся или

неподвижный), например, платиновый или графитовый, либо ртутный капающий электрод. С целью увеличения предельного диффузионного тока раствор интенсивно перемешивают.

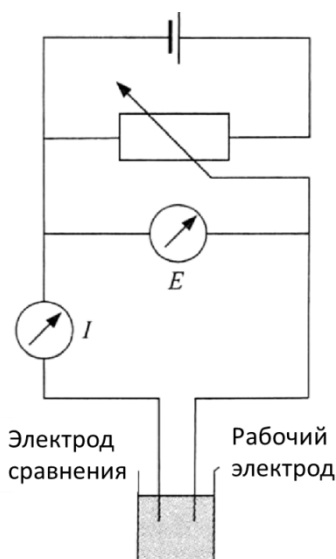


Рисунок 3.9.1 Схема устройства для амперометрической индикации в титровании

При выборе титранта предпочтение отдается веществам, исключающим образование осадка на электроде в процессе титрования. Обычно это достигается подбором титранта, который при окислении или восстановлении образует растворимое соединение. К таким веществам относятся соль Мора (в кислых растворах), цианоферрит и цианоферрат калия. Потенциал рабочего электрода выбирают в области предельного диффузионного тока электроактивного вещества, то есть в области плато на вольтамперограмме данного вещества.

В ходе титрования непрерывно регистрируют силу тока и представляют её в виде зависимости от степени оттитрованности или объема стандартного раствора титранта. Полученная кривая титрования всегда состоит из двух линейных участков, точка пересечения которых соответствует конечной точке титрования. Форма кривых титрования зависит от того, является ли электрохимически активным веществом аналит, титрант или продукт их реакции. Если продукт реакции титрования электрохимически не активен, возможны следующие основные случаи.

- Титрование электрохимически активного вещества электрохимически неактивным титрантом. При этом происходит уменьшение концентрации деполаризатора и величины предельного тока по мере прибавления титранта вплоть до достижения точки эквивалентности, после чего ток практически не изменяется (рисунок 3.9.2А).
- Титрование электрохимически неактивного вещества электрохимически активным. До достижения точки эквивалентности ток практически не изменяется, а после ее прохождения наблюдается увеличение тока (рисунок 3.9.2Б).

- Титрант и аналит электрохимически активны в данной области потенциалов. При титровании сначала происходит уменьшение, а после достижения точки эквивалентности – увеличение тока, протекающего через раствор (рисунок 3.9.2В).

В случае, когда электрохимически активен продукт реакции, а аналит и титрант не активны, в процессе титрования будет наблюдаться рост тока со стабилизацией на конечном значении, соответствующем точке эквивалентности (рисунок 3.9.2Г)

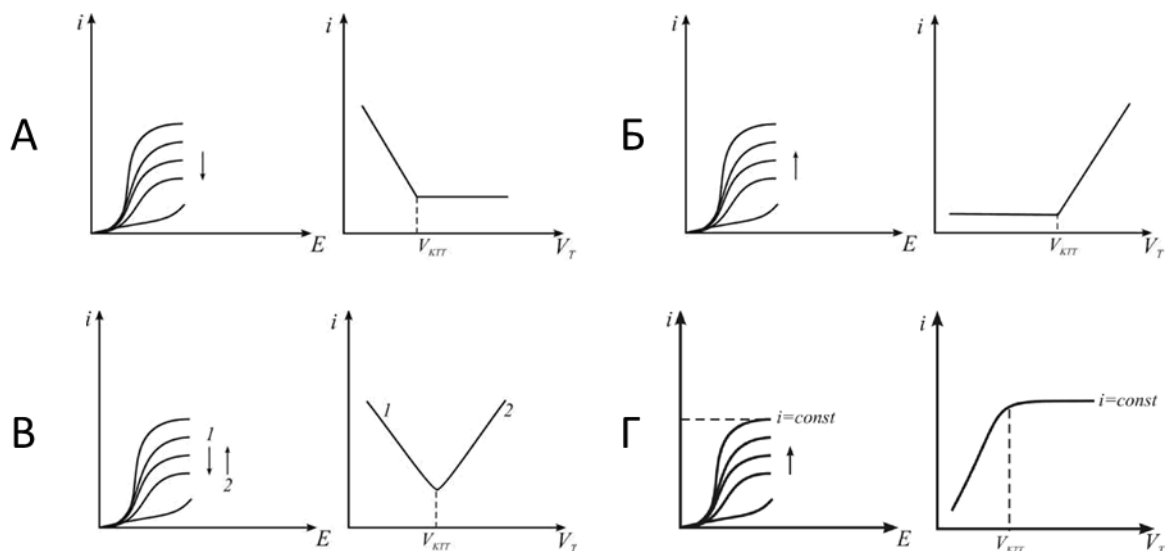


Рисунок 3.9.2 Взаимосвязь величины предельного тона на вольтамперограммах и вида кривых титрования, для различных вариантов амперометрического титрования.

Стрелками показано изменение тока при добавлении титранта

В процессе титрования происходит изменение объема раствора за счет добавляемого титранта, чтобы учесть это изменение, на кривой титрования откладывают не измеренное, а исправленное значение тока (т.е. приведенное к той величине объема раствора, при которой измерена данная величина тока):

$$i_{\text{исп}} = \frac{i_{\text{изм}} (V_0 + V_T)}{V_0},$$

где $i_{\text{исп}}$ – значение тока, откладываемое на кривой титрования,

$i_{\text{изм}}$ – измеренное значение тока,

V_0 – исходный объем аликвотной порции титруемого раствора,

V_T - добавленный объем титранта.

В неводных растворителях часто применяют амперометрическое титрование с двумя индикаторными электродами. В раствор погружают два одинаковых электрода, к которым прилагают постоянное напряжение. Тогда ток между электродами пойдет только в том случае, если на каждом из них достигается значение потенциала, достаточное для протекания электродной реакции. Это условие может быть выполнено только тогда, когда

в растворе присутствуют вещества, способные и окисляться, и восстанавливаться, то есть существует окислительно-восстановительная система.

3.10. Прибор для амперометрического титрования

Для амперометрического титрования потребуется потенциостат. Традиционно потенциостатом называют электронный прибор, автоматически контролирующий потенциал электрода и поддерживающий заранее заданную его величину. В данном практическом курсе работы выполняются на потенциостате-гальваностате Р-30 Элинс, внешний вид которого показан на рис. 3.10.1. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно. Потенциостаты-гальваностаты серии Р-30 являются многофункциональными научными приборами, позволяющими проводить исследования в различных режимах электрохимических измерений. Эти приборы позволяют осуществлять химический анализ методами амперометрии, вольтамперометрии, потенциометрии, кулонометрии и т.д.



Рисунок 3.10.1 Потенциостат-гальваностат серии Р-30: общий вид прибора, передняя панель, задняя панель. Обозначения: 1 — индикатор питания, 2 — разъем заземления и экранирования, 3 — разъемы подключения измерительных электродов, 4 — вентилятор охлаждения, 5 — кнопка включения питания, 6 — гнездо предохранителя, 7 — разъем питания (220 В), 8 — USB разъем для подключения прибора к ПК

Потенциостаты позволяют работать по двух, трех или четырехэлектродной схемам подключения к электрохимической ячейке (рис. 3.10.2). Во всех случаях прибор стабилизирует величину сигнала электрода «Comp» относительно электрода «Ref».

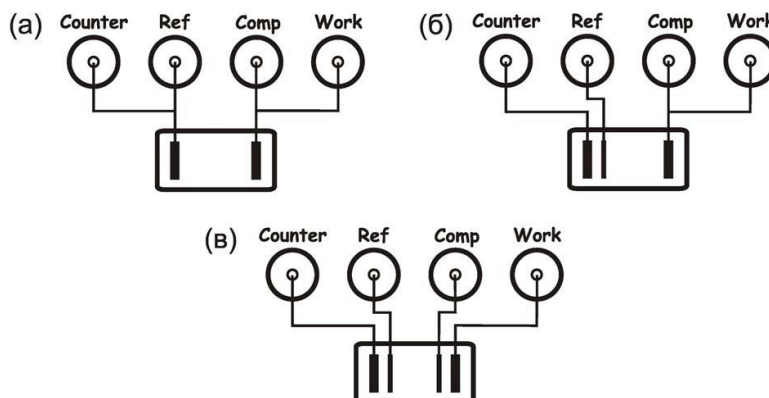


Рисунок 3.10.2. Подключение по двух- (а), трех- (б) и четырехэлектродной (в) схемам.

Особенности работы с потенциостатом

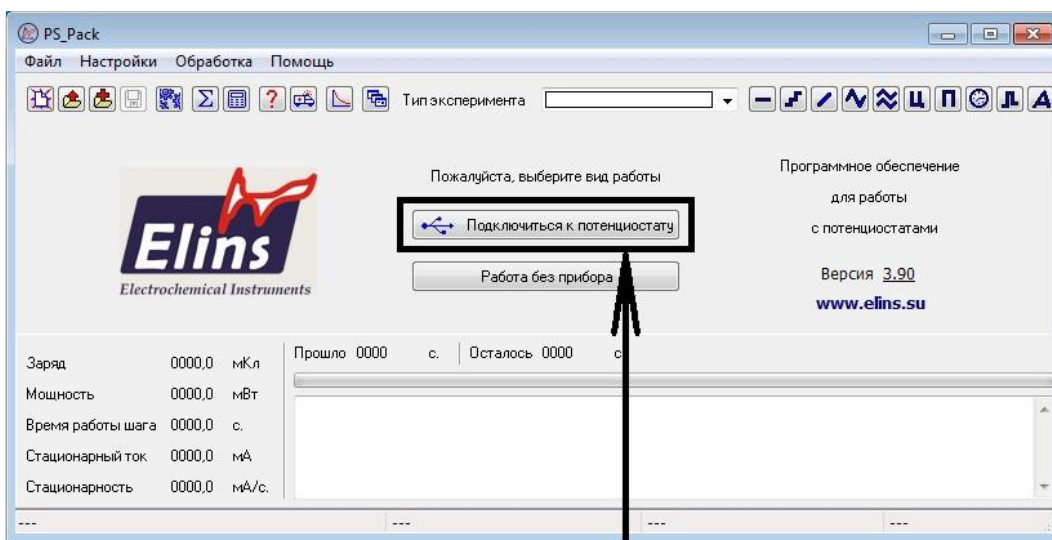
- Запрещается попадание жидкости любого типа или механических предметов (через вентиляционные решетки или иначе) внутрь прибора.
- Запрещается эксплуатировать прибор в условиях, затрудняющих доступ воздуха из окружающей среды к вентилятору задней панели и корпусу прибора и отвод тепла через вентиляционные отверстия передней панели и от корпуса прибора в окружающую среду.
- Запрещается электрический контакт чего бы то ни было, не относящегося к рабочему объекту, с любым из электродов прибора. Сюда, например, относятся: металлические или иные электропроводящие или потенциально электропроводящие (влажные мокрые и т.п.) детали рабочего стола или иной рабочей поверхности, которая может контактировать с электродами прибора или исследуемым объектом.

3.11. Порядок работы с потенциостатом Elins серии P-30

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием потенциостата-гальваностата P-30 Элинс, регистрация и обработка аналитического сигнала производится в программном обеспечении «PS Pack 2», вид основного рабочего окна которого представлен на рис. 3.11.1. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Включить прибор: нажать красную кнопку на задней панели прибора. При этом на передней панели должна загореться лампочка «Power».
- Запустить управляющую программу «PS Pack 2».

- Подключиться к потенциостату (для чего нажать соответствующую кнопку на рис. 3.11.1).



Подключиться к потенциостату

Рисунок 3.11.1 Подключение к потенциостату

- Выбрать тип эксперимента (из меню выбрать «Стационарные режимы»), как показано на рис. 3.11.2).

Выбор типа эксперимента

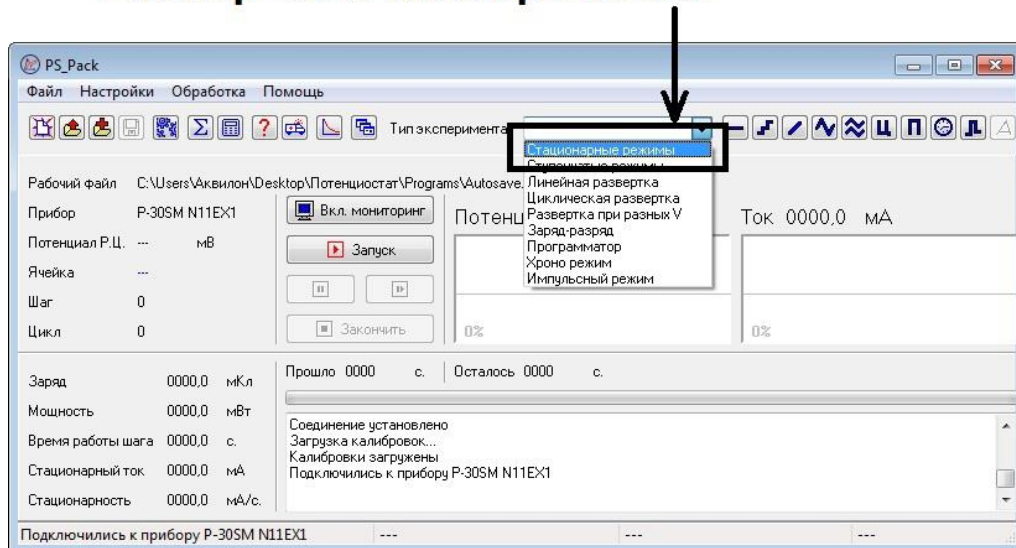


Рисунок 3.11.2 Выбор типа эксперимента

- В появившемся окне во вкладке «Основное» (рис. 3.11.3) выбрать режим работы «Потенциостат».
- Установить необходимое значение рабочего потенциала. Для подтверждения изменений нажать кнопку «Применить», затем нажать кнопку «Выйти» (рис. 3.11.3).

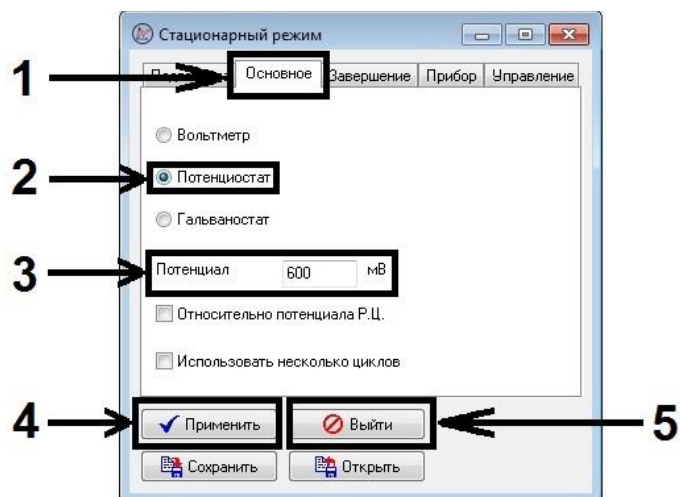


Рисунок 3.11.3 Настройка режима измерений

- Убедиться в подключении рабочего электрода и электрода сравнения к прибору.
- Бюретку заполнить раствором титранта.
- В электрохимическую ячейку поместить аликвотную порцию исследуемого раствора и якорь магнитной мешалки, включить перемешивание.
- Электроды опустить в исследуемый раствор.
- Запустить измерение, нажав кнопку «Запуск» (рис. 3.11.4).

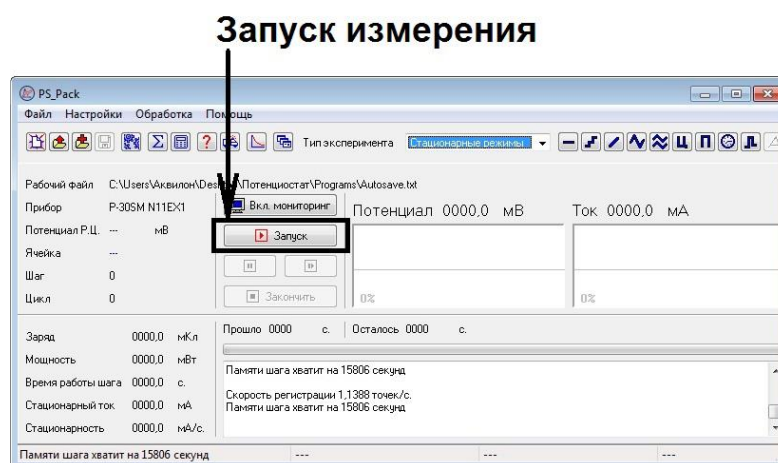


Рисунок 3.11.4 Запуск измерения

- Подождать установления постоянного значения тока и записать показания в лабораторный журнал.
- Добавить первую порцию титранта – 1 мл. Подождать установления постоянного значения тока и записать в лабораторный журнал
- Продолжать титрование, добавляя по 1 мл стандартного раствора и фиксируя соответствующие значения тока. Когда при добавлении очередной порции титранта

значение силы тока резко возрастёт (на порядок или более), необходимо внести еще 4-5 добавок титранта.

- Для завершения титрования нажать кнопку «Закончить» (рис. 3.11.5).
- Для сохранения полученных данных в цифровом виде нажать кнопку «Сохранить рабочий файл» (рис. 3.11.5).

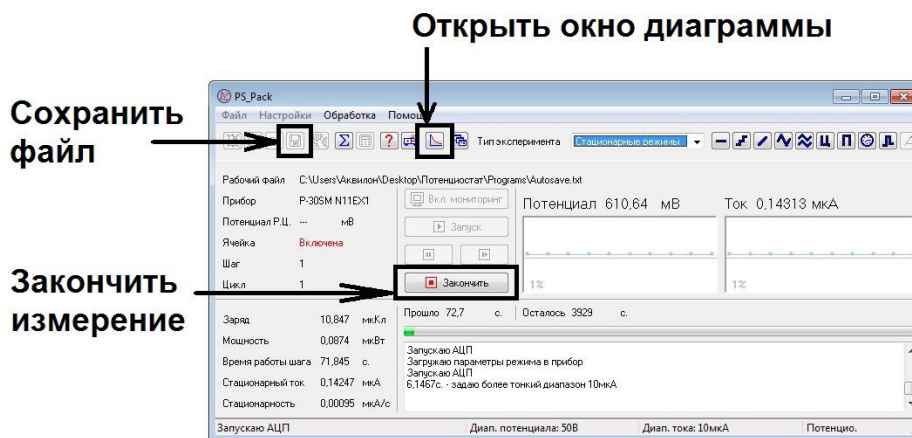


Рисунок 3.11.5 Вид основного окна управляющей программы

3.12. Лабораторная работа «Определение содержания бихромат-ионов методом амперометрического титрования»

Цель работы: знакомство с методологией количественного анализа растворов методом амперометрического титрования, приобретение опыта работы с потенциостатом-гальваностатом, изучение основ количественного анализа реальных объектов.

Определение бихромат-ионов основано на реакции восстановления их солью Мора в кислой среде до ионов хрома (III). Титрование выполняется с платиновым рабочим электродом по току окисления железа (II). На этом принципе основаны методики количественного определения хрома в чёрных металлах и различных типах минерального сырья.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- раствор соли Мора, 500 мл
- раствор серной кислоты 2Н, 50 мл
- дихромат калия порошок хч, 30 г
- колба коническая вместимостью 500 мл, 1 шт
- колба мерная вместимостью 200 или 250 мл, 2 шт
- стакан вместимостью 150 мл, 1 шт

- пипетка Мора вместимостью 50 мл, 1 шт
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл, 1 шт
- бюретка вместимостью 50 мл, 1 шт
- воронка, 1 шт
- промывалка лабораторная, 1 шт
- потенциостаты Elins серии P-30 подключенный к ПК, 1 шт
- платиновый электрод, 1 шт
- электрод сравнения хлоридсеребрянный, 1 шт
- штатив лабораторный с лапками, 1 шт
- магнитная мешалка с вкладышем, 1 шт
- аналитические весы 2 класса точности, 1 шт
- фильтровальная бумага, 1 уп

Ход работы:

- В конической колбе получить раствор соли Мора, заполнить им бюретку.
- Рассчитать навеску бихромата калия, необходимую для приготовления 200 или 250 мл 0.01 н раствора.
- Рассчитанную навеску отобрать на аналитических весах, количественно перенести в мерную колбу вместимостью 200 или 250 мл, растворить в небольшом количестве дистиллированной воды.
- В колбу добавить 20 мл 2 н раствора серной кислоты, довести содержимое до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать.
- В ячейку (стакан) вместимостью 150 мл поместить аликвотную порцию 50 мл приготовленного раствора. Опустить в стакан вкладыш магнитной мешалки, платиновый индикаторный электрод и хлорсеребряный ЭС, включить перемешивание.
- Установить рабочий потенциал +1.00 В и провести титрование, приливая по 1 мл раствора титранта. Зафиксировать показания прибора после каждого добавления титранта.
- Вычислить исправленные значения тока и построить кривую амперометрического титрования.
- Определить точку конца титрования и повторить титрование новой аликвоты, прибавляя титрант вблизи точки эквивалентности порциями по 0.2 мл.
- Провести требуемое количество параллельных определений, по полученным экспериментальным данным рассчитать концентрацию соли Мора.

- В мерную колбу вместимостью 200 или 250 мл получить раствор задачи, добавить 20 мл 2 н раствора серной кислоты, довести содержимое до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать.
 - Провести титрование анализируемого раствора по описанной выше схеме с аликвотой 50 мл.
 - После первичного установления точки конца титрования провести не менее двух титрований с малым шагом добавления титранта вблизи точки эквивалентности.
 - По полученным данным рассчитать содержание аналита в исходном растворе (мг).
- Отчет** должен содержать (помимо общих требований):
- уравнение реакции;
 - величины аналитического сигнала для всех точек титрования;
 - результаты стандартизации раствора соли Мора;
 - все кривые титрования с указанием значений объемов титранта, соответствующих точкам эквивалентности;
 - расчет среднего значения содержания бихромат-иона в пробе;

Итоговые результаты должны содержать среднее значение содержания бихромат-иона (с указанием доверительного интервала) в колбе (мг).

*Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы
представлена по ссылке:*

<https://youtu.be/0OWJUp3-3mM>



3.13. Лабораторная работа «Определение содержания ионов цинка методом амперометрического титрования»

Цель работы: знакомство с методологией количественного анализа растворов методом амперометрического титрования, приобретение опыта работы с потенциостатом-гальваностатом, изучение основ количественного анализа реальных объектов.

Титрование ферроцианидом является распространенным на практике методом определения цинка в природных и промышленных объектах. Определение ионов Zn^{2+} основано на их осаждении в виде ферроцианида. Возникающий предельный ток пропорционален концентрации ферроцианида в растворе. Ионы цинка и образующийся продукт не вступают в электрохимическую реакцию при анодной поляризации, т.е. титрование ведется по току титранта.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- раствор ферроцианида калия, 500 мл
- раствор соли цинка с концентрацией 1,37 мг/мл, 30 мл
- раствор сульфата калия, 500 мл
- колба коническая вместимостью 500 мл, 1 шт
- колба мерная вместимостью 200 мл, 2 шт
- стакан вместимостью 150 мл, 1 шт
- пипетка Мора вместимостью 50 мл, 1 шт
- пипетка Мора вместимостью 20 мл, 1 шт
- колба Вульфа вместимостью 1000 мл, 1 шт
- бюретка на 25 мл, 1 шт
- воронка, 1 шт
- промывалка лабораторная, 1 шт
- потенциостаты Elins серии P-30 подключенный к ПК, 1 шт
- электрод платиновый, 1 шт
- электрод сравнения хлоридсеребряный, 1 шт
- штатив лабораторный с лапками, 1 шт
- магнитная мешалка с вкладышем, 1 шт
- фильтровальная бумага, 1 уп

Ход работы:

- В конической колбе получить раствор ферроцианида калия, заполнить им бюретку.
- Рассчитать объем аликвоты стандартного раствора цинка, необходимый для приготовления 200 или 250 мл раствора с концентрацией цинка 0.137 мг/мл.
- Рассчитанный объем количественно перенести в мерную колбу вместимостью 200 или 250 мл, довести содержимое до метки раствором сульфата калия и тщательно перемешать.
- В ячейку (стакан) вместимостью 150 мл поместить аликвотную порцию 50 мл приготовленного раствора. Опустить в стакан вкладыш магнитной мешалки, платиновый индикаторный электрод и хлорсеребряный ЭС, включить перемешивание.
- Установить рабочий потенциал +0.60 В и провести титрование, приливая по 1 мл раствора титранта. Зафиксировать показания прибора после каждого добавления титранта.
- Вычислить исправленные значения тока и построить кривую амперометрического титрования.

- Определить точку конца титрования и повторить титрование новой аликвоты, прибавляя титрант вблизи точки эквивалентности порциями по 0.2 мл.
 - Провести требуемое количество параллельных определений, по полученным экспериментальным данным рассчитать концентрацию раствора ферроцианида калия.
 - В мерную колбу вместимостью 200 или 250 мл получить раствор задачи, довести содержимое до метки раствором сульфата калия и тщательно перемешать.
 - Провести титрование анализируемого раствора по описанной выше схеме с аликвотой 50 мл.
 - После первичного установления точки конца титрования провести не менее двух титрований с малым шагом добавления титранта вблизи точки эквивалентности.
 - По полученным данным рассчитать содержание аналита в исходном растворе (мг).
Отчет должен содержать (помимо общих требований):
 - уравнение реакции;
 - величины аналитического сигнала для всех точек титрования;
 - результаты стандартизации раствора ферроцианида калия;
 - все кривые титрования с указанием значений объемов титранта, соответствующих точкам эквивалентности;
 - расчет среднего значения содержания ионов цинка в пробе;
- Итоговые результаты** должны содержать среднее значение содержания ионов цинка (с указанием доверительного интервала) в колбе (мг).

4. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

4.1. Теоретические основы хроматографических методов анализа

Хроматографию можно рассматривать как многовариантный метод аналитической химии (совокупность методов разделения, различающихся агрегатным состоянием фаз и их ролью) и универсальный способ осуществления процесса межфазного распределения. Кроме того, хроматография – гибридный аналитический метод, в котором хроматографический процесс – часть аналитической системы, сочетающей разделение и измерение. Таким образом, метод позволяет не только разделять многокомпонентную смесь, но и идентифицировать компоненты, а также определять количественный состав анализируемой пробы.

В любом хроматографическом методе имеет место многократное перераспределение веществ между двумя фазами при их относительном перемещении. Компоненты исходной смеси веществ перемещаются в потоке подвижной фазы относительно стационарной фазы, помещенной в ограниченное разделительное пространство. Характеристическим свойством являются коэффициенты распределения определяемых веществ в используемой системе фаз. От коэффициента распределения зависит скорость перемещения зон разделяемых компонентов – чем больше коэффициент распределения, тем медленнее перемещается зона.

Существует несколько видов классификации хроматографических методов анализа. В основе одного из них лежит агрегатное состояние фаз (табл. 4.1.1). По схеме разделения выделяют зонную (элюентную), фронтальную и вытеснительную хроматографию. Первый вариант используется в аналитической практике чаще всего, его суть состоит в следующем (рис. 4.1.1). В разделительное пространство вводится исходная смесь веществ. Затем в хроматографическую колонку подается поток подвижной фазы (элюента), сродство которой к стационарной фазе меньше или сопоставимо со сродством компонентов смеси. В результате происходит разделение компонентов смеси по зонам в зависимости от коэффициентов распределения.

Зоны разделяемых компонентов перемещаются по хроматографической колонке с различной скоростью, которая зависит как от коэффициента распределения компонента в системе фаз, так и отношения объемов стационарной и подвижной фаз. Результатом хроматографического разделения является хроматограмма (рис. 4.1.2) – зависимость сигнала детектора (аналитического сигнала), функционального с связанного с концентрацией компонентов разделяемой смеси на выходе из хроматографической колонки, от времени пропускания подвижной фазы (или от ее объема). Важными параметрами хроматографического процесса являются параметры удерживания: объем удерживания V_R (объем подвижной фазы, которую необходимо пропустить через колонку

до появления на выходе максимума зоны компонента) и время удерживания t_R (время от начала элюирования до появления на выходе максимума зоны компонента). Данные параметры связаны между собой следующим соотношением:

$$V_R = t_R w,$$

где w – расход (объемная скорость потока) подвижной фазы.

Таблица 4.1.1. Классификация хроматографических методов по агрегатному состоянию фаз

стационарная фаза	подвижная фаза	хроматография
твердое тело	жидкость	жидкостно-твердофазная
полярная жидкость	неполярная жидкость	нормально-фазовая жидкостно-жидкостная
неполярная жидкость	полярная жидкость	обращенно-фазовая жидкостно-жидкостная
твердое тело	газ	газоадсорбционная
жидкость	газ	газожидкостная
газ	жидкость	жидкостно-газовая
твердое тело	сверхкритический флюид	сверхкритическая флюидная
твердое тело и жидкость	газ	газожидкостно-твердофазная
твердое тело и газ	жидкость	жидкостно-газоадсорбционная

При разделении первым из колонки выходит неудерживаемый компонент, перемещающийся со скоростью подвижной фазы. Ему соответствуют свободный объем V_0 и мертвое время t_0 . Следует отметить, что при движении зон разделяемых компонентов по колонке наряду с разделением (из-за различия скоростей) происходит размытие зон, проявляющееся в уширении пиков на хроматограмме. Это уширение связано с продольной

диффузией анализов, неравномерностью потока подвижной фазы по хроматографической колонке и конечной скоростью массообмена между подвижной и неподвижной фазами.

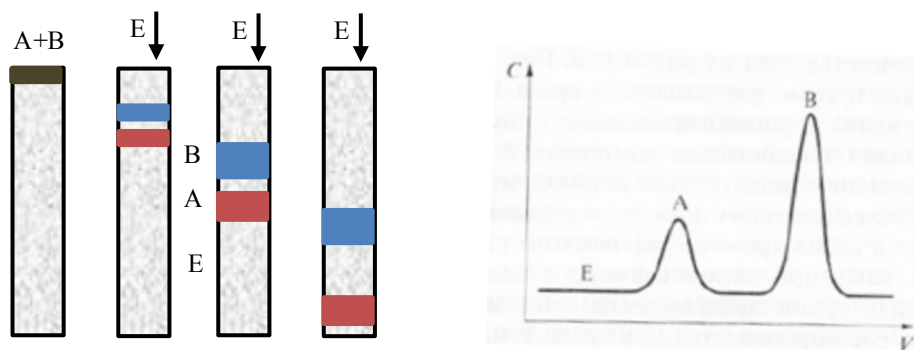


Рисунок 4.1.1. Зонная схема хроматографического разделения веществ (слева) и соответствующая ей хроматограмма (справа)

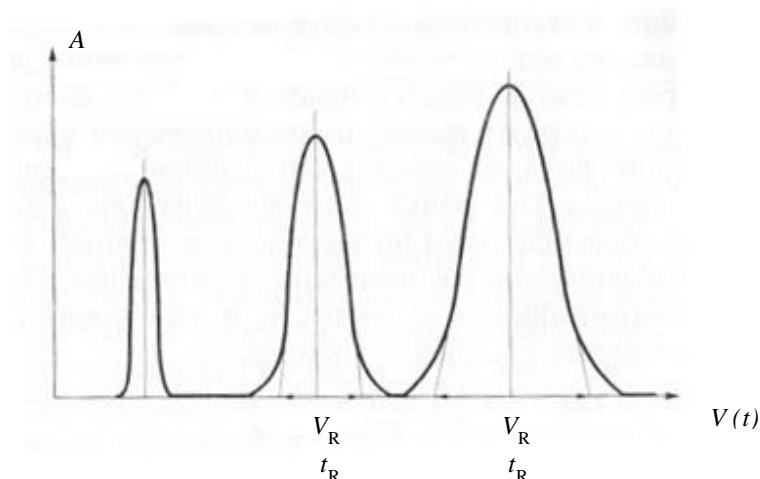


Рисунок 4.1.2. Общий вид хроматограммы (зависимости сигнала детектора A от объема подвижной фазы V (времени ее пропускания t)) с обозначением параметров удерживания

Хроматографические методы позволяют выполнять как качественный, так и количественный анализ. Первый основан на идентификации по параметрам удерживания. Совпадение величин удерживания для неизвестного и стандартного веществ свидетельствует о возможной идентичности этих веществ. Для большей достоверности сравнение повторяют в сильно различающихся условиях, используя, например, неподвижные фазы, обладающие различной полярностью (при положительном результате достоверность идентификации составляет 99%). Количественный анализ основан на использовании в качестве аналитического сигнала высоты или площади пика на хроматограмме. По способам проведения количественного анализа выделяют метод нормировки, метод абсолютной градуировки и метод внутреннего стандарта.

Методологические подходы в количественном хроматографическом анализе методом абсолютной градуировки аналогичны прочим методом анализа.

Среди достоинств хроматографических методов анализа можно отметить следующие:

- универсальность (определение практически любых аналитов),
- многокомпонентность (за один анализ получается информация о многих веществах),
- высокая чувствительность, низкие пределы обнаружения (за счет включенного этапа концентрирования и используемых детекторов),
- экспрессность,
- информативность (количественный и качественный анализ),
- малый объем пробы,
- легкость автоматизации.

Однако, хроматографические методы анализа обладают некоторыми недостатками, в частности:

- относительно невысокая точность (ОСКО 5-15 %),
- высокая стоимость приборов и расходных материалов,
- проблемы с определением высокореакционных веществ.

Тем не менее, стоит отметить, что в настоящее время подавляющее число задач качественного и количественного определения самых разнообразных органических веществ решается с помощью хроматографических методов анализа.

4.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Эффективность хроматографии имеет несколько значений. Основное значение – способность к разрешению пиков. Кроме того, под эффективностью понимается скорость получения результатов, отвечающих определенным требованиям. По этой причине в хроматографических методах анализа выделяют высокоэффективную хроматографию, в которой используют мелкодисперсные сорбенты (2-10 мкм) и насосы высокого давления. В результате увеличивается эффективность жидкостной хроматографии: за короткое время можно получить хроматограмму с хорошим разрешением.

Из всех хроматографических методов анализа (табл. 4.1.1) наибольшее распространение в аналитической практике получила жидкостно-твердофазная хроматография, также называемая просто жидкостной, особенно в варианте высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Особенность данного метода заключается в том, что жидкая подвижная фаза является активным элюентом, который конкурирует с определяемыми веществами в колонке, ее свойства оказывают влияние на качество хроматографического процесса. Для эффективной реализации

хроматографического процесса подвижная фаза должна растворять анализируемую пробу, обладать малой вязкостью, быть инертной по отношению к частям хроматографа, быть безопасной, быть дешевой, соответствовать детектору.

Методы жидкостной хроматографии дополнительно классифицируют по механизму удерживания веществ стационарной фазой, выделяют жидкостно-адсорбционную, аффинную, ионообменную, лигандообменную, эксклюзионную хроматографию. В случае адсорбционной хроматографии стационарной фазой является пористый адсорбент, способный к удерживанию веществ по механизму слабых неспецифических (адсорбция) и специфических (водородные связи) межмолекулярных взаимодействий. В зависимости от полярности фаз реализуется либо нормально-фазовый вариант (полярный адсорбент и неполярная подвижная фаза), либо обращенно-фазовый вариант (неполярный адсорбент и полярная подвижная фаза).

4.3. Устройство высокоэффективного жидкостного хроматографа

Блок-схема хроматографа для ВЭЖХ представлена на рис. 4.3.1. Подготовка к анализу обычно начинается с приготовления элюента, включая при необходимости его дегазацию (обычно барботированием инертным газом), очистку от взвесей фильтрованием и ряд дополнительных приемов, которые определяются природой определяемых соединений, методами разделения и детектирования. Подача элюента в хроматографическую колонку осуществляется при высоком давлении с помощью специального насоса. При этом желательно создавать безпульсационный поток (поскольку пульсации вносят искажения в аналитический сигнал).

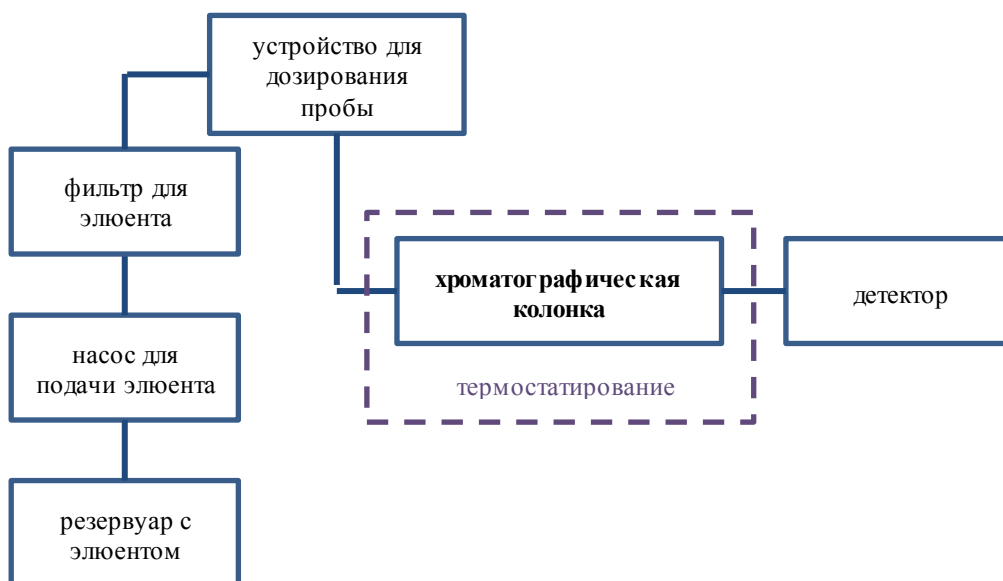


Рисунок 4.3.1. Блок-схема высокоэффективного жидкостного хроматографа

Дозирование пробы обычно осуществляется с помощью петлевого крана-дозатора. Жидкая проба сначала заполняет петлю, вместимость которой составляет от 5 до 500 мкл, затем при переключении крана в эту петлю подается подвижная фаза, выталкивающая содержимое в колонку.

Выбор хроматографической колонки (стационарной фазы), а также подвижной фазы и условий элюирования обусловлен методом разделения. Для высокоэффективной жидкостной хроматографии типовыми являются насадочные колонки с длиной 150-250 мм, внутренним диаметром 4 мм, размером частиц насадок 5-10 мкм. Такие колонки закрывают с обеих сторон металлокерамическими фильтрами для предотвращения высыпания сорбента. Колонки устанавливают в термостатируемом блоке, поскольку процесс межфазного перераспределения веществ существенно изменяется при изменении температуры.

На выходе из колонки устанавливается детектор. В случае ВЭЖХ наибольшее распространение получил спектрофотометрический детектор в УФ-области, поскольку многие органические соединения поглощают свет в этом диапазоне длин волн (следовательно, они могут быть обнаружены данным способом детектирования). Иногда для краткости его называют УФ детектор. Кроме того, такой способ регистрации сигнала характеризуется малой чувствительностью к изменению температуры и скорости подвижной фазы.

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием жидкостного хроматографа "Стайер" со спектрофотометрическим детектором, внешний вид которого представлен на рис. 4.3.2. Подготовка прибора к работе осуществляется инженерами и не входит в данный курс. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Установка необходимой хроматографической колонки (осуществляет инженер).
- Включение прибора и управляющего программного обеспечения (осуществляет инженер).
- Настройка параметров проведения измерений.
- Запуск прибора, выход на стабильный режим работы.
- Последовательные промывка дозирующей петли (рис. 4.3.3), ввод стандартных и анализируемых растворов, регистрация хроматограмм.
- Расшифровка получаемых хроматограмм, идентификация пиков, расчет аналитического сигнала.
- Построение по полученным данным градуировочных зависимостей для каждого определяемого вещества. Проверка метрологических характеристик полученных

зависимостей (угла наклона, кривизны, сходимости результатов). В случае существенного отклонения точек следует повторить процедуру подачи растворов в хроматограф, если вновь получен неудовлетворительный результат, следует повторить процедуру приготовления градуировочных растворов.

- Получение результатов для всех определяемых веществ по построенным градуировочным зависимостям. В случае, если регистрируемый аналитический сигнал выходит за диапазон градуировочного графика сверху, пробу следует разбавить и повторить измерения.
- Создание отчета экспериментальных данных.
- Выключение прибора (осуществляет инженер или преподаватель).

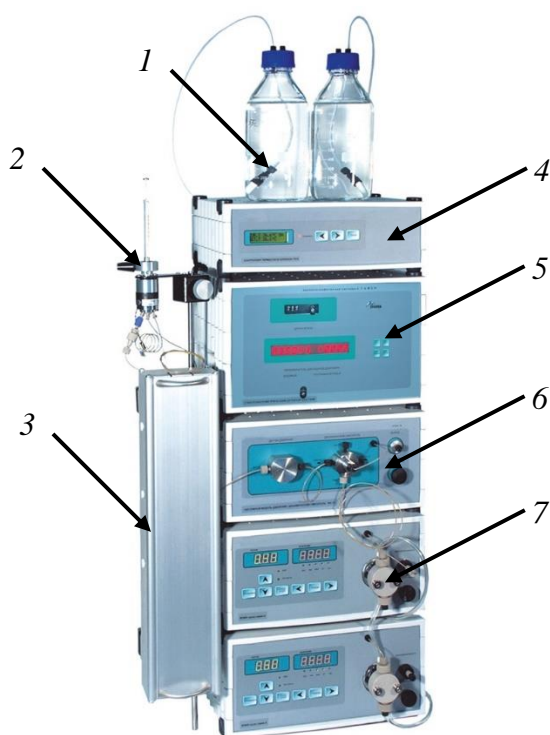


Рисунок 4.3.2. Внешний вид жидкостного хроматографа Стайер: 1 – емкости с элюентами, 2 – дозирующая петля, 3 – термостатируемый блок с хроматографической колонкой внутри, 4 – блок управления термостатом, 5 – блок управления детектором, 6 – блок смесителей, 7 – блоки управления насосами

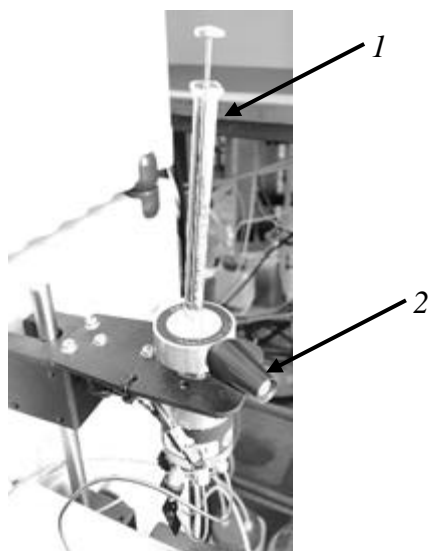


Рисунок 4.3.3. Внешний вид крана-дозатора со вставленным микрошприцом, 1 – микрошприц, введенный в петлю, 2 – ручка изменения положения петли

4.4. Программное обеспечение для обработки хроматограмм «МультиХром»

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием жидкостного хроматографа "Стайер", регистрация и обработка хроматографических данных производится в программном обеспечении «МультиХром», вид рабочего окна которого представлен на рис. 4.4.1. При запуске программы отображается только панель инструментов (1 на рис. 4.4.1) и окно общих настроек хроматографа (2 на рис. 4.4.1). Остальные окна, в частности, состояния хроматографа (3 на рис. 4.4.1), управления детектором (4 на рис. 4.4.1), управления насосами (5 на рис. 4.4.1) открываются при нажатии левой кнопкой мыши на соответствующие изображения частей хроматографа в окне общих настроек (2 на рис. 4.4.1).

Подготовка к работе

Перед регистрацией хроматограмм необходимо выбрать общие настройки анализа (если они были созданы ранее), для чего на панели инструментов (1 на рис. 4.4.1) нужно последовательно выбрать «Файл», «Открыть», «Системы...». После этого появится окно с перечнем уже созданных настроек анализа, в котором нужно выбрать необходимые условия. Далее необходимо установить подключение к хроматографу, для чего на панели инструментов окна общих настроек хроматографа (2 на рис. 4.4.1) нужно последовательно выбрать «Управление», «Подключиться».



Рисунок 4.4.1. Внешний вид рабочего окна программы «МультиХром»: 1 – панель инструментов, 2 – окно общих настроек хроматографа, 3 – окно состояния хроматографа, 4 – окно управления детектором, 5 – окно управления насосами, 6 – кнопка создания простого отчета, 7 – кнопка остановки регистрации хроматограммы, 8 – кнопка увеличения продолжительности регистрации хроматограммы на 2 мин, 9 – кнопка перехода к количественному анализу, 10 – кнопка перехода к ручному режиму ручного расчета аналитического сигнала

Затем нужно выставить рабочую температуру, данная операция выполняется с помощью кнопок на самом хроматографе (рис. 4.2.2). Далее следует включить насосы подачи элюента, для чего сначала нужно нажать на изображение блока насосов в окне общих настроек (2 на рис. 4.4.1), в результате появится окно управления насосами (5 на рис. 4.4.1). В случае, если используется двухкомпонентный элюент, в ячейке «%В» необходимо задать процентное отношение второго компонента. Далее нужно выставить скорость потока элюента (с помощью ячейки «новый поток, мл/мин») и отказаться от автоматического отключения потока элюента по прошествии определенного времени (выставив 0 в ячейке «Останов через, мин»). Затем необходимо сохранить настройки, нажав на кнопку «Задать», и запустить насосы с помощью кнопки «Запуск». После этого насосы начнут работу, подтверждением чего будет являться световая индикация на блоке насосов на самом хроматографе (рис. 4.2.2).

Далее производится настройка детектора, для чего нужно нажать на изображение детектора в окне общих настроек (2 на рис. 4.4.1), в результате появится окно управления детектором (4 на рис. 4.4.1). Нажатием на кнопку «Вкл.» производится запуск детектора, после чего в ячейке «Дл. волны» нужно ввести рабочую длину волны и нажать на кнопку «Уст.» для ее установки.

После выхода на рабочую температуру (значение которой отображается на самом хроматографе (рис. 4.3.2)) и прогрева лампы детектора необходимо убедиться в чистоте хроматографической колонки и постоянстве базовой линии. Для этого на панели инструментов окна общих настроек хроматографа (2 на рис. 4.4.1) нужно последовательно выбрать «Управление» и «Запустить оборудование (мерить базу)». В результате появится окно, в котором в реальном времени будет фиксироваться текущая хроматограмма. Хроматограф считается готовым к работе, если в течение 15 минут аналитический сигнал имеет постоянное значение. В этом случае следует обнулить фоновое значение сигнала, нажав на кнопку «Ноль» в окне управления детектором (4 на рис. 4.4.1).

Регистрация хроматограммы

Перед регистрацией хроматограммы необходимо промыть дозирующую петлю (рис. 4.3.3). Для этого ручка петли переводится в положение «load», затем в петлю с помощью микрошприца вводится раствор пробы (в начале работы, а также после регистрации сигнала градуировочных растворов рекомендуется сначала промыть дозирующую петлю подходящим растворителем). После ввода пробы запрещается вынимать микрошприц.

Далее на панели инструментов окна общих настроек хроматографа (2 на рис. 4.4.1) необходимо выбрать «Старт». В результате появится окно ввода описания образца (рис. 4.4.2). В этом окне в графе «Имя» следует ввести имя пробы: для градуировочных растворов в качестве имени следует использовать концентрацию компонента (например, 0.04 мг/л), для растворов анализируемых проб – название и номер параллельного определения (например, яблоко 1). В графе «Проба» следует ввести тип пробы (градуировочный раствор / холостая проба / анализируемая проба). Остальные графы заполнять нет необходимости. Далее следует закрыть это окно с помощью кнопки «Ок».

В результате будет отображено окно записи хроматограммы. Начало регистрации начинается сразу после перевода ручки дозирующей петли в положение «inject», подтверждением чего является появление синего фона в окне записи хроматограммы. По окончании времени регистрации запись хроматограммы автоматически остановится. Принудительную остановку можно сделать с помощью кнопки остановки (7 на рис. 4.4.1).

При необходимости можно увеличить продолжительность регистрации хроматограммы на 2 минуты с помощью кнопки увеличения времени (8 на рис. 4.4.1), нажимать на эту кнопку можно несколько раз.

После завершения регистрации каждой хроматограммы вновь будет появляться окно ввода описания образца (рис. 4.4.2) для следующей пробы. Естественно, что запускать новое измерение следует только после промывки дозирующей петли и ее наполнения новой пробой, ручка петли при этом должна находиться в положении «load». Окна с изображением всех уже записанных хроматограмм автоматически не закрываются, но они могут налагаться друг на друга. В случае, если зарегистрированы все необходимые хроматограммы, появляющееся окно следует просто закрыть.

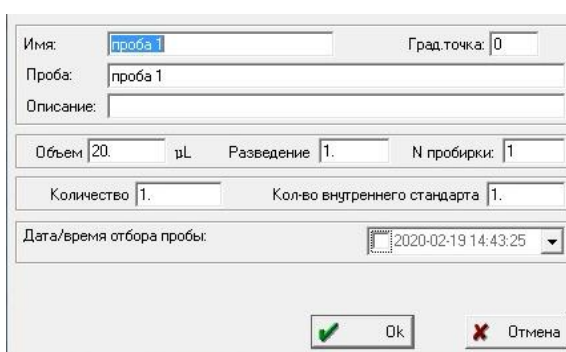


Рисунок 4.4.2. Внешний вид окна ввода описания образца

Расчет аналитического сигнала

После регистрации хроматограммы программное обеспечение в автоматическом режиме на основе встроенных алгоритмов осуществляет поиск хроматографических пиков, установление их границ и проведение базовой линии для расчета площади. Но не всегда эта процедура выполняется корректно, поэтому есть необходимость в ее уточнении. Для этого при активном окне хроматограммы следует нажать на кнопку перехода к режиму ручного расчета аналитического сигнала (10 на рис. 4.4.1), после чего станут активны дополнительные кнопки, как показано на рис. 4.4.3.

Чтобы исправить положение максимума пика, нужно нажать на него на хроматограмме правой кнопкой мыши, затем нажать на кнопку максимума пика (2 на рис. 4.4.3). После этого выделенный пик окрасится в черный цвет, если произошло окрашивание другого пика, описанную операцию нужно повторить. Далее следует правой кнопкой мыши установить курсор в то положение, в котором должен быть максимум пика, и нажать на кнопку переноса положения (4 на рис. 4.4.3). В случае, если новое положение было установлено ошибочно, можно вернуться к предыдущему варианту с помощью

кнопки отмены действия (6 на рис. 4.4.3). Аналогичным образом поступают при необходимости изменения положения левой или правой границы пика (используя кнопки 1 или 3 и 4 на рис. 4.4.3).

Для увеличения хроматограммы можно выделить желаемую область левой кнопкой мыши. При необходимости изменения границ пика следует работать по аналогичному алгоритму, используя на первом этапе кнопку левой или правой границы (1 или 3 на рис. 4.4.3 соответственно). При необходимости добавления нового пика, который не был автоматически распознан программным обеспечением, следует нажать на него правой кнопкой мыши и нажать на кнопку добавления пика (5 на рис. 4.4.3). По окончании внесения всех изменений следует выйти из режима ручного расчета (с помощью кнопки 7 на рис. 4.4.3).

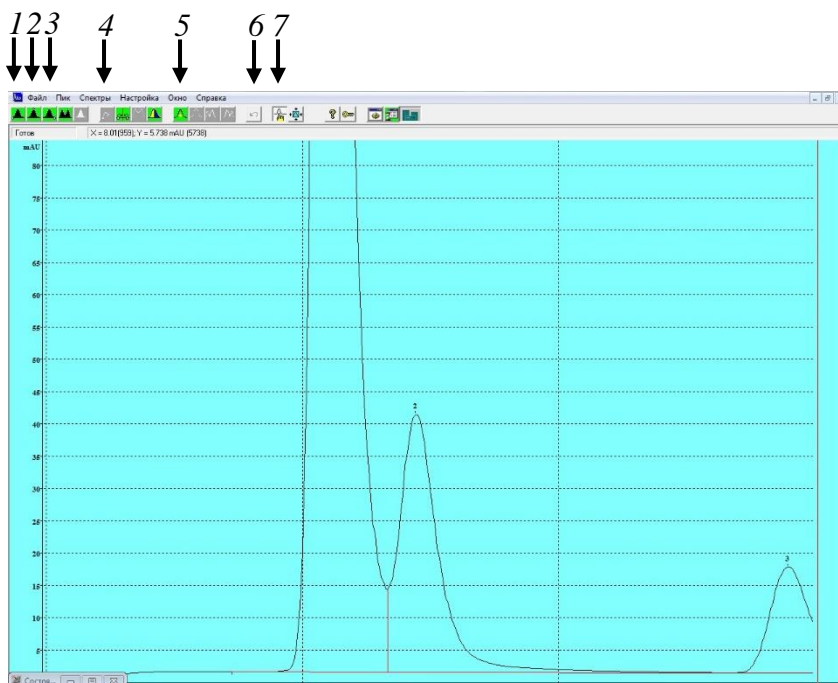


Рисунок 4.4.3. Окно хроматограммы в режиме ручного расчета аналитического сигнала:

1 – кнопка левой границы пика, 2 – кнопка максимума пика, 3 – кнопка правой границы пика, 4 – кнопка переноса положения в выделенную точку, 5 – кнопка добавления пика, 6 – кнопка отмена последнего действия, 7 – кнопка выхода из режима ручного расчета аналитического сигнала

Построение градуировочных графиков

Приступать к построению градуировочных зависимостей следует только после корректировки расчета аналитического сигнала, при этом можно приступать к работе после регистрации хроматограммы первого градуировочного раствора (не дожидаясь регистрации всех проб). При активном окне хроматограммы следует нажать на кнопку

перехода к количественному анализу (10 на рис. 4.4.1), после чего под хроматограммой появятся комментарии к пикам, как это показано на рис. 4.4.4.

Изначально комментарии получают при использовании методики, по которой ранее выполнялась работа на хроматографе. Но поскольку времена удерживания зависят от условий проведения конкретного эксперимента, эти комментарии могут быть неактуальными, из-за чего их следует удалить с помощью кнопки «Удалить» (рис. 4.4.4). Затем необходимо добавить все идентифицированные пики в таблицу анализа, последовательно нажимая кнопку «Добавить». Далее в столбце «Имя» необходимо ввести названия веществ, которым соответствуют пики, ориентируясь на их порядок, реальные времена удерживания (представлены в столбце «Время») и теоретические времена. Следует иметь в виду, что точное соответствие теоретических и реальных времен выполняется не всегда.

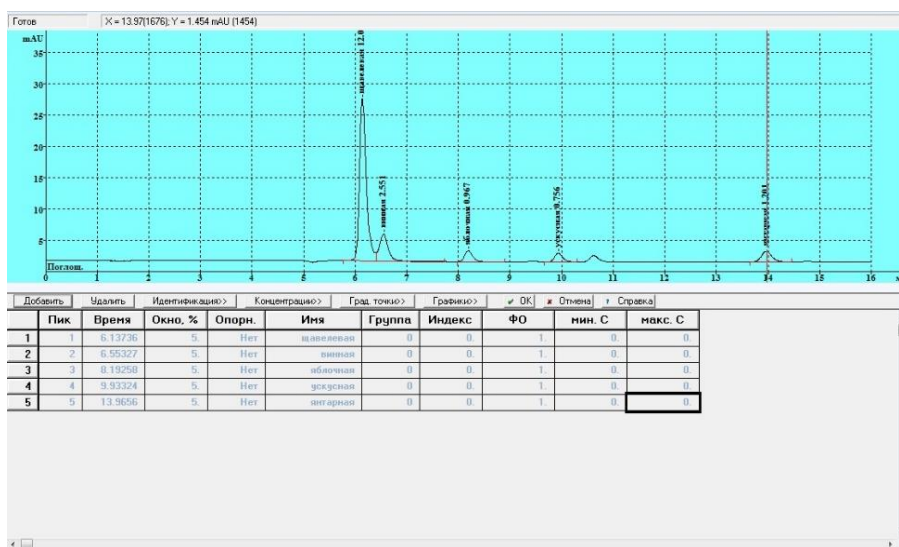


Рисунок 4.4.4. Окно хроматограммы в режиме количественного анализа

После добавления в таблицу всех пиков и их идентификации следует перейти к вводу концентрации компонентов в градуировочном растворе, нажав на кнопку «Концентрации». В результате появится окно таблицы концентраций (рис. 4.4.5). При наличии точек с прошлого анализа их все следует удалить с помощью кнопки «Удалить». Затем следует добавить точку, соответствующую активной хроматограмме. Для этого в окне таблицы концентраций (рис. 4.4.5) нужно нажать на кнопку «Добавить», в результате откроется окно добавления точки (рис. 4.4.6). В этом окне в ячейке «Создание градуировочной точки» следует ввести ее номер (рекомендуется нумеровать точки в порядке увеличения концентрации компонентов). Если концентрации всех веществ в растворе одинаковы, то значение концентрации следует ввести в ячейке «Одинаковые конц. комп-тов».

Единицы концентрации		Тип данных	
мг/мл		концентрации	
	Имя	Эта хр-ма	Точка 1
1	щавелевая	12.0731	2.e-002
2	винная	2.55109	2.e-002
3	яблочная	0.966812	2.e-002
4	ускусная	0.755953	2.e-002
5	янтгарная	1.20078	2.e-002

Точки

ОК
 Отмена

Рисунок 4.4.5. Окно таблицы концентраций

Создание градуировочной точки:

Одинаковые конц. всех комп-тов

Взять концентрации с точки

Градуировать сразу

ОК
 Отмена

Рисунок 4.4.6. Окно добавления точки градуировочного графика

После ввода данных для первой градуировочной точки следует сохранить хроматограмму и обновить методику анализа. Для этого на панели инструментов основного рабочего окна (1 на рис. 4.4.1) следует последовательно выбрать «Метод», «Градуировка», «Записать в метод» и согласиться с внесением изменений.

Далее выбирается хроматограмма следующего градуировочного раствора. Чтобы применить к ней уже внесенные изменения, следует на панели инструментов основного рабочего окна (1 на рис. 4.4.1) последовательно выбрать «Метод», «Градуировка», «Прочитать из метода» и согласиться с внесением изменений. Затем после нажатия на кнопку перехода к количественному анализу (10 на рис. 4.4.1) под хроматограммой появятся комментарии к пикам на основе внесенных изменений (аналогично рис. 4.4.4). Если в процессе работы наблюдается некоторое смещение пиков на хроматограмме по времени (что может иметь место, когда начинается работа на приборе, который не вышел на стабильный режим), то эти пики могут быть идентифицированы некорректно. В этом случае в столбце «Окно, %» следует увеличить значение допустимого относительного отклонения времени удерживания. Когда все пики будут идентифицированы корректно, следует добавить новую точку для градуировочного графика.

После обработки всех хроматограмм градуировочных растворов и добавления всех соответствующих точек можно увидеть полученные хроматограммы. Для этого в окне

хроматограммы в режиме количественного анализа следует нажать на кнопку «Графики», после чего откроется окно градуировочного графика. В этом окне отображается только один график для какого-то одного вещества. Для перехода к другому веществу следует нажать на стрелку рядом с его названием. При наблюдении за градуировочными графиками следует сделать заключение о корректности их построения. В случае, если какая-либо точка выбивается из зависимости, необходимо сначала проверить правильность введенной для нее концентрации. Если причина ошибки была не в этом, следует удалить выпадающую точку и повторно зарегистрировать хроматограмму соответствующего раствора. Если после этих операций не получен корректный график, соответствующий раствор нужно приготовить заново и повторить измерение.

Обработка результатов анализа

После регистрации хроматограммы анализируемой пробы для нее следует сначала провести расчет аналитического сигнала, затем применить изменения методики анализа и перейти в режим количественного анализа. В этом окне (рис. 4.4.4) над пиками веществ будут отображены их концентрации в тех единицах измерения, в которых строились градуировочные графики. Если какой-либо пик идентифицирован некорректно, также следует увеличить значение допускаемого относительного отклонения времени удерживания в столбце «Окно, %».

Экспорт данных в сторонние программы

По окончании анализа можно осуществить экспорт информации. Для этого следует выбрать одну из хроматограмм и нажать на кнопку создания простого отчета (6 на рис. 4.4.1). В результате появится окно настройки отчета (рис. 4.4.7). В этом окне в левой части следует оставить галочки напротив тех пунктов, которые необходимо включить в отчет. Затем следует нажать на кнопку «Столбцы» и в появившемся окне выбрать пункты, информацию о которых следует включить в отчет. Далее необходимо поставить галочку в ячейке «Файл» (в верхней области на рис. 4.4.7), ввести в ячейке «Имя» (в нижней области на рис. 4.4.7) имя файла, соответствующее имени пробы. По умолчанию файлы будут сохраняться на рабочий стол, при необходимости расположение можно поменять с помощью кнопки «Просмотр».

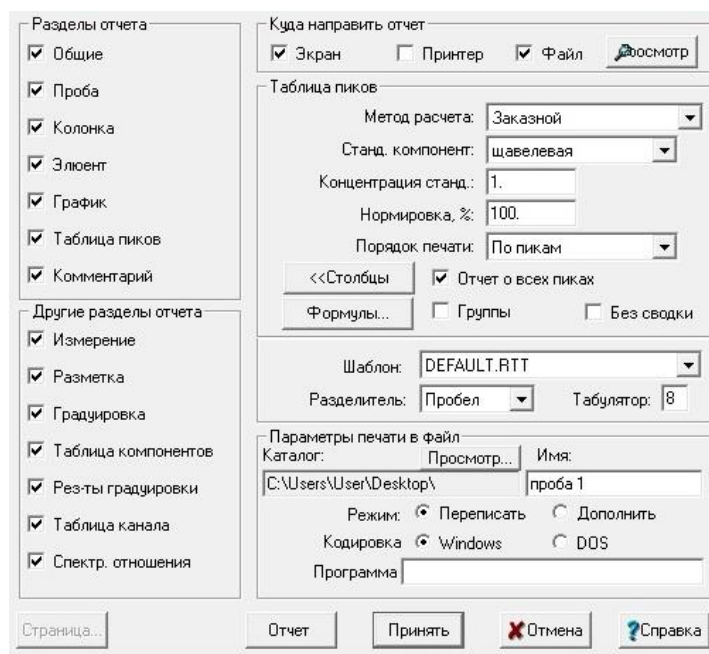


Рисунок 4.4.7. Окно настройки отчета

По окончании ввода всех настроек следует нажать на кнопку «Принять». В результате должно появиться два файла: текстовый со всей информацией и графический с изображением хроматограммы. Аналогичным образом можно последовательно извлечь информацию обо всех зарегистрированных хроматограммах.

4.5. Подготовка образцов

Содержание эссенциальных (жизненно необходимых) и токсичных веществ в организме животных и человека прежде всего зависит от их поступления извне, т.е. с пищей, водой и воздухом. При этом пища, в том числе растительная, является основным источником поступления эссенциальных компонентов. Различные растения накапливают разное количество питательных веществ. Кроме этого, содержание компонентов в одних и тех же объектах, но выращенных в различных районах, также может различаться. Практически во всех растительных продуктах содержатся органические кислоты или их кислые и средние соли. В пищевые продукты кислоты переходят из сырья, кроме того их часто добавляют в процессе производства (или они образуются при брожении). Кислоты придают продуктам специфический вкус и способствуют их лучшему усвоению. В растительных продуктах чаще всего встречаются яблочная, лимонная, винная, щавелевая, пировиноградная, молочная кислоты. Благодаря наличию свободных кислот и кислых солей многие продукты и их водные вытяжки обладают кислой реакцией. Кислотность имеет большое значение для оценки качества пищевых продуктов. Повышенная кислотность может свидетельствовать о нарушениях технологического процесса

производства и хранения. По количеству летучих кислот (уксусная, муравьиная, масляная и др.) можно судить о качестве таких продуктов, как плодово-ягодные и овощные соки, пюре.

Муравьиная кислота содержится в небольших количествах в малине, черешне, обладает сильными антисептическими свойствами. D-яблочная кислота распространена в растениях, особенно в плодах; она отсутствует только в цитрусовых и клюкве. D-винная кислота находится в растениях преимущественно в виде кислой соли К, называемой винным камнем, в основном кислота и ее соли содержатся в винограде в количестве 0.3- 1.7%. Молочная кислота также широко распространена в пищевых продуктах, в малых количествах она благоприятно влияет на их качество и не раздражает слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Щавелевая кислота встречается в щавеле, шпинате, ревене и других растениях, находится обычно в виде средних и кислых солей Са и К. Янтарная кислота содержится во многих плодах и овощах, особенно ее много в недозрелых крыжовнике, вишне, винограде, красной смородине, свекле. Лимонная кислота очень распространена в растениях, особенно в плодах, в цитрусовых содержится только лимонная кислота, например, в лимонах ее до 8%. По сравнению с другими кислотами лимонная отличается мягким, приятным кислым вкусом, не оказывает раздражающего действия на слизистые оболочки. Бензойная кислота встречается в бруснике и клюкве в свободном и связанном состоянии (в виде гликозида вакциниина): в бруснике количество свободной кислоты составляет 0.05-0.15%, а в клюкве – 0.01-0.4%. Бензойная кислота обладает антисептическими свойствами, поэтому ягоды хорошо сохраняются в свежем виде. Салициловая кислота встречается в незначительных количествах в ягодах малины, земляники, в еще меньших количествах — в винограде, вишне, смородине и др. Так, в 1 л сока малины содержание салициловой кислоты составляет 1.1 мг, а в 1 л сока земляники — 2.8 мг. Эта кислота представляет собой сильный консервант, но очень раздражает слизистую оболочку.

Биообъекты, в том числе пищевые продукты, имеют сложную матрицу, состоящую из органической и неорганической компонент. В них возможно наличие самых разных веществ в разных формах, концентрации могут быть очень низкими и меняться в зависимости от большого числа факторов. Пробоподготовка биологических объектов, по возможности, начинается с измельчения и гомогенизации. Для этого часто используется классическое растирание в ступке. Перед пробоподготовкой (отбором навески) аналитическую пробу рекомендуется перемешать для устранения неравномерности распределения частиц по объему.

Многие вещества в природных объектах находятся в связанной форме, поэтому перед анализом необходимо проводить пробоподготовку. В отличие от неорганического анализа минерализация образцов не используется при определении органических компонентов, поскольку в этом случае вещества будут разрушаться на стадии пробоподготовки. Оптимальным способом пробоподготовки является жидкостная экстракция, т.е. извлечение определяемых веществ из образца в жидкую фазу. Для интенсификации данного процесса широко применяется УЗ-воздействие.

В данном практическом курсе работы выполняются с использованием УЗ-ванны «Сапфир», внешний вид которой представлен на рис. 4.4.1. Подготовка прибора к работе осуществляется самостоятельно. Ход работы включает в себя описанные ниже действия (выполняемые в присутствии преподавателя или инженера).

- Установка емкостей с пробой и экстрагентом в УЗ-ванну на специальную решетку (1 на рис. 4.4.1). Емкости рекомендуется закрепить на решетке, чтобы предотвратить их свободное перемещение.
- Добавление или удаление воды из емкости УЗ-ванны (2 на рис. 4.4.1) так, чтобы уровень воды был несколько выше уровня растворов в рабочих емкостях.
- Настройка времени УЗ-воздействия (с помощью кнопок 3 на рис. 4.4.1) и, при необходимости, температуры воды (4 на рис. 4.4.1).
- Запуск УЗ-генератора. По окончании времени УЗ выключится автоматически.
- Вынимание емкостей с пробами по окончании процесса экстракции, выключение УЗ-ванны.



Рисунок 4.4.1. Внешний вид УЗ-ванны: 1 – решетка для установки емкостей с пробами, 2 – емкость УЗ-ванны, 3 – кнопки настройки продолжительности УЗ-воздействия, 4 – кнопки настройки температуры раствора в емкости ванны

**4.6. Лабораторная работа «Определение органических кислот в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии»
на основе М-02-3001-14 и ГОСТ 32771-2014**

Цель работы: знакомство с методологией количественного хроматографического анализа, получение практических навыков извлечения органических веществ из растений, приобретение опыта работы с высокоэффективным жидкостным хроматографом, изучение основ количественного анализа реальных объектов.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- образец растений (фруктов), 100 г
- стандартный раствор органических кислот (щавелевой, винной, яблочной, молочной, уксусной, лимонной, янтарной) с концентрацией 8 мг/мл, 50 мл
- раствор подвижной фазы (смесь фосфатного буфера и ацетонитрила), 1 л
- моющая смесь (смесь HCl и H₂O₂), 50 мл
- HNO₃ (1:100), 3 л
- колба мерная вместимостью 10 мл 2 кл, 5 шт
- набор автоматических дозаторов с одноразовыми наконечниками и мерных пипеток для приготовления растворов
- стакан химический вместимостью 20 мл, 1 шт
- нож из нержавеющей стали, 1 шт
- бумага фильтровальная в листах, 1 шт
- ступка фарфоровая № 4 (d = 110 см) с пестом, 1 шт
- шпатель стеклянный для отбора навесок, 2 шт
- стакан химический вместимостью 50 мл, 4 шт
- цилиндр мерный вместимостью 25 мл, 1 шт
- колба мерная вместимостью 25 мл 2 кл, 4 шт
- воронка лабораторная, 4 шт
- стакан химический вместимостью 20 мл, 4 шт
- диск для фильтрации проб с мембранами из нейлона, размер пор 0.45 мкм, 4 шт
- шприц для фильтрационного диска, 4 шт
- виалы для хранения проб вместимостью 2 мл, 4 шт
- микрошприц хроматографический вместимостью 100 мкл, 1 шт
- весы аналитические Ohaus Pioneer PA 214, 1 шт
- ванна ультразвуковая Сапфир, 1 шт

- хроматограф жидкостной Стайер, 1 шт
- колонка хроматографическая, заполненной силикагелем, химически связанным с октадецилсиланом (C₁₈), 1 шт

Ход работы:

- Разработать схему приготовления 5 градуировочных растворов, содержащих органические кислоты в диапазоне 0.02–2 г/л, в мерных колбах вместимостью 10 мл (с учетом имеющихся в наличии пипеток и дозаторов для взятия аликвот). В качестве основы растворов использовать деионизированную воду. Представить преподавателю схему приготовления растворов.
- Приготовить описанные выше градуировочные растворы (головной раствор запрещено отбирать из исходной емкости).
- Анализируемый образец с помощью стального ножа очистить от неупотребляемых в пищу частей (кожицы и сердцевины), нарезать на мелкие кусочки (размером не более 0.5 см).
- Подготовленный образец тщательно измельчить в фарфоровой ступке до однородной консистенции (видимые крупные куски образца должны отсутствовать). Сначала рекомендуется аккуратно раздавить пестиком кусочки образца, после чего производить перетирание.
- Отобрать на аналитических весах три навески пробы массой ≈ 1 г (записать массу с точностью до 4-х значащих цифр) и перенести каждую из них в химический стакан вместимостью 50 мл.
- В каждый стакан с помощью цилиндра добавить 15 мл деионизированной воды. Дополнительно следует подготовить холостую пробу.
- Все стаканы поместить в УЗ-ванну, довести уровень воды в ванной выше уровня жидкости в стаканах. Включить УЗ и проводить извлечение определяемых веществ в раствор в течение 30 минут. Во время извлечения можно выполнять следующие шаги работы, например, построение градуировочной зависимости.
- Надосадочную жидкость из стаканов методом декантации перенести в мерные колбы вместимостью 25 мл. Трижды обмыть небольшими порциями деионизированной воды содержимое стаканов, промытые воды методом декантации присоединить к соответствующим растворам, довести объем в колбах до метки деионизированной водой.
- Небольшую порцию ≈ 5 мл каждого раствора перенести в химические стаканы вместимостью 20 мл (предварительно ополоснув стаканы соответствующими растворами). Небольшую порцию каждого отобранного раствора ≈ 2 мл профильтровать с помощью шприца через нейлоновый мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм, собирая

фильтрат в виалы (первые порции фильтрата отбрасываются) для удаления мелких частиц твердой пробы. Полученные фильтраты готовы для ввода в хроматограф.

- Подготовить хроматограф к работе. Проверить правильность установки хроматографической колонки и подключения подвижной фазы. В программном обеспечении установить рабочие параметры согласно табл. 4.5.1. Убедиться в выходе хроматографа на рабочий режим и установлении базовой линии.
- Промыть микрошприц деионизированной водой не менее 5 раз. Трижды промыть дозирующую петлю (петля при этом должна находиться в положении «load»).
- Промыть микрошприц градуировочным раствором с наименьшей концентрацией не менее 5 раз. Трижды промыть дозирующую петлю (петля при этом должна находиться в положении «load»).
- Ввести с помощью микрошприца в дозирующую петлю градуировочный раствор с наименьшей концентрацией (петля при этом должна находиться в положении «load»). Подготовить хроматограф к измерению, начать измерение поворотом ручки дозирующей петли в положение «inject» (возвращать дозирующую петлю в положение «load» и вынимать микрошприц следует только после появления всех пиков на хроматограмме).
- По аналогичной схеме зарегистрировать хроматограммы всех градуировочных растворов. Для каждого раствора проводить одно измерение. Растворы вводить в хроматограф с помощью микрошприца в порядке возрастания концентраций. Перед использованием микрошприц и дозирующую петлю следует промыть не менее двух раз рабочим раствором, в случае, если растворы используются в порядке увеличения концентрации, в предварительной промывке водой нет необходимости.
- Идентифицировать по временам удерживания пики на полученных хроматограммах (ориентировочные времена удерживания приведены в табл. 4.5.2), рассчитать аналитический сигнал – площадь хроматографического пика. По полученным данным построить градуировочные зависимости для каждой из определяемых кислот.
- Промыть микрошприц деионизированной водой не менее 5 раз. Трижды промыть дозирующую петлю (петля при этом должна находиться в положении «load»).
- Промыть микрошприц холостой пробой не менее 5 раз. Трижды промыть дозирующую петлю (петля при этом должна находиться в положении «load»).
- Ввести с помощью микрошприца в дозирующую петлю холостую пробу (петля при этом должна находиться в положении «load»). Подготовить хроматограф к измерению, начать измерение поворотом ручки дозирующей петли в положение «inject» (возвращать дозирующую петлю в положение «load» и вынимать микрошприц следует после появления всех пиков на хроматограмме).

- По аналогичной схеме зарегистрировать хроматограммы всех анализируемых растворов. Для каждого раствора проводить одно измерение. Растворы вводить в хроматограф с помощью микрошприца. Перед использованием микрошприц и дозирующую петлю следует промыть не менее двух раз анализируемым раствором.
- Идентифицировать по временам удерживания пики на полученных хроматограммах, рассчитать аналитический сигнал – площадь хроматографического пика. С помощью построенной ранее градуировочной зависимости определить содержание органических кислот в анализируемых растворах.
- Сформировать отчет данных (со всеми необходимыми значениями).
- Произвести пересчет полученных концентраций на содержание компонентов в исходном образце (% масс) с указанием доверительного интервала.
- Сравнить полученные значения с литературными данными и нормативными показателями (которые следует найти самостоятельно), оценить образец с точки зрения определяемого компонента.
- Вымыть всю используемую посуду, сдать рабочее место преподавателю.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- блок-схему хроматографа с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- описание возможных матричных влияний/помех и используемых способов их устранения;
- перечень всех определяемых веществ, ожидаемые и экспериментально полученные времена удерживания;
- экспериментальные данные аналитических сигналов для стандартных и каждого из анализируемых растворов (в т.ч. холостых проб);
- хроматограммы анализируемых растворов в графическом виде;
- крупномасштабные градуировочные графики отдельно для каждого компонента; в случае, если для количественного анализа использовалась градуировочная зависимость не во всем диапазоне концентраций, необходимо приведение двух графиков – исходного и рабочего, с объяснением причин выбора;
- характеристики градуировочных графиков: уравнение, рабочий диапазон концентраций;
- результаты количественного анализа (для каждого анализируемого раствора и среднее значение) с указанием доверительного интервала (полученного после поиска и исключения выбросов);

- сравнение полученных результатов с литературными данными (которые необходимо найти самостоятельно путем анализа монографий и научных статей) для исследуемого типа образца.

Итоговые результаты должны содержать средние значения концентраций определяемых аналитов (с указанием доверительного интервала) в исследуемом образце (% масс).

Таблица 4.5.1. Рабочие параметры хроматографа

параметр	величина
температура термостата колонки, °С	30
режим элюирования	изократический
состав элюента (подвижной фазы)	98% (0,1% H ₃ PO ₄ + 10 мМ KH ₂ PO ₄) 2% ацетонитрил
скорость потока элюента, мл/мин	0.5
продолжительность регистрации хроматограмм градуировочных растворов, мин	16
продолжительность регистрации хроматограмм анализируемых растворов, мин	20
объем вводимой дозы, мкл	20
длина волны детектирования, нм	210

Таблица 4.5.2. Ориентировочные времена удерживания определяемых органическим кислот при проведении анализа по предлагаемой методике

определяемая кислота	время удерживания, мин
щавелевая	6.0
винная	6.4
яблочная	7.6
молочная	9.2
уксусная	9.8
лимонная	11.9
янтарная	14.8

Видеодемонстрация некоторых этапов выполнения работы

представлена по ссылке:

<https://youtu.be/hu3mAvaj-Jk>



4.7. Газовая хроматография

Одним из наиболее эффективных методов определения летучих органических веществ является газовая хроматография. При определении веществ с близкими свойствами, например, изомеров органических соединений широко применяется капиллярная газо-жидкостная хроматография. В этом варианте газовой хроматографии используются длинные (от 10 м до 100 м) тонкие (от 0.2 до 0.6 мм) трубки (капилляры), в которых стационарная нелетучая жидкая фаза нанесена на внутренние стенки капилляра. В настоящее время наиболее распространенными являются кварцевые капиллярные колонки, которые, с одной стороны достаточно инертны, а с другой - не так хрупки, как стеклянные. При анализе жидкостей определенный объем (обычно несколько микролитров) пробы отбирается в микрошприц и с его помощью вводится в хроматограф через специальное обогреваемое устройство (испаритель). В испарителе происходит превращение жидкой пробы в пар. Парообразная проба в потоке газа-носителя поступает к хроматографическую колонку, где происходит разделение содержащихся в пробе компонентов. Разделенные зоны компонентов, которые с различной скоростью перемещаются по колонке, поступают в детектор и регистрируются последним в виде пиков. Наиболее популярным детектором в газовой хроматографии является пламенно-ионизационный детектор. В этом детекторе источником ионизации, обеспечивающим возникновение ионизационного тока, служит водородное пламя, в котором происходят процессы термической деструкции и хемионизации молекул органических соединений с образованием носителей электрического заряда: свободных электронов и ионов гидроксония, которые под действием приложенной разности потенциалов движутся к соответствующим электродам.

В газо-жидкостной хроматографии порядок выхода изомеров органических соединений из колонки с неполярной жидкой фазой определяется их температурами кипения – чем выше температура кипения изомера, тем сильнее он удерживается и позже выходит из колонки. В случае полярных фаз имеют значение также дипольные моменты молекул разделяемых веществ и их способность к донорно-акцепторному взаимодействию.

Площадь и высота пиков на полученной хроматограмме, которые выступают в качестве аналитического сигнала, пропорциональны концентрации компонентов в пробе. В хроматографии взаимосвязь между параметрами пиков и концентрацией определяемых веществ в пробе довольно часто отражает прямая линия, проходящая через начало координат. Установление этой взаимосвязи проводят на стадии градуировки.

При проведении любого хроматографического анализа необходим этап идентификации определяемых веществ, который состоит в соотнесении пиков на хроматограмме с тем или иным определяемым веществом. Если аналитик имеет в своем

распоряжении определяемые вещества, то эта задача решается относительно просто. В хроматограф по отдельности вводят все определяемые вещества и регистрируют их времена удерживания. Затем в хроматограф дозируют анализируемую пробу и при тех же условиях регистрируют времена удерживания компонентов, присутствующих в пробе. Сопоставляя времена удерживания компонентов в пробе и чистых компонентов, проводят их идентификацию, то есть соотносят тот или иной пик на полученной хроматограмме с тем или иным компонентом. Если же определяемых веществ в распоряжении аналитика нет, то необходимо знать последовательность выхода компонентов при использовании данной стационарной фазы.

4.8. Лабораторная работа «Определение бутиловых спиртов в водных растворах методом газо-жидкостной хроматографии»

Цель работы: знакомство с методологией качественного и количественного газохроматографического анализа, получение практических навыков работы с газовым хроматографом.

Используемые реактивы, посуда, вспомогательные приспособления, оборудование, справочные данные:

- растворы *трет*-бутилового, *втор*-бутилового, изобутилового и *н*-бутилового спиртов в воде с концентрациями спиртов 100 мг/л
- градуировочные растворы смеси бутиловых спиртов с концентрациями компонентов 40 мг/л, 100 мг/л и 200 мг/л
- лабораторный газовый хроматограф Хроматэк Кристалл 5000.2 с пламенно-ионизационным детектором
- микрошприц
- кварцевая капиллярная колонка длиной не менее 10 м с неполярной (полиметилсилоксановой) стационарной жидкой фазой, например, ВРХ-1

Режим анализа: температура испарителя – 130°C, температура детектора – 200°C, расход водорода – 20 мл/мин, расход воздуха – 200 мл/мин, температура термостата колонок – 60°C, поток газа-носителя (азота) – 5-6 мл/мин, деление потока – 1/3. Режимы могут быть скорректированы преподавателем или ведущим специалистом Ресурсного центра.

Ход работы:

Знакомство студентов с устройством хроматографа и вспомогательного оборудования

Перед проведением градуировки студенты в присутствии преподавателя или инженера РЦ знакомятся с устройством микрошприца и овладевают техникой дозирования

жидких проб в испаритель газового хроматографа. При выполнении лабораторной работы необходимо выполнять следующие правила:

- Перед введением пробы в испаритель хроматографа необходимо, чтобы на панели хроматографа светился зеленый индикатор «Готовность».
- При смене анализируемого раствора шприц не менее 5 раз промывают раствором, который собираются вводить.
- Перед введением пробы в испаритель хроматографа необходимо тщательно протереть иглу микрошприца кусочком фильтровальной бумаги.

Идентификация бутиловых спиртов

- В испаритель газового хроматографа вводят 0.5 мкл раствора *трет*-бутилового спирта, немедленно после дозирования нажимая на кнопку «Старт/Стоп» на панели хроматографа. После нажатия этой кнопки начинается запись хроматограммы, отображаемая на мониторе компьютера. Если этого не происходит, нажимают стрелку → (вправо) на верхней панели инструментов.
- В открывающемся автоматически паспорте хроматограммы на вкладке «Проба» в поле «Название пробы» пишут «трет-бутиловый», после чего паспорт закрывают, нажав кнопку «Закрыть».
- Запись хроматограммы завершается автоматически по истечении заданного в программе интервала времени (2–3 минуты). Запись хроматограммы можно остановить, нажав кнопку «Старт/Стоп».
- По завершении записи хроматограммы автоматически происходит разметка всех пиков, и рассчитываются параметры пиков: время выхода (удерживания), площадь пика и высота.
- Фиксируют в рабочей тетради время выхода пика *трет*-бутилового спирта, которое в дальнейшем будут использовать для идентификации этого спирта.
- Аналогично проводят измерение времени выхода (удерживания) пиков *втор*-бутилового, *изобутилового* и *н*-бутилового спирта, по которым в дальнейшем будут проводить идентификацию этих веществ.
- На хроматограмме бутиловые спирты выходят в порядке увеличения температур кипения: *трет*-бутиловый ($T_{\text{кип}} = 82.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$), *втор*-бутиловый ($T_{\text{кип}} = 100 \text{ }^{\circ}\text{C}$), *изобутиловый* ($T_{\text{кип}} = 108 \text{ }^{\circ}\text{C}$), *н*-бутиловый ($T_{\text{кип}} = 117.7 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Вода на неполярных стационарных фазах удерживается гораздо слабее любого бутилового спирта и практически не регистрируется пламенно-ионизационным детектором.

Проведение градуировки

- Процедура градуировки состоит из двух этапов: получения хроматограмм градуировочных растворов и построения градуировочных зависимостей. Первый этап начинают с дозирования в испаритель хроматографа 0,5 мкл градуировочного раствора №1 с концентрациями компонентов 40 мг/л, немедленно нажимая после дозирования на кнопку «Старт/Стоп» на панели хроматографа. В открывающемся автоматически паспорте хроматограммы в поле «Название пробы» вносят название пробы, например, «гр. 1, 40 мг/л» паспорт закрывают, нажимая кнопку «Закрыть».
- По окончании записи первой хроматограммы проводят следующие операции. На левой панели нажимают кнопку «Компоненты». На вкладке «Компоненты» в нижнем поле экрана появляется таблица пиков с временами их выхода. В соответствующие строки вносят названия бутиловых спиртов, используя информацию о времени выхода аналитов, полученную на этапе идентификации. Обычно в таблице определяется большее количество пиков, поэтому «ненужные» пики следует удалить. Для этого открывают вкладку на левой панели «Обработка» → «Поиск пиков» → «Интегрирование» и в строке «Мин. высота, мВ» вводят число 20 и нажимают клавишу F9 (расчет), что приводит к исчезновению в таблице пиков, высота которых меньше 10 мВ.
- Повторно вводят в хроматограф и снимают хроматограмму первого градуировочного раствора, заполняя паспорт и используя кнопку «Паспорт как в предыдущей». После завершения записи хроматограммы обрабатывают ее, нажав «Alt + F9» или иконку на верхней панели «Обработать как предыдущую». При этом в таблице «Компоненты» должны регистрироваться пики бутиловых спиртов. Аналогично не менее 2 раз снимают хроматограммы и обрабатывают следующие градуировочные растворы.
- После этого приступают ко второму этапу градуировки: построению градуировочной зависимости. Для этого используя стрелки → и ← на верхней панели инструментов и листая хроматограммы, для каждой хроматограммы градуировочного раствора проводят следующие операции. Открывают паспорт хроматограммы, в графе «Назначение» указывают «Градуировка», закрывают паспорт, открывают таблицу «Компоненты» и указывают концентрации аналитов в данном градуировочном растворе, обязательно заполняя поле «Единицы измерения», а затем выполняют расчет, нажимая на соответствующую кнопку на верхней панели или на клавишу F9. Прделав эти операции для каждого градуировочного раствора, переходят на вкладку «Градуировка» (левая панель) → «Редактирование» (правое поле вверх) и отмечают хроматограммы, полученные при градуировке, нажимая после каждой на стрелку вниз «Добавить». Проверяют внешний вид полученных градуировочных зависимостей, нажав на кнопку

«График» (правое поле сверху) и перемещаясь по таблице компонентов, нажимая на соответствующие строки.

Обратите внимание: Процедура градуировки заканчивается присвоением последней градуировочной хроматограмме статуса «Метода». Для этого открывают последнюю в хронологическом порядке хроматограмму и на верхней панели открывают вкладку «Метод» → «Сохранить как» → Указывают уникальное название метода, например, «Бутиловые спирты в воде, Иванов» и далее → Сохранить.

Определение бутиловых спиртов в растворе задачи

Получают раствор задачи у преподавателя. С помощью микрошприца отбирают 0.5 мкл раствора задачи и вводят его в испаритель хроматографа, незамедлительно нажав на кнопку «Старт». В открывшем окне паспорта хроматограммы в названии указывают «Задача» и свою фамилию. В строке меню «Назначение» указывают «анализ». По окончании записи хроматограммы переходят в меню «Метод» → «Обработать по методу» и указывают название созданного метода.

- Проводят расчет результата параллельного определения, нажав на F9. Во вкладке «Результат» в таблице отображаются идентифицированные бутиловые спирты и их концентрации. Проводят последующие параллельные определения раствора задачи (не менее трех), обрабатывая хроматограммы таким же образом.
- Для того чтобы программа выполнила расчет среднего значения концентрации из n параллельных измерений и стандартного отклонения S , необходимо открыть вкладку «Расчет средних» и в выпадающей таблице отметить необходимые для этого расчета хроматограммы. Проводят по 3 параллельных определения спиртов в растворе задачи.

Отчет должен содержать (помимо общих требований):

- блок-схему хроматографа с обозначением всех элементов и указанием их назначения;
- перечень всех определяемых веществ, полученные времена удерживания;
- экспериментальные данные аналитических сигналов для всех проб;
- крупномасштабные градуировочные графики отдельно для каждого компонента; в случае, если для количественного анализа использовалась градуировочная зависимость не во всем диапазоне концентраций, необходимо приведение двух графиков – исходного и рабочего, с объяснением причин выбора;
- характеристики градуировочных графиков: уравнение, рабочий диапазон концентраций;

- результаты количественного анализа (для каждого параллельного измерения и среднее значение) с указанием доверительного интервала, полученного после поиска и исключения выбросов.

Итоговые результаты должны содержать средние значения концентраций аналитов (с указанием доверительного интервала) в исследуемом образце (мг/л).

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ

Все существующие методы анализа можно поделить на две группы: абсолютные (расчет C аналита с использованием фундаментальных констант) и относительные (предварительное установление зависимости аналитического сигнала от C). Большинство методов являются относительными, требуют сравнения результатов с данными для образцов с известной C , при этом аналитический сигнал может быть связан с C компонента линейно или нелинейно. В относительных методах анализа для определения C существует ряд общих схем, которые часто условно называют «методами». Наиболее распространен метод абсолютной градуировки. Также относительно часто используются метод одного эталона и метод добавок.

5.1. Количественный анализ методом абсолютной градуировки

Метод абсолютной градуировки – метод градуировочного графика – заключается в анализе серии образцов с известной C аналита и последующим установлении функциональной (градуировочной) зависимости между C аналита в пробе и величиной аналитического сигнала. Далее с использованием данной зависимости по сигналу анализируемой пробы определяется C определяемого аналита в ней (рис. 5.1.1). Чаще всего градуировочная зависимость устанавливается в аналитической форме с помощью регрессионного анализа, основываясь на методе наименьших квадратов. В качестве уравнения регрессии обычно выбирают линейную функцию, связывающую аналитический сигнал y с концентрацией (или массой) x :

$$y = a + bx,$$

где a – свободный член уравнения,

b – угловой коэффициент, равный тангенсу угла наклона графика.

Обычно процедура установления градуировочной зависимости предполагает использование серии m стандартных образцов (готовых или специальной приготавливаемых), для каждого из которых производится набор n параллельных определений аналитического сигнала. Затем зависимость устанавливается в аналитической форме.

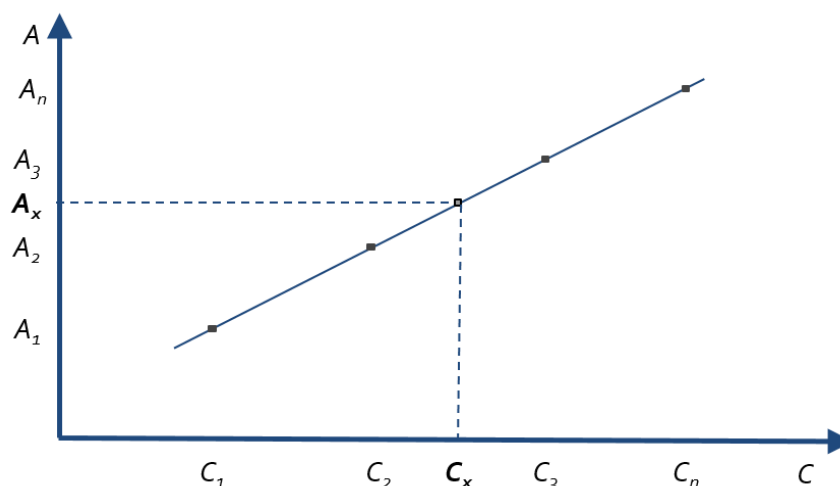


Рисунок 5.1.1. Линейный градуировочный график – зависимость аналитического сигнала A от концентрации C , построенный по серии n стандартных образцов, и графическое определение концентрации по нему анализируемой пробы x

В соответствии с принципом наименьших квадратов коэффициенты линейной функции определяются по уравнениям:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^m x_i^2 \sum_{i=1}^m y_i - \sum_{i=1}^m x_i \sum_{i=1}^m x_i y_i}{m \sum_{i=1}^m x_i^2 - (\sum_{i=1}^m x_i)^2},$$

$$b = \frac{m \sum_{i=1}^m x_i y_i - \sum_{i=1}^m x_i \sum_{i=1}^m y_i}{m \sum_{i=1}^m x_i^2 - (\sum_{i=1}^m x_i)^2},$$

где x_i – концентрация определяемого элемента в i образце для градуировки, y_i – среднее (по n параллельным определениям) значение аналитического сигнала для i образца для градуировки.

Каждый из коэффициентов обладает СКО своего значения, которые определяются по формулам:

$$S_a = S_0 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m x_i^2}{m \sum_{i=1}^m x_i^2 - (\sum_{i=1}^m x_i)^2}},$$

$$S_b = S_0 \sqrt{\frac{m}{m \sum_{i=1}^m x_i^2 - (\sum_{i=1}^m x_i)^2}}.$$

Естественно, что количество значащих цифр в значениях коэффициентов не может быть больше количества значащих цифр в их СКО.

Применение метода абсолютной градуировки отличается следующими особенностями:

- предпочтительная линейная зависимость (возможно преобразование сигнала, например, логарифмирование) для упрощения работы,

- необходимо относительно небольшое число стандартных образцов (для построения прямой необходимы две точки, третья – проверочная, поэтому метод также называют «методом трех эталонов»),
- C аналита в стандартных образцах должны равномерно перекрыть весь рабочий диапазон (соседние образцы не должны различаться по C более чем в 3 раза),
- определение C проводится в пределах рабочего интервала градуировочной зависимости, поскольку невозможно гарантировать применимости вне интервала, для больших диапазонов C требуется большее число стандартных образцов,
- при выходе C в анализируемой пробе за диапазон линейности сверху, следует разбавить пробу и повторить измерение,
- при выходе C в анализируемой пробе за диапазон линейности снизу, необходимо сконцентрировать аналит и повторить измерение, либо использовать другой метод.

Для проверки правильности построения градуировочных зависимостей используется несколько способов, включая критерий Фишера и коэффициент корреляции. Коэффициент корреляции r выражает меру близости зависимости между случайными величинами к строгой линейной зависимости и определяется как:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^m \frac{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{m-1}}{\sqrt{\sum_{i=1}^m \frac{(x_i - \bar{x})^2}{m-1} \sum_{i=1}^m \frac{(y_i - \bar{y})^2}{m-1}}}$$

Если $r=0$, то величины являются некоррелированными, при $r=1$ наблюдается положительная линейная зависимость, при $r=-1$ – отрицательная линейная зависимость. Для реальных выборок $|r|$ всегда меньше единицы, обычно градуировочная зависимость признается удовлетворительной, если $|r| > 0.99$ (т.е. наблюдается достаточно жесткая корреляция, близкая к строгой линейной зависимости).

Если условие линейности не соблюдается, градуировочная зависимость признается неудовлетворительной и ее построение повторяется с получением новых значений аналитического сигнала для вновь приготовленных стандартных образцов. Если невыполнение критериев связано с загибом градуировочной зависимости на ее краях, то построение графика повторяют с уже имеющимися точками, но уменьшают диапазон C , после чего проверка правильности выполняется вновь.

Построенная градуировочная зависимость признается стабильной, если для каждого стандартного образца, используемого для построения градуировки, выполняется выражение:

$$|C_{изм} - C_{ист}| \leq \sigma,$$

где $C_{изм}$ – среднее значение результата измерения,

$C_{ист}$ – аттестованное значение концентрации,

σ – показатель воспроизводимости (СКО в условиях воспроизводимости) методики анализа).

Поскольку для некоторых методик анализа показатель воспроизводимости имеет различные значения в разных интервалах концентраций, для каждого образца следует выбирать свое соответствующее значение. Если условие стабильности не выполняется для какого-либо образца для градуировки, следует повторить построение зависимости, используя не все точки, и снова убедиться в стабильности.

Метод абсолютной градуировки позволяет в явном виде зафиксировать зависимость аналитического сигнала в выбранном диапазоне C , пригоден даже при нелинейности графика. Метод отличается относительной простотой реализации и относительной экспрессностью при анализе большого числа проб. Однако, метод не предполагает проведение анализа за границами рабочего диапазона, при работе в большом диапазоне C требуется большое количество стандартных образцов, сами образцы должны быть адекватны по макросоставу анализируемым пробам. Если по соответствию макросостава не удается подобрать набор стандартных образцов (редкость, большая стоимость или отсутствие), используют дополнительные приемы уменьшения матричного влияния, например. пробоподготовку, введение специальных компонентов.

5.2. Метод одного эталона

Метод одного эталона является частным случаем метода абсолютной градуировки, применяется, когда зависимость аналитического сигнала от C линейна и выходит из начала координат. Суть метода состоит в измерении в единых условиях аналитического сигнала для стандартного образца $A_{ст}$ и анализируемой пробы A_x . Поскольку концентрация аналита в стандартном образце $C_{ст}$ известна, концентрация в анализируемой пробе равна:

$$C_x = C_{ст}A_x / A_{ст}$$

Погрешность определения минимальна, если $A_x = A_{ст}$, поэтому C аналита вещества в анализируемом и стандартном образцах должны быть близкими, в идеале – равными. В отличие от метода абсолютной градуировки метод одного эталона более экспрессен и экономичен. Однако, он является менее точным, поскольку предполагает работу с близкими по составу пробами (иначе проявляется матричное влияние) и линейность зависимости, выходящей из начала координат (что не всегда выполняется на практике). Данный метод используется при работе по типовым методикам для анализа ходовых образцов.

5.3. Количественный анализ методом добавок

При отсутствии стандартных образцов и/или невозможности устранения матричного влияния используется метод добавок. В простейшем случае (метод стандартной однократной добавки) измеряется аналитический сигнал в исходной пробе A_x , затем в пробу добавляют известное количество стандарта аналита, которое увеличивает концентрацию на величину C_d после чего измеряется аналитический сигнал в пробе с добавкой A_d . Предполагается, что зависимость аналитического сигнала от C линейна и выходит из начала координат, тогда концентрация аналита в исходной пробе определяется как:

$$C_x = C_d \cdot A_x / (A_d - A_x)$$

При реализации данного подхода необходимо соблюдать ряд условий:

- добавка должна увеличивать C аналита в пробе в 2-3 раза, в этом случае погрешность будет минимальна,
- объем добавки должен быть минимален, иначе нужно учитывать изменение C за счет разбавления.

Поскольку вводимая добавка находится в той же среде, что и аналит, матричное влияние проявляется одинаково в обоих измерениях и таким образом нивелируется. Однако, подход отличается большой трудоемкостью при анализе большого количества проб, также он менее точен, поскольку является экстраполяционным (как и метод одного эталона).

В случае нелинейности зависимости аналитического сигнала от C , а также для повышения точности анализа используется метод стандартных добавок. Он заключается в измерении аналитического сигнала исходной пробы $A_{исх}$, введении в нее первой добавки и измерении аналитического сигнала ($C_{д1}$, $A_{д1}$), далее операция введения последующих добавок и анализа повторяется требуемое количество раз. Затем строят график зависимости аналитического сигнала от C добавки (рис. 5.3.1). По экстраполяции графика находится исходная концентрация $C_{исх}$, соответствующая на графике точке с нулевым аналитическим сигналом.

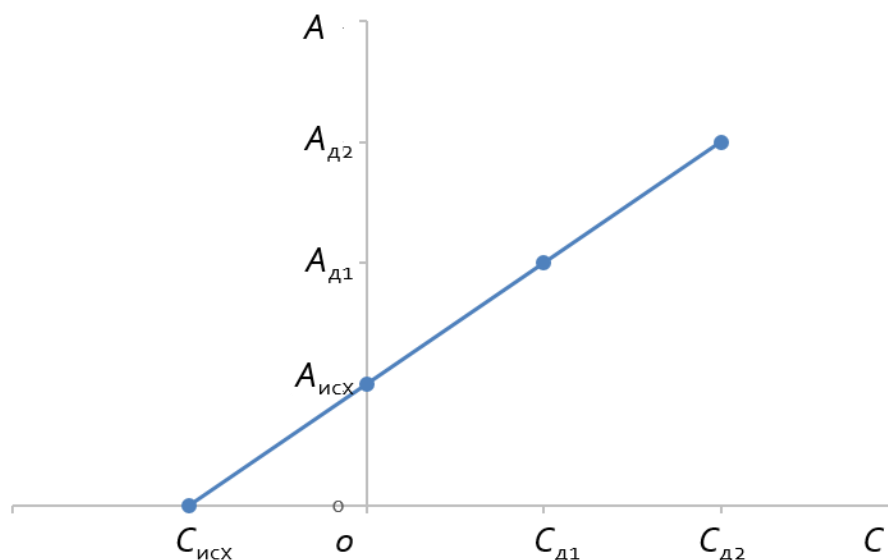


Рисунок 5.3.1. Зависимость аналитического сигнала A от концентрации вводимой добавки C

5.4. Поиск выбросов

Согласно основному постулату метрологии, результат измерения является случайной величиной, поскольку сопоставление измеряемой величины с единицей (эталоном) этой величины проводится опосредованно и под влиянием множества факторов, учет которых невозможен, а результат совместного влияния непредсказуем.

Для минимизации случайной погрешности при проведении эксперимента проводят серию параллельных измерений (определений). При этом возможны ситуации, когда один из результатов значительно отличается от среднего значения. Такой результат называют выбросом (промахом). Наиболее вероятные причины выбросов – невнимательность и неаккуратность исполнителя, а также сбои в работе аппаратуры. Поскольку выбросы приводят к искажению результатов, их необходимо выявлять и исключать из дальнейших расчетов. Согласно критерию Граббса результат C_i из выборки n признается выбросом, если выполняется соотношение:

$$\frac{|C_i - \bar{C}|}{S} = G > G_{кр}(\beta, n),$$

где S – СКО результата определения,

уровня значимости β ($\beta=1-p$),

$G_{кр}$ – критическое значение критерия Граббса для уровня значимости β ($\beta=1-p$), справочная величина (табл. 5.4.1).

Таблица 5.4.1. Критические значения критерия Граббса $G_{кр}$ для различных уровней значимости β и числа измерений n

n	β	
	0.01	0.05
3	1.155	1.155
4	1.496	1.481
5	1.764	1.715
6	1.973	1.887
7	2.139	2.020
8	2.274	2.126
9	2.387	2.215
10	2.482	2.290

После исключения первого выпадающего значения производится повторный поиск выбросов из оставшихся значений. В результате получается конечная выборка, по которой производится расчет среднего значения и доверительного интервала.

Общая погрешность результата анализа складывается из суммы систематических и случайных погрешностей, возникающих при выполнении всех этапов анализа. В химических методах анализа, характеризующихся высокой точностью, значения случайной и систематической погрешности обычно сопоставимы, поэтому расчет общей погрешности проводится по специальным формулам, учитывающим вклад каждой составляющей погрешности. В физических и физико-химических методах анализа зачастую случайная погрешность существенно превышает систематическую, поэтому последней пренебрегают при расчете общей погрешности.

5.5. Расчет пределов обнаружения и определения

Статистические критерии позволяют определить такую важную характеристику методики анализа, как предел обнаружения (*limit of detection, LOD*). Пределом обнаружения называют минимальную концентрацию $C_{мин}$ (или массу) аналита, которая может быть обнаружена, т.е. дает минимальный аналитический сигнал $A_{мин}$, значимо, т.е. с достаточной доверительной вероятностью, отличающийся от фонового сигнала $A_{ф}$. В качестве фонового сигнала принимается значение измеряемой величины при нулевой концентрации аналита в пробе. Для нормального распределения результатов измерения сигнал, отличающийся от среднего значения фонового сигнала на $3S_{ф}$ (где $S_{ф}$ – СКО фонового сигнала) с

доверительной вероятностью $p=0.997$ нельзя считать относящимся к фоновому. Этот сигнал принимается в качестве минимального аналитического сигнала A_{\min} для расчета предела обнаружения. Если зависимость между измеряемым аналитическим сигналом A и определяемой C носит линейный характер и выходит из начала координат, т.е.:

$$A = kC,$$

где k – коэффициент пропорциональности,

то предел обнаружения определяется из данного уравнения при подстановке в качестве аналитического сигнала $3S_{\phi}$, т.е.:

$$LOD = \frac{3S_{\phi}}{k}.$$

В соответствии с определением предела обнаружения относительная случайная погрешность составляет 100 %. Поэтому для характеристики методики также используется такой показатель, как предел определения (*limit of quantification, LOQ*), для расчета которого есть несколько подходов. Согласно одному из них, за предел определения принимается такая C (или масса), которая дает аналитический сигнал, равный $10S_{\phi}$:

$$LOQ = \frac{10S_{\phi}}{k}.$$

Описанный выше способ расчета пределов обнаружения и определения предполагает, что градуировочный график линеен и выходит из начала координат. Однако, зачастую это не так, т.е. в уравнении связи аналитического сигнала и концентрации присутствует свободный член. Естественно, он должен быть учтен в формулах расчета пределов обнаружения и определения.

Кроме того, предполагается, что сигнал холостого опыта предварительно учтен, другими словами, за аналитический сигнал принимается разность сигнала анализируемой и холостой проб. Это также не всегда имеет место, т.к. в ряде случаев холостая проба может вообще не анализироваться, либо используемое программное обеспечение не позволяет осуществить вычет данной точки («нулевого стандарта»). В таких случаях для расчета пределов обнаружения и определения в качестве аналитического сигнала рекомендуется использовать сумму сигнала холостого опыта $A_{\text{хол}}$ и его $3/10$ СКО:

$$LOD = \frac{3S_{\phi} + A_{\text{хол}}}{k},$$

$$LOQ = \frac{10S_{\phi} + A_{\text{хол}}}{k}.$$

Согласно другому подходу, за предел определения принимается такое минимальное значение C в пределах градуировочного графика, относительное СКО которого не превышает 30 %. Обычно предел определения по такому способу находят графическим способом (рис. 5.5.1).

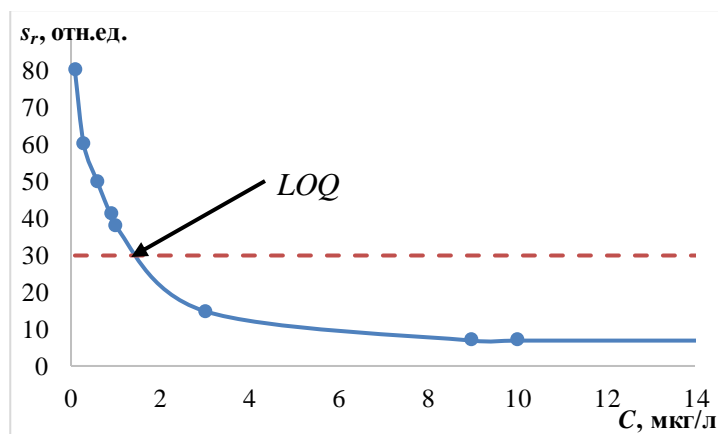


Рисунок 5.5.1. Способ нахождения предела определения LOQ по 30 % критерию относительного СКО S_r

5.6. Проверка правильности

Для проверки правильности результатов анализа, получаемых по известной методике, применяют несколько способов, основанных на экспериментальном определении C проверяемой пробы. Оценка правильности проводится с использованием метрологических характеристик, установленных для рабочей методики на этапе ее аттестации. Данные характеристики обычно приводятся в нормативных документах.

Основной характеристикой является показатель воспроизводимости (СКО в условиях воспроизводимости) методики анализа σ . Для некоторых методик анализа σ имеет различные значения в разных интервалах C , при проверке правильности следует выбирать такое значение, в соответствующий интервал которого попадает значение определенной C .

Вне зависимости от способа проверки в случае получения неудовлетворительных результатов необходимо повторить эксперимент. При повторном неуспехе следует выяснить возможные причины получения некорректных данных.

Проверка правильности с использованием образца для контроля («стандартного образца»)

Проверка правильности с использованием образца для контроля – образца с известным содержанием $C_{исх}$ – включает экспериментальное определение концентрации X по используемой методике анализа и расчет норматива контроля погрешности K :

$$K=1.96\sigma.$$

Результат признают удовлетворительным, если:

$$|C_{исх}-X|\leq K$$

Проверка правильности с использованием добавки

Проверка правильности с использованием добавки (способ «введено-найдено») включает экспериментальное определение концентрации X в пробе неизвестного состава и определение концентрации X_d в той же пробе с введенной добавкой, значение которой C_d известно. Далее рассчитывается норматив контроля погрешности K :

$$K = 1.96 \sqrt{\sigma_X^2 + \sigma_{X_d}^2}.$$

Результат признают удовлетворительным, если:

$$|X_d - X - C_d| \leq K$$

Проверка правильности методом разбавления

Проверка правильности методом разбавления включает экспериментальное определение концентрации X в пробе неизвестного состава и определение концентрации $X_{\text{разб}}$ в той же пробе, разбавленной в f раз. Далее рассчитывается норматив контроля погрешности K :

$$K = 1.96 \sqrt{\sigma_X^2 + f^2 \sigma_{X_{\text{разб}}}^2}$$

Результат признают удовлетворительным, если:

$$|f \cdot X_{\text{разб}} - X| \leq K$$

6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия

АЭС – атомно-эмиссионная спектрометрия

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ИСЭ – ионоселективный электрод

РФА – рентгенофлуоресцентный анализ

СКО – среднее квадратическое (стандартное) отклонение

ФЭК – фотоэлектроколориметр

ОСКО – относительное среднее квадратическое (стандартное) отклонение

ЭДС – электродвижущая сила

ЭС – электрод сравнения

A – оптическая плотность (абсорбционность)

C – концентрация

I – интенсивность

r – коэффициент корреляции

λ – длина волны

ε – молярный коэффициент поглощения

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Аналитическая химия. Методы идентификации и определения веществ / *под. ред. Л.Н. Москвина*. СПб.: Лань, 2019. 584 с.

Аналитическая химия. Методы разделения веществ и гибридные методы анализа / *под. ред. Л.Н. Москвина*. СПб.: Лань, 2019. 332 с.

Аналитическая химия. Химический анализ / *под. ред. Л.Н. Москвина*. СПб.: Лань, 2019. 444 с.

А.И. Дробышев. Основы атомного спектрального анализа. СПб.: СПбГУ, 2000. 200 с.

А.А. Пупышев. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. М.: Техносфера, 2009. 783 с.

С.С. Савинов, А.И. Дробышев, Н.А. Зверьков, А.Д. Титова Высококчувствительные инструментальные методы анализа. Учебно-методическое пособие. СПб.: ВВМ, 2016. 85 с.

О.В. Родинков, Н.А. Бокач, А.В. Булатов. Основы физико-химических измерений и химического анализа. СПб.: ВВМ, 2010. 132 с.

Хенце Г. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2008. 284 с.

Электроаналитические методы. Теория и практика / *под ред Ф. Шольца*. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2006. 326 с.

Г.К. Будников, В.Н. Майстеренко, М.Р. Вяселев. Основы современного электрохимического анализа. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2003. 592 с.

Бугайченко Александра Сергеевна, к.х.н.

Булатов Андрей Васильевич, д.х.н

Вах Кристина Степановна, к.х.н.

Ермаков Сергей Сергеевич, д.х.н.

Зеймаль Айна Евгеньевна

Наволоцкая Дарья Владимировна, к.х.н.

Панчук Виталий Владимирович, к.ф.-м.н.

Родинков Олег Васильевич, д.х.н.

Савинов Сергей Сергеевич, к.х.н.

Хайдукова Мария Михайловна, к.х.н.

Шишов Андрей Юрьевич, к.х.н.

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ II.

ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Методические указания к лабораторным работам