

Министерство образования и науки Российской Федерации

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, МЕХАНИКИ И ОПТИКИ**

ИНСТИТУТ ХОЛОДА И БИОТЕХНОЛОГИЙ



А.А. Бегунов, А.А. Коваль

**МЕТОДЫ И СРЕДСТВА
АНАЛИТИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ**

Учебное пособие



Санкт-Петербург

2012

УДК 53.082
ББК 30.10

Б 37

Бегунов А.А., Коваль А.А.

Б 37 **Методы и средства аналитических измерений:**
Учеб. пособие. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2012. – 128 с.

В учебном пособии по дисциплине «Метрология» изложены методы и средства аналитических измерений, применяемые в ходе научных исследований и производствах пищевой промышленности.

Предназначено для студентов кафедры «Автоматика и автоматизация производственных процессов» всех форм обучения.

Рецензенты: акад. Международной метрологической академии, канд. техн. наук **В.В. Лячнев** (кафедра метрологии Росстандарта, СПб. филиал); канд. техн. наук, доц. **В.Б. Данин** (кафедра автоматике и автоматизации производственных процессов)

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом Института холода и биотехнологий



В 2009 году Университет стал победителем многоэтапного конкурса, в результате которого определены 12 ведущих университетов России, которым присвоена категория «Национальный исследовательский университет». Министерством образования и науки Российской Федерации была утверждена программа его развития на 2009–2018 годы. В 2011 году Университет получил наименование «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных техно-логий, механики и оптики».

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет

информационных технологий, механики и оптики, 2012

© Бегунов А.А., Коваль А.А., 2012

1. КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

В аналитической химии различают методы качественного и количественного анализа.

Различие между этими методами следующее. Если при качественном анализе определяется в основном состав анализируемого вещества, т. е. производится идентификация (обнаружение) компонентов вещества и устанавливается их приблизительное содержание, то при количественном анализе определяется содержание (масса, концентрация и т. п.) или соотношение компонентов в анализируемом образце. В настоящее время качественные и количественные методы проведения анализа взаимосвязаны, так как только при уточнении количественных данных возможна полная расшифровка компонентного состава вещества, а на основе данных качественного анализа – совершенствование методов количественного анализа. При этом качественный анализ строится на основе возрастающей дифференциации свойств компонентов, а количественный – на возможности воспринимать и дифференцировать сигналы минимальной интенсивности.

Методы проведения анализа характеризуются прежде всего рабочим интервалом измерения концентрации. Для характеристики качественного метода измерения используют понятие «предел обнаружения», т. е. минимальное значение концентрации вещества, которое можно обнаружить с заданной максимальной относительной случайной погрешностью d_r для принятой доверительной вероятности P (обычно $P = 0,95$).

Различают полный анализ, при котором анализируют содержание в системе всех компонентов, и частичный – анализ одного конкретного компонента.

Под элементарным анализом понимают анализ, в результате которого измеряют концентрацию каждого элемента независимо от того, в составе какого соединения данный элемент находится в пробе. Целью функционального анализа является анализ концентрации элементов в виде тех или иных функциональных групп, а целью фазового анализа – распределение элементов по отдельным фазам образца.

В зависимости от значения массы пробы, необходимой и достаточной для проведения анализа, методы анализа делятся на следующие группы: макро – более 0,1 г; полумикро – 0,01...0,1 г; микро – 0,001...0,01 г; субмикро – 0,1...1 мг и ультрамикро – менее 0,1 мг.

В зависимости от концентрации анализируемого элемента в пробе говорят о главных (больше 1 %), второстепенных (0,01...0,1 %) и микрокомпонентах, или компонентах, присутствующих в пробе в виде следов (меньше 0,01 %).

Различают методы разделения, определения (обнаружения) и гибридные, сочетающие методы первых двух групп.

Все методы измерения основаны на зависимости каких-либо доступных измерению свойств веществ от их состава. При этом их делят на химические, основанные на химических реакциях, физические, базирующиеся на физических явлениях, и биологические, использующие отклик организмов на изменения в окружающей среде.

Измеряемыми свойствами могут быть масса, объем, светопоглощение и многие другие. Теория химических и частично физико-химических методов базируется на представлениях о нескольких основных типах химических реакций, широко используемых при анализе веществ (кислотно-основных, окислительно-восстановительных, комплексообразования), и нескольких важных процессах (осаждения, растворения, экстракции). При этом доля химических методов уменьшается, а физико-химических и физических – растет; большое значение приобретают совершенствование теории методов двух последних групп и интегрирование теоретических аспектов отдельных методов в общей теории аналитической химии.

К разделению смесей обычно прибегают в тех случаях, когда методы прямого измерения или обнаружения не позволяют получить надежный результат из-за мешающего влияния других компонентов образца. Особенно важно так называемое относительное концентрирование – отделение малого количества анализируемых компонентов от большого количества основных компонентов пробы. Разделение смесей может базироваться на различии в термодинамических или равновесных характеристиках компонентов (константы обмена ионов, константы устойчивости комплексов) или кинетических параметров. Для разделения применяют, главным образом, хроматографию, экстракцию, осаждение, дистилляцию, а также электрохимические методы, например электроосаждение.

Быстро развиваются гибридные методы анализа, объединяющие разделение и измерение. Например, газовая

хроматография с различными детекторами – важнейший метод анализа сложных смесей органических соединений. Для анализа труднолетучих и термически нестойких соединений более удобна высокоэффективная жидкостная хроматография.

Разнообразие методов измерений объясняется в общем ограниченностью области применения каждого из них для объектов, условий применения и диапазона значений концентрации.

Так, чрезвычайно чувствительные радиоактивационные и масс-спектральные методы требуют сложной и дорогостоящей аппаратуры. Простые, доступные и очень чувствительные кинетические методы не всегда обеспечивают воспроизводимость результатов. При выборе методов анализа для решения конкретных задач принимаются во внимание следующие факторы:

- метрологические характеристики;
- наличие и стоимость аппаратуры;
- квалификация аналитика, традиции и др.

Решающим фактором при выборе метода анализа являются метрологические характеристики – предел обнаружения или диапазон концентраций (количества), в котором метод дает надежные результаты, и точность метода, т. е. правильность, воспроизводимость результатов и погрешность анализа. В ряде случаев большое значение имеют многокомпонентные методы, позволяющие измерять сразу большое число компонентов, например атомно-эмиссионный и рентгеновский спектральный анализ, хроматография. Роль таких методов возрастает. При прочих равных условиях предпочитают методы прямого анализа, т. е. не связанного с химической подготовкой пробы, однако иногда такая подготовка необходима. Например, предварительное концентрирование исследуемого компонента позволяет измерять малые значения его концентрации, устранять трудности, связанные с неомогенным распределением компонента в пробе и отсутствием образцов сравнения.

Особое место занимают методы локального анализа. Существенную роль среди них играют рентгеноспектральный микроанализ (электронный зонд), масс-спектрометрия вторичных ионов, спектроскопия оже-электронов и другие физические методы. Они имеют большое значение, в частности, при анализе поверхностных слоев твердых материалов или включений.

Специфическую группу составляют методы элементного анализа органических соединений. Обычно органическое вещество тем или иным способом разлагают, а его компоненты в виде простейших неорганических соединений (CO_2 , H_2O , NH_3 и др.) измеряют обычными методами. Применение газовой хроматографии позволило автоматизировать элементный анализ; для этого выпускаются С-, Н-, N-анализаторы и другие приборы-автоматы. Анализ органических соединений по функциональным группам (функциональный анализ) выполняется различными химическими, электрохимическими, спектральными или хроматографическими методами.

При фазовом анализе, т. е. определении химических соединений, образующих отдельные фазы, последние предварительно выделяют, например с помощью избирательного растворителя, а затем полученные растворы анализируют обычными методами; весьма перспективны физические методы фазового анализа без предварительного разделения фаз.

При измерении состава объекты измерения рассматривают как смесь, состоящую из нескольких (не менее двух) элементов, называемых компонентами. Под *измерением состава* понимают установление значения доли (концентрации) того или иного компонента в смеси. Смесь называют **бинарной** (двойной), когда определяют концентрацию одного компонента (даже если в ней помимо определяемого компонента присутствуют еще несколько), и **многокомпонентной**, когда определяют концентрации нескольких веществ.

Далее рассмотрены методы измерений, наиболее перспективные с позиции их применения в пищевой промышленности.

Общепринятой системы наименования аналитических методик измерений нет. Здесь использован следующий принцип названия методов. Поскольку сущность аналитического метода измерений состоит в некотором воздействии на определяемое вещество и фиксации отклика последнего на это воздействие, в названии метода отражены оба эти фактора: первый терминологический элемент обозначает способ воздействия на вещество, второй – обозначает измеряемый параметр. Для методов измерений применяют слово «метод», для средств измерений – терминологический элемент, называющий вид

средства измерений. Например: радиационно-энергетический метод, сорбционно-гравиметрический гигрометр.

Терминоэлементы наименований аналитических методов измерений приведены в табл. 1.1.

Таблица 1.1

Терминоэлементы аналитических методов

Терминоэлемент	Значение терминоэлемента
Акватрический	Электрохимический потенциал
Акустический	Амплитуда акустических колебаний
Волюметрический	Объем
Газоаналитический	Концентрация компонента в газовой смеси
Гравиметрический	Масса
Денсиметрический	Плотность
Деформационный	Длина
Диффузионный	Скорость диффузии
Диэлектрический	Диэлектрическая постоянная или диэлектрическая проницаемость
Испарительный	Скорость испарения
Калориметрический	Количество теплоты
Колориметрический	Цвет
Кондуктометрический	Электрическое сопротивление
Конденсационный	Скорость конденсации
Кулометрический	Количество электричества, сила тока
Манометрический	Давление
Механический	Сила
Нейтронный	Поток нейтронов
Оптический	Оптические параметры: рефракция, интерференция, угол преломления
Радиационный	Электромагнитное излучение
Сорбционный	Сорбция
Термометрический	Температура
Турбидиметрический	Плотность тумана
Химический	Химическая реакция
Частотный	Частота колебаний
Электретный	Заряд электрета
Энергетический	Энергия. Мощность

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЙ

Рассмотрим классификацию и краткую характеристику аналитических методов измерений.

2.1. Анализ на основе химических реакций

Анализ основан на исследовании хода химических реакций, продуктов реакций и связанных с этим изменений состояний в зависимости от состава объекта измерений.

В зависимости от способа измерения, количества анализируемого вещества, а также скорости протекания реакции химические методы измерения подразделяются на следующие виды:

гравиметрия – измерение массы продуктов реакции осаждения;

титрометрия – измерение титрующего раствора (титранта), затрачиваемого на полное установление равновесия какой-либо химической реакции;

газовольнометрический и газоманометрический методы – измерение объема (давления) газообразных продуктов реакции или составных частей газовой смеси после реакции поглощения;

кинетический (каталитический) метод – измерение скорости реакции, ход которой ускоряется гомогенным катализом, причем в качестве катализатора служит определенная составная часть анализируемой системы.

По способу фиксации момента установления химического равновесия различают следующие виды титрометрического метода:

оптические: колориметрический, фотометрический, флуориметрический, турбодиметрический, нефелометрический, поляриметрический, интерферометрический, пламенно-фотометрический;

электрохимические: кондуктометрический, осциллометрический (высокочастотный), диэлькометрический, потенциометрический (главным образом с ионоселективными электродами), вольтамперометрический, электросорбционный;

термические: термометрический, дифференциально-термометрический, энтальпиметрический, криоскопический, дилатометрический;

прочие: вискозиметрический, сталагмометрический, радиометрический, магнитометрический, фонометрический (акустический).

2.2. Анализ на основе электрохимических реакций

Анализ основан на исследовании реакций на электродах или процессов между электродами.

В зависимости от природы протекания этих реакций различают следующие виды анализа.

2.2.1. Виды анализа на основе неспецифических электродных процессов

Кондуктометрия – измерение электропроводности или сопротивления растворов.

Осциллометрия – измерение импеданса сопротивления переменному току или, соответственно, проводимости по переменному току ячейки.

Диэлькометрия – измерение диэлектрической проницаемости с помощью переменного высокочастотного напряжения.

2.2.2. Виды анализа на основе специфических электродных процессов

Потенциометрия – измерение электродных потенциалов, а по ним активности составных частей растворов практически без затрат тока.

Вольтамперометрия – измерение степени поляризации электродов в присутствии деполяризаторов.

Полярография – определение природы и количества деполяризаторов по кривым ток–напряжение с помощью капельного ртутного электрода.

Амперометрия – измерение предельного коэффициента диффузионного тока при постоянном потенциале.

Вольтаметрия – измерение электродных потенциалов при постоянной силе внешнего тока.

Хронопотенциометрия – измерение изменения потенциала электрода, через который проходит ток, как функции времени.

Кулонометрия – измерение количества электричества, необходимого для количественных электрохимических реакций.

Электрогравиметрия – измерение массы электроосажденных металлов или их нерастворимых соединений при пропускании постоянного тока через анализируемый раствор.

2.2.3. Виды анализа на основе свойств двойного электрического слоя

Электросорбционный – измерение емкости двойного слоя, возникающего вследствие адсорбции и десорбции поверхностно-активных веществ и связанного с этим появления емкостного тока.

2.3. Анализ на основе термических процессов

Анализ основан на процессах, сопровождающихся изменениями энтальпии. Различают следующие виды анализа.

Калориметрия (энтальпиметрия) – измерение количества вещества или других эквивалентных характеристик по разности значений температуры, соответствующей изменениям энтальпии.

Термический – измерение температуры пробы в зависимости от количества подводимого или отводимого тепла.

Термогравиметрия – измерение изменений массы пробы в зависимости от температуры.

Термомеханический – измерение механических свойств пробы под влиянием теплового воздействия.

Катарометрия – измерение теплопроводности газовых смесей как функции состава.

Из данной группы методов практическое применение получила только dilatометрия, основанная на измерении изменения линейных или объемных размеров образца.

2.4. Анализ на основе взаимодействия с электромагнитным или корпускулярным излучением

Взаимодействие электромагнитного или корпускулярного излучения с частицами образца может быть упругим или неупругим. Взаимодействия первого рода лежат в основе оптических волновых явлений и вызывают изменение направления распространения электромагнитных волн или энергетически эквивалентных частиц, кинетическая энергия которых остается, однако, неизменной. За

исключением рефрактометрических методов, все остальные методы основаны на использовании отражения в широком смысле слова.

При неупругих взаимодействиях определенный объем энергии между излучением и частицами исследуемого образца протекает на основе квантово-оптических процессов. В результате в ходе измерения получают сигналы, которые в регистрируемом спектре располагаются в соответствии с их энергией. При этом в любом случае речь идет об ограниченной части электромагнитного спектра, охватывающего чрезвычайно широкую область энергии.

2.4.1. Виды анализа на основе упругих и квазиупругих взаимодействий

Дифрактометрия основана на получении дифракционной картины кристаллов, по которым определяют качественные и количественные структурные параметры.

Дифракция рентгеновских лучей основана на рассеянии рентгеновских лучей кристаллами.

Дифракция электронов основана на рассеянии потока электронов ядрами атомов.

Дифракция нейтронов основана на рассеянии потока нейтронов ядрами атомов, а также при взаимодействии магнитного момента нейтрона с моментами ядер и электронов.

Дифракция ионов основана на взаимодействии образца с потоком ионов.

Рефрактометрический анализ основан на разности скорости распространения света в веществе и вакууме.

Рефрактометрический анализ основан на измерении показателя преломления света в анализируемом веществе.

Поляриметрия основана на измерении вращения плоскости поляризации света для определенной концентрации оптически активных веществ.

Эллипсометрия основана на зависимости отношения амплитуд света, измеренных в параллельном и перпендикулярном к направлению падающего луча плоскостях, от концентрации анализируемого компонента в изотропном образце.

2.4.2. Виды анализа на основе молекулярной спектроскопии

Анализ основан на измерении характеристик уровня возбуждения внутренней энергии образца под воздействием электромагнитного излучения.

Вращательная и колебательная спектроскопия основана на регистрации вращательных и колебательных сигналов (спектров) при взаимодействии образца с электромагнитным излучением.

Микроволновая спектроскопия основана на регистрации сигналов (спектров) поглощения, обусловленных изменением вращения под воздействием электромагнитного излучения.

Инфракрасная спектроскопия основана на регистрации колебательных и вращательных переходов в молекулах под воздействием излучения в диапазоне ИК длин волн.

Спектроскопия комбинационного рассеяния (рамановская) основана на измерении разности значений энергии возбуждения и рамановской линии.

Электронная спектроскопия основана на фиксации энергии перехода между электронными уровнями колебательных состояний в результате воздействия потоком электронов.

Электроскопия в ультрафиолетовом и видимом свете основана на регистрации электронных спектров соединений, содержащих хромоформные группы или ионы металлов с незаполненными *d*- и *f*- орбиталями, под воздействием видимого или ультрафиолетового света.

Фотометрия основана на измерении экстинкции при установленных значениях длины волны для определенной концентрации растворов.

Флуоресцентная спектроскопия основана на измерении интенсивности возбужденных электронных спектров испускания молекул, возникающих под воздействием электромагнитного излучения.

Нефелометрия и тербидиметрия основаны на измерении рассеяния света мутными растворами или суспензиями, возникающего под воздействием электромагнитного излучения.

Спектроскопия магнитного резонанса основана на измерении резонансного поглощения частицами исследуемого вещества излучения переменного магнитного поля при снятии первоначального вырождения магнитно-дипольных переходов между уровнями электронов и нуклонов внешним магнитным полем.

Спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) основана на фиксации энергии переходов неспаренных электронов между спиновыми уровнями при наступлении электронно-магнитного резонанса под воздействием магнитного поля.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) основана на фиксации энергии магнитных переходов ядер со спиновыми квантовыми числами при наступлении ядерно-магнитного резонанса под воздействием магнитного поля.

Спектроскопия ядерного квадрупольного резонанса основана на фиксации энергии перехода атомных ядер со спином $1/2$ на квадрупольные уровни при их расщеплении в неоднородном электрическом поле (кристаллическое поле и поле молекулы) под действием переменных высокочастотных излучений.

Масс-спектроскопия основана на регистрации значений энергии селективных ионных потоков (пучков), возникающих при расщеплении потока ионизированного анализируемого вещества под воздействием неоднородного магнитного или электрического поля.

2.4.3. Виды анализа атомных спектров

Данные виды анализа основаны на изменении внутренней энергии атомной системы при взаимодействии атомов с электромагнитным излучением или потоками частиц, при котором происходят переходы электронов между двумя дискретными уровнями или между одним уровнем и «континуумом» (ионизация).

Рентгеновская и электронная спектроскопия основана на фиксации энергии переходов при поглощении рентгеновских лучей или испускании рентгеновских квантов либо фотоэлектронов под их воздействием.

Рентгеновская эмиссионная и флуоресцентная спектроскопия основана на фиксации характерных спектров, возникающих под действием более жесткого рентгеновского излучения (рентгеновская флуоресцентная) или электронных пучков (рентгеновская эмиссионная).

Фотоэлектронная спектроскопия основана на измерении кинетической энергии электронов, испускаемых веществом вследствие фотоэффекта при воздействии электронных пучков, рентгеновского или УФ-излучения.

Оже-спектроскопия основана на измерении кинетической энергии электронов, испускаемых при внутреннем фотоэффекте (эффекте Оже) после предварительной фотоионизации.

Спектроскопия потерь электронной энергии основана на фиксации спектров потерь энергии электронов высокой энергии (20–100 кэВ), проникающих в образец и отражающихся или проходящих через него.

Спектроскопия рентгеновского поглощения основана на фиксации спектров поглощения под воздействием рентгеновского излучения.

Атомная спектроскопия в ультрафиолетовой и видимой областях основана на наблюдении характерных линий излучения свободных атомов или ионов при ударном возбуждении в термически или электрически получаемой плазме или при электромагнитном возбуждении в видимой и УФ-области излучения.

Далее рассмотрены аналитические методы и основанные на них средства измерения, используемые и потенциально применимые в пищевой промышленности.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ

3.1. Аналитические методы

Аналитические методы обычно называют классическими. Они основаны на химических реакциях в растворе. К ним относятся: титрование, электрогравиметрический анализ, гравиметрический анализ, нефелометрия. При использовании данных методов образец сначала переводят в раствор, а затем добавляют реагенты, необходимые для измерения компонентов образца. В настоящем пособии классические методы не рассматриваются, так как они хорошо изучены и широко описаны.

3.2. Методы разделения

Методы разделения основаны на выделении определяемого компонента из анализируемого вещества. Это методы избирательного осаждения, избирательного окисления и восстановления, экстракции, хроматографии, инъекционного анализа.

В основе всех методов разделения лежит избирательное распределение компонентов анализируемого вещества между двумя распределяющимися фазами. Фаза может быть газовой, жидкой или твердой. Классификация методов разделения в зависимости от физической природы двух фаз, между которыми происходит распределение компонентов анализируемого вещества, приведена в табл. 3.1.

Таблица 3.1

Классификация методов разделения

Фаза 1	Фаза 2	Метод разделения
Газовая	Жидкая	Газовый анализ, испарение, дистилляция газожидкостная, хроматографическая возгонка
Газовая	Твердая	Газовый анализ, газоадсорбционная хроматография
Жидкая	Жидкая	Экстракция растворителями, жидкофазный полный обмен, распределительная хроматография
Жидкая	Твердая	Осаждение, электроосаждение, зонная очистка, полный обмен, адсорбционная хроматография, тонкослой-ная хроматография

Рассмотрим наиболее перспективные из приведенных в таблице методов.

К хроматографическому анализу относятся методы, основанные на разделении смеси веществ сорбционными способами в динамических условиях. Эти методы эффективно применяются для разделения и анализа органических и неорганических соединений. Применение хроматографии для аналитических задач основано на использовании физических и химических процессов, имеющих место во время хроматографических разделений. Данный метод настолько надежен, что вещество может считаться однородным, если не удалось разделить его этим методом.

В основу хроматографического метода положены разделение анализируемой смеси на составляющие ее компоненты, последующее выделение их из сорбента и измерение их концентраций. Выходная информация приборов, основанных на хроматографическом методе, – хроматографов записывается в виде хроматограмм, состоящих из ряда пиков, каждый из которых соответствует определяемому компоненту (рис. 3.1). Площадь цикла пропорциональна содержанию компонента в смеси, а его положение на временной шкале отражает индивидуальные свойства компонента в анализируемой системе.

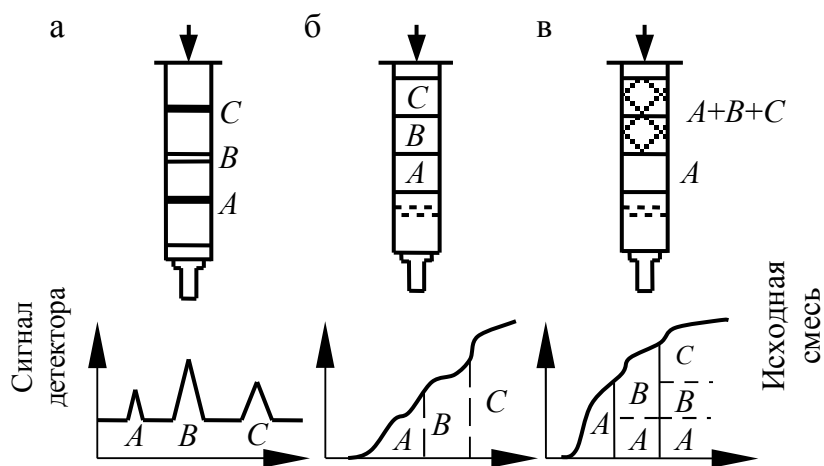


Рис. 3.1. Принципиальная схема хроматографического метода:
 а – проявительный метод; б – вытеснительный метод;
 в – фронтальный метод

Для понимания физической сущности хроматографического метода необходимо ввести несколько понятий.

Сорбция – процесс поглощения газов и жидкостей телами. Ее разновидности: адсорбция – сорбция веществ на поверхности твердых тел и абсорбция – сорбция веществ жидкими телами.

Десорбция – отдача сорбированного вещества телом, т. е. процесс, обратный сорбции.

Сорбент – тело, обладающее сорбционными свойствами, **адсорбент** – адсорбционными свойствами и **абсорбент** – абсорбционными.

Сорбат – сорбируемое вещество.

На поверхности сорбентов действует силовое поле. Молекулы веществ, попадая в него, притягиваются к поверхности сорбента и образуют на ней мономолекулярный слой. Сорбируемость различных веществ на одном и том же сорбенте неодинакова: одни сорбируются легче, другие труднее. Это свойство, называемое сродством, и используется для сорбционного разделения протекающей через сорбент смесей. При повышении кинетической энергии молекулы сорбата до уровня, превышающего энергию ее удержания на поверхности, наступает процесс десорбции – отрыва молекулы от сорбирующей поверхности.

Путем изменения температуры можно подобрать такие условия, при которых наступает сорбционное равновесие, когда количество молекул, попадающих на сорбционную поверхность, равно количеству молекул, отрывающихся от нее. При этом сорбционная активность различных веществ по отношению к данному сорбенту останется разной. За счет этого при протекании через слой сорбента газовой или жидкостной смеси молекулы компонентов будут испытывать притормаживающее воздействие сорбента, причем тем большее, чем выше их сродство с данным сорбентом. При достаточной длине сорбционного слоя в результате этого произойдет расслоение смеси на отдельные компоненты, что фиксируется на выходе из слоя специальными устройствами, называемыми детекторами.

Если разделяемые вещества имеют различную окраску, то на белом сорбенте будут образовываться слои разной окраски. Именно это наблюдал М.С. Цвет в своих опытах с хлорофиллом, приведших к открытию хроматографии (в переводе означает «запись цвета»). Он пропускал через слой CaCO_3 раствор зерен хлорофилла в

петролейном эфире, окрашивающего, как известно, листья растений в зеленый цвет. Результатом было появление адсорбционных слоев разного цвета, которые М.С. Цвет и назвал хроматограммой по аналогии с тем, как из белого луча получается спектр.

Визуальный способ хроматографирования применяется в определенных условиях и сегодня, однако современные измерительные средства позволяют анализировать содержание каждого разделенного компонента, не имеющего характерной окраски, или вообще бесцветных.

Для того чтобы сделать хроматограмму по зонам более четкой, адсорбент после окончания всего процесса разделения промывают растворителем, имеющим активность по отношению к сорбенту большую, чем все компоненты. Каждая зона под воздействием сдвигается, и между ними образуется некоторый разрыв. Этот процесс называется проявлением хроматограммы. При достаточно большом количестве раствора слои сорбированных веществ вымываются совсем, на выходе из сорбционного слоя получается струя растворителя, содержащего как бы послойно все вещества анализируемой смеси. Их зонные концентрации в растворителе могут служить мерой концентрации этих веществ в смеси. В этом и состоит сущность инструментального хроматографического метода. В задачу исследователя входит подбор сорбента, отвечающего составу анализируемой системы, условий проявления и расшифровка хроматограммы.

Хроматографические методы анализа чрезвычайно разнообразны и различаются по видам применяемых сорбентов, типу используемой подвижной фазы и т. д.

По способу выполнения хроматографические методы подразделяются на проявительный, фронтальный и вытеснительный. *Проявительный метод* заключается в том, что сорбаты переносятся через слой сорбента потоком вещества (элюента), сорбирующегося хуже любого из сорбентов. При этом разделенные вещества *A, B, C* выделяются из сорбционного слоя в потоке элюента отдельными зонами, в промежутке между которыми находится чистый элюент (см. рис. 3.1, а). Достоинствами этого метода являются непрерывность регенерации (восстановления) сорбента и возможность практически полного разделения компонентов смеси; недостатком – значительный расход элюента. *Вытеснительный метод* заключается в переносе разделяемой смеси потоком вещества

(вытеснителя), сорбирующегося лучше любого из компонентов смеси. При этом образуются отдельные примыкающие друг к другу зоны компонентов, которые располагаются в порядке увеличения их сорбируемости (см. рис. 3.1, б). Недостатком метода является необходимость регенерации сорбента, а также то, что зоны отдельных компонентов вплотную примыкают друг к другу. *Фронтальный метод* основан на непрерывном пропускании исследуемой смеси через слой сорбента. При этом на сорбенте образуются зоны, содержащие последовательно уменьшающееся число компонентов; из колонки вначале выходят порции наименее сорбируемого вещества, а в конце – порция, состав которой соответствует составу исходной смеси (см. рис. 3.1, в). Достоинствами метода являются простота проведения опыта и отсутствие необходимости в элюенте; недостатками – необходимость регенерации сорбента после каждого анализа, возможность получения в чистом виде только первого компонента.

По природе используемого сорбента хроматография подразделяется на следующие основные виды:

- газоадсорбционную, при которой в качестве сорбентов используют твердые пористые вещества;

- газожидкостную, при которой в качестве сорбентов используют нелетучие жидкие растворители, наносимые на пористые твердые носители с большой поверхностью;

- капиллярную, представляющую собой разновидность газожидкостной, когда нелетучий жидкий растворитель наносят на внутреннюю поверхность капиллярной разделительной колонки, длина которой достигает нескольких десятков и даже сотен метров.

В зависимости от способа оформления процесса разделения различают колоночную и плоскостную хроматографию. *Колоночная хроматография* отличается тем, что процесс разделения происходит в насадочной (или капиллярной) колонке, называемой хроматографической. Ее заполняют сорбентом (насадкой) или внутреннюю ее стенку покрывают жидким либо пылевидным сорбентом. *Плоскостная хроматография* осуществляется на плоскости, которой может быть бумага, пропитанная сорбентом (хроматография на бумаге), или стек-лянная пластинка со слоем сорбента (тонкослойная хроматография).

Большинство хроматографов состоят из разделительной (хроматографической) колонки с неподвижной фазой, источника

подвижной газовой фазы, служащей для транспортирования анализируемой смеси через хроматограф, и устройства для фиксации разделенных элементов – детектора. Кроме того, они могут включать в себя ряд вспомогательных приспособлений для введения анализируемой пробы, приборы для контроля и регулирования расхода газа, а также устройства обеспечения постоянства температуры колонки и детектора.

Структурная схема хроматографа показана на рис. 3.2. Газ через колонку 4 пропускают от источника 1 сжатого газа (как правило, баллона) с постоянной скоростью (за счет регулятора расхода), определяемой по измерителю расхода 5. Дозатор-испаритель 2 служит для ввода анализируемой пробы в колонку. Обычно проба очень мала, поэтому ее вводят микрошприцем через самозатягивающуюся термостойкую резину. Анализируемая проба, введенная в дозатор, подхватывается потоком газа-носителя и подается в хроматографическую колонку. Если анализируемая проба – жидкость, то она предварительно в дозатере-испарителе переводится в парообразное состояние. Чувствительный элемент – детектор 3 регистрирует присутствие разделенных компонентов в газе-носителе. Вторичный прибор 6 записывает хроматограмму в виде выходных кривых на временной оси.

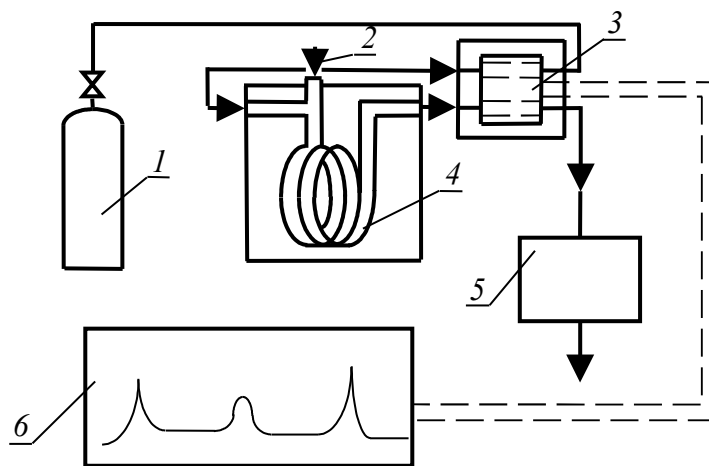


Рис. 3.2. Структурная схема хроматографа:

1 – источник газа; 2 – дозатор-испаритель; 3 – детектор;
4 – колонка; 5 – измеритель расхода; 6 – вторичный прибор

Современные автоматические хроматографы снабжаются специальными устройствами для обработки хроматограмм. Она заключается в распознавании хроматографических пиков,

определении их параметров и проведении вычислительных операций.

Хроматографическая колонка представляет собой металлическую или стеклянную трубку диаметром 2–5 мм, свернутую в спираль либо состоящую из отдельных U-образных секций. Длина колонки выбирается в зависимости от состава анализируемой смеси эмпирически, поскольку в настоящее время нет достаточно точных методов ее расчета.

Сорбенты, применяемые в хроматографических колонках, должны иметь максимально возможную поглотительную способность (отношение массы поглощенного вещества к массе сорбента), быть устойчивыми по отношению к той среде, в которой они применяются, и обладать механической прочностью в условиях эксплуатации. В настоящее время наибольшее применение получили активированный уголь, силикагель, окись алюминия, цеолиты, некоторые минералы, целлюлоза и ионно-обменные смолы. Каждому из них могут быть приданы специфические свойства в зависимости от условий его будущего применения.

В качестве подвижной фазы в хроматографии чаще всего используют чистые инертные газы, которые должны обеспечивать перемещение анализируемой смеси вдоль слоя сорбента, отвечать требованиям работы соответствующих детекторов и не вступать в какие-либо реакции с анализируемым веществом, сорбентом и материалом хроматографической колонки. В качестве таковых используют азот, водород, гелий, аргон, двуокись углерода, воздух, кислород, неон, криптон и др.

Детекторы являются важнейшей частью любого хроматографа. От совершенства детектора во многом зависят чувствительность и точность хроматографического устройства в целом, параметры хроматографической колонки (диаметр и длина), размер пробы, а также условия проведения анализа (температура, давление в газовом тракте, расход и скорость анализируемой пробы и др.). Детекторы подразделяются на дифференциальные и интегральные.

Дифференциальные детекторы, применяемые наиболее широко, обеспечивают измерение концентрации анализируемых компонентов в данный момент и дают на выходе измерительный сигнал, зависящий от какого-либо физико-химического свойства этих компонентов. Так как выход анализируемого компонента

длится некоторое время, выходная информация записывается в виде пиков на временной оси. Действие большинства дифференциальных детекторов основано на использовании различия в теплопроводности анализируемых компонентов и подвижной фазы (так называемые термокондуктометрические детекторы, или катарометры), а также на измерении электропроводности ионизированных компонентов анализируемой смеси (ионизационные детекторы). Для специальных видов хроматографического анализа применяют пламенные, термохимические, пневматические и детекторы некоторых других типов.

Интегральные детекторы дают на выходе сигнал, показывающий зависимость во времени суммарного содержания компонентов анализируемой смеси, а на диаграмме (хроматограмме) представляют собой ряд ступеней, высота каждой из которых пропорциональна количеству компонентов, присутствующих в смеси (см. рис. 3.2).

Большое значение имеет калибровка детекторов, от которой во многом зависит точность анализа. Она состоит в том, чтобы с необходимой точностью определить место и площадь пиков хроматограммы, отвечающих каждому анализируемому компоненту.

Количественный анализ хроматографическим методом основан на том, что площади пиков индивидуальных веществ на хроматограмме, а также их высоты пропорциональны количеству или концентрации их в смеси. Площади пиков измеряют различными способами в зависимости от размеров, симметричности и полноты разделения. Наиболее распространены следующие способы измерения: по площади треугольника, основание которого равно расстоянию между точками пересечения касательных в точках перегиба с нулевой линией; умножение высоты пика на его ширину по половине высот; взвешивание вырезанных пиков; при помощи планиметров и автоматических интеграторов.

Для расшифровки хроматограмм проводят калибровку. Наиболее распространены следующие способы калибровки. При **абсолютной калибровке** в дозатор-испаритель поочередно вводят определенное количество каждого чистого компонента, находят соответствующие им значения высоты или площади пиков и таким образом, строят калибровочный график, по которому и находят пересчетные коэффициенты. Данный способ чаще всего применяют

в тех случаях, когда необходимо определить не все компоненты анализируемой смеси, а только один или два.

Способ **внутреннего стандарта** основан на добавлении известного количества определяемого вещества, называемого внутренним стандартом. Поправочный коэффициент для него принимают равным единице. При использовании этого способа нет необходимости измерять точно размер анализируемой пробы. Для калибровки строят график зависимости отношения площади или высоты пика определяемого компонента и внутреннего стандарта от отношения значений массы обоих веществ. Этот способ калибровки удобен, поэтому наиболее часто применяется. Однако его применяют только тогда, когда определяют не все компоненты пробы.

Метод нормализации основан на том, что сумма значений площади всех пиков на хроматограмме с учетом соответствующих поправочных коэффициентов принимают за 100 %. На основании этого содержание определяемого вещества рассчитывают при помощи соответствующих простых соотношений. Достоинством способа является возможность измерения концентрации всех компонентов. Существенные недостатки – необходимость полного разделения и идентификации всех компонентов смеси, а также обязательное нахождение поправочных коэффициентов для каждого пика, хотя при этом определять некоторые вещества нет необходимости.

При использовании стандартной аппаратуры хроматографические измерения можно проводить с относительной погрешностью 5–10 %. На хроматографах высшего класса, имеющих более стабильные параметры работы, эта погрешность составляет $(2 \pm 0,2) \%$.

Таким образом, для получения точных количественных данных необходимо обращать внимание на качество применяемой аппаратуры, добиваться наибольшей полноты разделения за счет тщательного выбора сорбентов и условий работы, правильно выбирать метод калибровки, тщательно готовить калибровочную смесь и использовать наиболее рациональные приемы измерения параметров пиков.

Промышленность выпускает различные анализаторы для анализа определенных веществ, основанные на хроматографическом методе. Такие специфические приборы, обладая всеми

преимуществами данного метода, за счет индивидуальной узкой настройки имеют небольшие габаритные размеры, простое устройство и шкалу, отградуированную в единицах концентрации, надежны и удобны в эксплуатации.

В жидкостной хроматографии последним нововведением являются колонки с микродиаметром (например, набивные кварцевые микроколонки), использование которых ведет к сокращению расхода растворителя на 95 % по сравнению с традиционными колонками. Чувствительность увеличивается в 10–20 раз. Достоинством также является возможность совмещения газовой хроматографии и масс-спектрологии.

В газохроматографическом анализе особое развитие получили стеклянные капиллярные колонки, позволяющие на двух-трех неподвижных фазах разделять практически любые вещества. Эффективность таких колонок достигает сотен тысяч теоретических тарелок.

Для ионной хроматографии характерным является отказ от супрессной колонки за счет применения высокочувствительных кондуктометрических детекторов. Они способны регистрировать изменение электропроводности в 10^{-5} – 10^{-6} от электропроводности фонового электролита.

Высокоэффективная тонкослойная жидкостная хроматография для многих случаев является наиболее эффективным хроматографическим методом. Размер пластин для этого метода меньше, чем размер пластин для обычной тонкослойной хроматографии. Адсорбционное, однородное покрытие этих пластин имеет более равномерную толщину, поскольку содержит частицы меньшего размера. Это ведет к выравниванию скорости потока элюента. Разделение происходит быстро, так как проба, наносимая на пластину, очень мала, обычно менее 0,5 мкл, поэтому растворителю достаточно пройти всего 3–4 см.

Другое достоинство метода тонкослойной жидкостной хроматографии – высокая чувствительность.

Относительно новым в хроматографии является метод **зонной газовой хроматографии**. В нем узкий тепловой импульс прямоугольной формы медленно сканирует относительно короткую колонку по направлению движения газа-носителя, что обеспечивает необычные разделения и одновременно создает благоприятные условия для «холодного» хранения в колонке неэлюированных

компонентов (для их элюирования в последующих сканированиях). Тепловой импульс создается узкой печью, укрепленной на колонке и движущейся вдоль нее. После каждого сканирования определяют состав элюированной фракции с использованием аналитической колонки, установленной после зонной колонки. Метод хорошо зарекомендовал себя в много-мерной газовой хроматографии для предварительного разделения пробы на линии (зонная колонка заменяет предварительную колонку).

Зонная газовая хроматография может использоваться также для разделения веществ с близкими значениями молекулярной массы. Для реализации этого метода используют колонки, в которых разделение соединений производится путем регулирования температуры колонки при помощи нагревательного устройства. Эти колонки предназначены для анализа пищевых продуктов и напитков на содержание органических кислот. Достоинствами данных колонок являются большая избирательность, обеспечиваемая контролируемой ионизацией, стабильность и долговечность. Они могут использоваться для разделения веществ с близкими значениями молекулярной массы, например изолимонной и лимонной кислот.

В методе **сверхкритической флюидной хроматографии** носителем является флюид, поддерживаемый в состоянии выше его точки критической температуры. Плотность сверхкритического флюида близка к плотности жидкой фазы. Вязкость сверхкритической фазы такая же, как газовой фазы, что обеспечивает легкий перенос массы. Теплопроводность относительно большая. Коэффициент диффузии (самодиффузии) сверхкритической фазы имеет промежуточное значение между коэффициентами диффузии газа и жидкости. В литературе описываются преимущества и области применения сверхкритической флюидной хроматографии. В большинстве случаев сверхкритическая флюидная хроматография применяется для решения аналитических и разделительных задач. Преимущества сверхкритической флюидной хроматографии – во времени экстрагирования и, следовательно, повышении производительности; большая эффективность экстрагирования. Путем использования различных сверхкритических флюидов (CO_2 и др.), модификаторов давления или температуры возможно повышение селективности.

Основные направления развития хроматографии:

– совмещение жидкостной хроматографии с газовой. Используется для разделения специфических веществ, которые трудно разделить одним методом. Жидкостная хроматография используется для предварительной обработки пробы (разделения ее на фракции, обогащения, разбавления, очистки) перед ее последующим газохроматографическим анализом. Это совмещение позволяет устранить многие проблемы, связанные с потерями вещества, загрязнением пробы, и в то же время облегчает процедуру, улучшает чувствительность и количественную оценку. Кроме того, жидкостная и газовая хроматографии дают два ряда независимых данных удерживания веществ, что значительно упрощает их идентификацию;

– сочетание нескольких набивных колонок, например, в сверхкритической флюидной хроматографии для анализа пестицидов;

– сочетание газовой хроматографии с масс-спектрометрией, это дает очень мощный аналитический метод анализа сложных смесей. Трудность заключается в том, что не все компоненты смеси могут быть хроматографически разделены, даже с помощью высокоэффективной капиллярной газовой хроматографии. В результате получаемые масс-спектры представляют смеси компонентов, что вызывает ошибки при идентификации. Для их устранения используются различные приемы – от простейшей программы вычитания фона до сложной спектральной реконструкции спектра или факторного анализа;

– для системы «жидкостная хроматография + масс-спектрометрия» появился новый метод ионизации – термораспыление. Его использование позволяет получать спектры значений массы широкого круга термически неустойчивых соединений;

– известны гибридные методы, включающие электрофорез, гельпроникающую хроматографию, микрохимический метод отпечатков и аминокислотный анализ для анализа высокомолекулярных веществ в пищевых жидкостях. «Гибридизированы» методы аналитической ультрафильтрации и гельпроникающей хроматографии;

– разработана методика газохроматографического измерения остаточного количества оловоорганических пестицидов в зерне, соломе яровой пшеницы и ячменя, клубнях картофеля.

Идентификация оловоорганических соединений производится по эталонным веществам и методом тонкослойной хроматографии;

– сочетание в сверхкритической флюидной хроматографии нескольких набивных колонок (используется для разделения сложных смесей, например при анализе пестицидов);

– прямое сочетание сверхкритической флюидной хроматографии колонками с капиллярной газовой хроматографией (используют для характеристики классов углеводородов в сложных углеводородных потоках веществ путем селективного переноса фракций в другую колонку);

– изучены возможности совмещения сверхкритической флюидной хроматографии и газовой хроматографии для анализа потоков различных сложных систем.

Применение газохроматографических методов при измерении влажности дает результаты, которые по точности не уступают результатам, полученным кулонометрическим методом. Например, хроматографическая методика применяется для экспресс-измерения влажности салатов, соусов, первых и вторых блюд.

Хроматографические методы занимают особое место среди современных методов контроля качества жиров в молочной, масло- и сыродельной отраслях пищевой промышленности, в частности для идентификации замены молочного жира дешевыми добавками, комбинированными маслами и маргаринами. В этих и ряде других ситуациях традиционные методы анализа физико-химических показателей часто недостаточны решения технологических вопросов, для оценки качества и проверки аутентичности жиров. Один из наиболее информативных методов идентификации жиров – хромато-масс-спектрометрия. В этом методе сочетается газовая хроматография летучих производных жирных кислот с получением масс-спектров разделенных компонентов. Метод применяется в научных исследованиях, криминалистике, судебно-медицинской экспертизе, при решении арбитражных вопросов. По характеру масс-спектров можно идентифицировать строение всех жирных кислот. Аналогичное заключение можно сделать по высокоэффективной жидкостной хроматографии, совмещенной с ядерно-магнитным резонансным спектрометром.

В ближайшей перспективе относительно недорогим и чрезвычайно селективным методом измерения жирно-кислотного, углеводного и аминокислотного состава может стать новейший

метод, относящийся к хроматографическим по ряду признаков, – капиллярный электрофорез.

В мировой практике наблюдается массовый переход лабораторий на капиллярную газовую хроматографию (КГХ) взамен насадочной. Этим способом можно измерять жирно-кислотный состав образца жира, а при наличии в комплекте к газовому хроматографу парофазной приставки и пиролизера (недорогое дополнительное оснащение) можно получить еще хроматограммы летучих компонентов (запаха) и продуктов пиролиза жиров. Парофазный анализ и пиролитическая хроматография на газовых хроматографах прошли широкую апробацию в криминалистической практике, они существенно повышают надежность идентификации, выполненной по жирно-кислотному составу, так как летучие компоненты животных и растительных жиров достаточно специфичны. Пирограммы, как и отпечатки пальцев, неповторимы, но для разных групп масел и жиров имеют характерные общие признаки. Парофазный анализ и пиролитическая хроматография полезны при проверке аутентичности не только жировой фазы, но и других ингредиентов жировой продукции. Методом КГХ можно контролировать также состав моно- и дисахаридов. Для этого их модифицируют, переводя в летучие кремнийорганические производные.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с рефрактометрическим и ультрафиолетовым детектором обеспечивает контроль состава триглицеридов, нестабильных пероксидосодержащих жирных кислот, углеводов, антиоксидантов, жирорастворимых витаминов; эксклюзивная ВЭЖХ позволяет контролировать фракционный состав белков и пептидов.

Современные хроматографические методы определения качества жиров приведены в табл. 3.2.

Таблица. 3.2

Хроматографические методы

Метод анализа	Определяемые параметры	Стоимость и сложность анализа
Хромато-масс-спектрометрия	Жирнокислотный состав, состав стероидов	Очень высокая

Окончание табл. 3.2

Метод анализа	Определяемые параметры	Стоимость и сложность анализа
Газожидкостная капиллярная хроматография	Жирнокислотный состав, пестициды, моносахариды, стеринны	Средняя
Газовая насадочная хроматография	Наличие фитостеринов (3-ситостерина), парофазный анализ летучих компонентов, анализ продуктов пиролиза	Средняя
Высокоэффективная жидкостная хроматография	Жирнокислотный и триглицеридный состав, жирорастворимые витамины, фосфолипиды, антибиотики, пестициды, углеводы	Высокая
ВЭЖХ совместно с ядерно-магнитным резонансом	Жирнокислотный состав, состав стериннов, триглицеридный состав	Очень высокая
Капиллярный электрофорез	Водорастворимые витамины, аминокислотный и белковый состав, фосфолипидный состав, свободные карбоновые кислоты, качество воды, неорганические и органические соли	Средняя

4. ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Теплофизические методы основаны на тепловых свойствах объектов измерения: термометрия, термогравиметрический анализ, дифференциальный термический анализ, термический анализ, термометрическое титрование.

Данные методы основаны на зависимости параметров теплового поля от состава вводимого в него объекта. Теплофизические методы используются для качественного и количественного измерения состава многих веществ.

4.1. Термофизические методы для анализа состава вещества

Применение термических методов для определения состава продукта основано на изменении теплосодержания системы при химических реакциях и фазовых превращениях.

В методе дифференциального термического анализа (ДТА) используется зависимость температуры образца от температуры в на-гревательной печи. Этот метод применяется в основном для качественного анализа продуктов. Например, если различные партии сырья имеют близкий, но не идентичный состав, их можно легко сравни-вать; это позволяет без труда обнаруживать такие изменения в сос-таве продуктов, которые могут приводить к нарушению хода техно-логического процесса. Метод ДТА используют для идентификации аминокислот, белков, углеводов, жиров, масел, полимеров и пищевых продуктов.

Термогравиметрический метод анализа (ТГА) основан на химических превращениях в процессе нагревания, приводящих к изменению массы продукта. Он применяется для количественного анализа состава сложных смесей. Пример использования теплофизического метода для контроля качества продукции: сортировка картофеля по теплофизическим параметрам, которая заключается в регистрации теплового измерения клубней, обдуваемых теплым или холодным воздухом. Уже через 6 мин после охлаждения перепад значений температуры между чистыми и здоровыми клубнями достигает 27 °С, что может служить надежным критерием для сортировки картофеля.

4.2. Теплофизические методы для измерения влажности вещества

Методы основаны на зависимости теплофизических параметров от влажности или особенностях тепло- и массопереноса при сопряжении анализируемого вещества с внешней средой.

В качестве меры влажности выбирают коэффициенты теплопроводности λ и температуропроводности χ , которые измеряют по скорости нагрева вещества источниками теплоты различных типов (мгновенный и импульсный источники, источник постоянной мощности, температурный зонд).

В методе мгновенного источника в анализируемый материал вводят плоский мгновенный источник – нагретую до 60–70 °С тонкую пластину, измеряют на некотором расстоянии от пластины температуру и по формулам рассчитывают коэффициенты теплопроводности и объемной теплоемкости.

Метод импульсного источника отличается конструкцией термопреобразователя. Источником мощности служат отрезки линейных проводов диаметром 0,05–0,1 мм, через которые в промежутке 15–30 с пропускают ток такой силы, чтобы значение температуры вблизи источника мощности не превышала 3–4 °С. Это максимальное значение температуры, время ее установления определяется в двух точках. По соответствующим формулам и графикам рассчитывают теплофизические коэффициенты.

В методе температурного зонда используется нестационарное измерение тепло- и температуропроводности, когда через зонд-нагреватель пропускают электрический импульс, задающий тепловую волну. Изменение температуры регистрируется с помощью термопреобразователя, удаленного на заданное расстояние от зонда-нагревателя.

В термографическом методе используется зависимость количества теплоты, необходимой для нагревания материала до температуры кипения и испарения влаги, от влажности материала или измеряется энергия, затраченная на сушку определенной навески влажного вещества, при пропускании через образец электрического тока до температуры кипения воды при поддержке постоянного тока в процессе высушивания. Сушку заканчивают в тот момент, когда ток равен 0,2 от первоначального значения при максимальном напряжении.

Методы массопереноса основаны на переходных процессах или на установившемся равновесном состоянии термодинамической системы, в которую входит анализируемое влажное вещество.

Методы сушки всех видов, экстракции (дистилляции) и химический метод К. Фишера относятся к статическим методам. Главным недостатком этих методов является их низкое «быстродействие».

Более перспективны кинетические методы массопереноса, сокращающие время измерения до 30–40 с. В настоящее время к таким методам относится термовакuumный (калориметрический) метод.

При вакуумировании равномерного по толщине слоя вещества, при фазовом переходе воды в парообразное состояние, в результате интенсивного поглощения энергии температура вещества начинает уменьшаться. Интенсивность испарения воды по мере ее изменения снижается. Температура вещества в результате теплообмена с окружающей средой начнет повышаться до температуры стенок камеры, а ее экстремум зависит от влажности. Информативным параметром может служить как значение максимального изменения температуры, так и разность между температурой анализируемого и эталонного веществ.

5. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

К электрохимическим и электрическим методам относятся: кулонометрия; вольтамперометрия, в том числе полярография; амперо-метрическое титрование; потенциометрия; потенциометрическое титрование; кондуктометрическое титрование.

Электрохимические методы анализа основаны на зависимости электрохимических свойств анализируемых сред от их состава. Величинами, которые могут быть использованы для измерений, являются напряжение, потенциал, сила тока, сопротивление, проводимость, емкость, диэлектрическая проницаемость и др.

Электрохимические методы в отраслях агропромышленного комплекса (АПК) применяют главным образом для определения основного состава пищевых продуктов и сырья на содержание полезных компонентов (сахаров, глюкозы, витаминов, кислот, белков), а также вредных примесей, которые попадают в пищевые продукты.

Электрохимические методы классифицируют в зависимости от измеряемой величины:

– электрогравиметрический – измеряют количество вещества, осаждаемого на электроде;

– кулонометрия – измеряют количество электричества, необходимое для количественного восстановления. Этот метод применяют для анализа содержания воды в различных пищевых продуктах с помощью реактива Фишера. Достаточная точность и быстрота проведения измерений с помощью этого метода позволяют рекомендовать его в качестве арбитражного;

– хронопотенциометрия – измеряют потенциал одного из электродов как функцию времени;

– полярография – измеряют, постепенно увеличивая потенциал, приложенный к микроэлектроду, соответствующее изменение силы тока;

– кондуктометрия – измеряют электрическое сопротивление. Этот метод может применяться для измерения влажности.

Для материалов органического происхождения справедливо следующее выражение:

$$R_x = Aw^{-n}, \quad (5.1)$$

где R_x – сопротивление материи; A – константа, зависящая от исследуемого материала; w – влажность; n – показатель степени, зависящий от структуры и природы исследуемого образца.

Однако сопротивление зависит не только от влажности, но и ряда других факторов, например температуры. Поэтому кондуктометрический метод пригоден только для тех случаев, когда не требуется высокая точность измерений;

– амперометрическое титрование – основано на использовании зависимости индикаторного электрода от добавляемого объема и титранта. Несмотря на то, что амперометрическое титрование для анализа пищевых продуктов используется сравнительно недавно, этот метод является одним из наиболее перспективных электрохимических методов анализа. В последнее время разработаны методики элементного анализа некоторых пищевых продуктов;

– потенциометрическое титрование – используется зависимость индикаторного электрода от добавляемого объема титранта.

– кондуктометрическое титрование – измеряется электропроводность раствора в зависимости от добавляемого объема титранта;

– метод изотахофореза – метод относится к электромиграционным методам и основан на том, что исследуемая проба попадает между двумя электролитами – индирующим и замыкающим. Ввод пробы осуществляется либо дозирующим краном, либо микрошприцем. Состав индирующего и замыкающего электролитов выбирают в зависимости от анализируемой смеси.

Разделение анализируемой смеси на зоны происходит под действием электрического поля, создаваемого высоковольтным источником питания. После достижения квазистационарного состояния все зоны анализируются детекторами, использующими различные свойства компонентов анализируемой пробы. Приборы, действие которых основано на применении изотахофореза, широко используются для анализа напитков, пищевых продуктов, консервантов, сточных вод, изучения экологической обстановки и др.

Теоретические основы электролитических методов состоят в следующем. Молекулы воды можно представить в виде тетраэдра, четыре угла которого являются местами сосредоточения заряда. Два

таких места заняты атомами водорода, несущими положительный заряд, два других занимают электронные пары кислорода. Последние участвуют в образовании водородных связей с двумя соседними молекулами воды. Благодаря этому молекулы воды связаны между собой в комплексы. Эти связи носят в основном электростатический характер. Из-за этого молекула воды является диполем. Введение в воду ионов приводит к тому, что электростатическое взаимодействие между ионами и диполями воды становится в несколько раз сильнее, чем взаимодействие между молекулами воды. Поэтому присутствие ионов существенно влияет на структуру растворителя: молекулы воды, находящиеся около ионов, будут в значительной степени ориентированы. Благодаря этому вода, содержащая некоторые вещества, приобретает определенные электрические свойства, показатели которых зависят от концентрации в растворе ионов растворенного вещества. Такой раствор называется электролитом.

В электролите за счет сил взаимного притяжения каждый ион как бы окружен шарообразным роем противоположно заряженных ионов. Если в раствор опустить электроды, соединенные с источником электрического тока, то разноименно заряженные ионы начинают перемещаться к соответствующим электродам. При этом окружающая ион атмосфера тянет его обратно, замедляя тем самым движение, а следовательно, уменьшая количество ионов, проходящих через раствор в единицу времени, т. е. силу тока. Чем больше концентрация раствора, тем сильнее проявляются эти тормозящие силы, тем меньше будет электропроводность раствора. Поэтому при изменении электропроводности раствора получается несколько заниженное против действительного значение концентрации, которую оценивают активностью, т. е. молярной концентрацией вещества в растворе, умноженной на так называемый коэффициент активности. Поскольку этот коэффициент близок к единице, во многих случаях при анализе концентрации электрохимическими методами активностью можно пренебречь и говорить непосредственно о концентрациях. Такое упрощение оправдано в тех случаях, когда это допускают либо заданная погрешность измерения, либо градуировка прибора.

5.1. Кондуктометрический метод

Кондуктометрический метод основан на зависимости электропроводности или сопротивления электролитов от концентрации анализируемого компонента в материале.

Обычно измерения проводят в электролитической ячейке, представляющей собой сосуд с анализируемым раствором, в который помещены два электрода. В последние годы получили развитие бесконтактные способы измерения, при которых отсутствует контакт электродов с раствором. В простейшем виде измерительная схема прибора представляет собой равновесный мост, в плечо которого включена электролитическая ячейка. Для компенсации температурного влияния в автоматических анализаторах используют температурные автоматические компенсаторы электрического типа с термометрами сопротивления или полупроводниковыми термисторами.

Основными источниками погрешности кондуктометрического метода являются влияние побочных присутствующих в растворе веществ, обладающих ионизационными свойствами, а также поляризация электродов протекающим через них током. Существенное влияние оказывает также соотношение между скоростью электрохимической реакции и скоростью доставки к электродам ионов. Ослабление этих эффектов достигается снижением плотности тока на электродах и проведением измерений на повышенных частотах.

При бесконтактном способе измерения все погрешности, связанные с поляризацией электродов, отсутствуют. Образование на измерительном участке слоя неэлектропроводных осадков или масел тоже почти не сказывается на результате измерений. С другой стороны, в этом случае значительно усложняется и дорожает само средство измерения. Поэтому бесконтактные способы применяют большей частью тогда, когда контактная техника измерений оказывается неэффективной.

5.2. Диэлькометрический метод

Данный метод основывается на непосредственном измерении диэлектрической постоянной, являющейся функцией концентрации анализируемого вещества в растворе, с помощью высокочастотного переменного напряжения.

Практическое использование метода будет рассмотрено далее на примере измерения влажности твердых и жидких сред.

5.3. Полярографический метод

Полярографический метод основан на определении природы и количества анализируемого вещества по кривым ток–напряжение, получаемым с помощью капельного ртутного электрода.

С развитием электронной техники широкое распространение получили многие виды полярографии (классической, осциллографический, дифференциальный, переменного-токовый, импульсный и др.).

Поскольку подавляющее число неорганических и органических соединений способны к электровосстановлению на ртутном капельном электроде, полярографический метод может быть применен для анализа таких биологически активных соединений, как аминокислоты, витамины, белки, углеводы, а также для определения микроэлементов и следов тяжелых металлов в продуктах. При этом возможно одновременное определение ряда элементов, например меди, свинца, олова и цинка.

В настоящее время развитие полярографических методов анализа происходит по трем направлениям:

- совершенствование методик классической полярографии;
- разработка методик переменного-токовой полярографии;
- усовершенствование инверсионной вольтамперометрии.

Применение переменного тока в полярографии повышает разрешающую способность метода, увеличивает чувствительность и точность.

Полярографическая установка состоит из измерительной ячейки, включающей сосуд с анализируемым раствором и два электрода, источника поляризующего напряжения, регулятора и измерителя силы тока. Один из электродов представляет собой капли ртути, непрерывно капающие из капилляра с постоянной частотой, благодаря чему поверхность электрода непрерывно обновляется. При постоянной скорости образования капель обеспечивается хорошая воспроизводимость результатов измерений. В качестве второго электрода служит слой ртути на дне ячейки.

Вольтамперную характеристику получают, измеряя силу тока при установлении различных значений напряжений. На рис. 5.1 показана типичная полярограмма однокомпонентного (а) и трехкомпонентного (б) растворов. Мерой концентрации является высота волны, т. е. разность предельной и остаточной силы тока I .

а

б

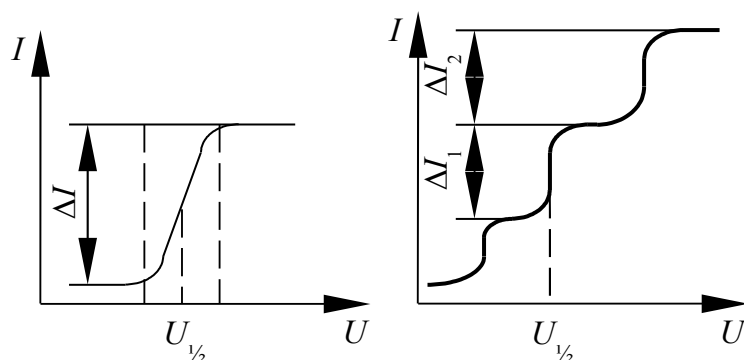


Рис. 5.1. Типичные полярограммы:
 а – однокомпонентного раствора;
 б – трехкомпонентного раствора

Напряжение $U_{1/2}$, соответствующее средней точке волны, характеризует природу вещества. Таким образом, полярограмма содержит полную информацию о характере и количестве вещества. На практике не удастся использовать расчетным путем зависимость между высотой волны и концентрацией из-за влияния ряда факторов: скорости диффузии анализируемого вещества в растворе, температуры, параметров капилляра и др. Поэтому анализ проводят сравнением высоты волны в растворе неизвестной концентрации с высотой волны в стандартном растворе. Применяют также способ, при котором рассчитывают концентрацию по приращению высоты полярограммы анализируемого раствора после добавления в него известного количества исследуемого вещества.

Методы полярографического анализа разработаны почти для всех элементов Периодической системы. Все больше и больше этот метод внедряется в практику анализа органических веществ, металлургию. Его используют для анализа лекарственных веществ, полимеров, для определения следов ядохимикатов на растениях и в продуктах питания.

Тщательное соблюдение условий эксперимента, достаточно строгий контроль температуры и аккуратность при построении графика позволяют добиться погрешности измерений не более 2 %.

5.4. Потенциометрический метод

Потенциометрический метод основан на измерении разности потенциалов электродов, зависящих от концентрации в электролите анализируемого вещества.

Если в раствор, содержащий окисленную и восстановленную формы одного и того же вещества, например двух-, трехвалентного железа, опустить электрод из благородного металла (платины, золота), то электрод приобретет потенциал, характерный для данного иона. Это явление объясняется следующим. Ионы, находящиеся в растворе, попадая на электрод, способны отдать ему или принять от него электроны. При этом на поверхности электрода создается двойной электрический слой, электрод заряжается положительно или отрицательно. Значение и знак потенциала определяются концентрацией и природой ионов. Вообще говоря, потенциал электрода складывается из целого ряда частных гальванических потенциалов. Сами по себе эти потенциалы измерить невозможно. Однако, когда два электрода соединены в электрическую цепь, можно измерить потенциал как сумму частных потенциалов. В потенциометрической измерительной цепи один из электродов является измерительным, второй – электродом сравнения. На первом формируется потенциал, однозначно характеризующий химическое состояние электролита, которое может быть выражено активностью или концентрацией какого-либо иона. Электрод сравнения, в отличие от измерительного, имеет потенциал, совершенно независимый от состава электролита (электрод сравнения отделен от измеряемой среды мембраной).

Для того чтобы сравнивать между собой потенциалы различных электродов, за нуль приняли потенциал водородного электрода, представляющего собой платиновую пластинку, опущенную в раствор с активностью ионов водорода, равной единице, и обдуваемую газообразным водородом под давлением 0,1 МПа. Сам водородный электрод для практического использования неудобен. Его применяют лишь в метрологических целях для установления потенциалов стандартных электродов сравнения.

Потенциометрический метод позволяет измерять концентрацию или активность конкретного иона. Для этого применяют так называемые ионоселективные электроды. В связи с этим становится более употребляемым термин «ионометрия», который полнее отражает физическую сущность данного метода анализа.

Конструкции электродов будут рассмотрены далее на примере анализа концентрации ионов водорода, как наиболее распространенной и разработанной области ионометрии. Ионоселективные

электроды представляют собой электрохимические полуэлементы, для которых разность потенциалов на границе раздела фаз «электродный материал–электролит» зависит от активности определяемого иона в растворе. Для изготовления этих электродов в твердый материал вводят нерастворимое соединение, содержащее ионы, которые нужно определять. Например, электрод на ионы брома можно получить в ходе полимеризации силикатной резины при наличии эквивалентной массы бромида серебра. Смесь после затвердения запрессовывают в нижнюю часть стеклянной трубки. Эта твердая смесь поглощает преимущественно ионы, которые входят в ее состав.

Механизм действия ионоселективных электродов состоит в следующем. При погружении электрода в раствор электролита устанавливается равновесие на границе «электрод–электролит» и имеет место равенство электрохимических потенциалов ионов металла в твердой фазе и растворе. Каждый ионит (так называют нерастворимые неорганические и органические высокомолекулярные соединения, содержащие активные ионогенные группы) обладает фиксированным положительным или отрицательным зарядом. Этот заряд компенсируется зарядом ионов противоположного знака (так называемым противоионом). Последние подвижны внутри ионита и могут замещаться другими ионами того же заряда. При контакте ионита с раствором электролита, ионный состав или концентрация которого отличаются от аналогичной величины в ионите, будет наблюдаться обменная диффузия подвижных ионов в системе в направлении уменьшения градиента концентраций. Вследствие разности подвижности ионов в первый момент имеет место нарушение электронейтральности в ионите, приводящее к возникновению электростатического заряда. Это, в свою очередь, вызывает появление пространственного заряда в растворе электролита. Возникающая на границе раздела фаз «ионит–раствор» разность потенциалов зависит от индивидуальной активности ионов.

Приборная реализация потенциометрического метода и характерные погрешности будут рассмотрены на примере измерения активности ионов водорода.

В настоящее время в промышленности освоен выпуск ионоселективных электродов более чем на 50 ионов. Часть из них приведена в табл. 5.1.

Ионоселективные электроды

Определяемый ион	Рабочий диапазон, моль/дм ³	Нижний предел обнаружения, мг/дм ³	Допустимый диапазон рН	Исполнение
K ⁺	5·10 ⁻⁵ –5·10 ⁻¹	0,4	1–10	П
Ca ²⁺	1·10 ⁻⁵ –2·10 ⁻¹	2,30	3–10	П
Ba ²⁺	5·10 ⁻⁵ –5·10 ⁻¹	1,40	1–10	П
NO ₃ ⁻	1·10 ⁻⁵ –5·10 ⁻¹	1,30	1–10	П
CO ₄ ⁻	5·10 ⁻⁵ –2·10 ⁻¹	1,00	1–10	П
CO ₃ ²⁻	5·10 ⁻⁵ –5·10 ⁻¹	0,60	6–9	П
Ca ²⁺ Mg ²⁺	5·10 ⁻⁵ –2·10 ⁻¹	0,01 мгэкв/л	4–10	П
NH ₄	5·10 ⁻⁵ –2·10 ⁻¹	0,20	1–9	П
Анионные ПАВ	1·10 ⁻⁵ – насыщ.	0	1–10	П
F ⁻	3·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,060	4–7	К
Cl ⁻	5·10 ⁻⁵ –1·10 ⁻¹	0,350	0–13	К
Br ⁻	5·10 ⁻⁵ –1·10 ⁻¹	0,400	0–13	К
I ⁻	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,060	0–13	К
CN ⁻	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻²	0,030	12–14	К
CNS ⁻	1·10 ⁻⁵ –1·10 ⁻¹	0,600	2–10	К
S ²⁻	3·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,003	3–14	К, X
Ag ⁺	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,010	0–9	К, X
Hg ²⁺	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,20; 0,02	0–2	К, X
Pb ²⁺	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,200	1–11	X
Fe ³⁺	1·10 ⁻⁵ –1·10 ⁻²	0,600	0–2	X
Cr ⁶⁺	1·10 ⁻⁷ –1·10 ⁻⁴	0,006	0–2	X
Cu ²⁺	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,006	0–7	К, X
Pb ²⁺	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,20; 0,02	2–7	К, X
Cd ²⁺	1·10 ⁻⁶ –1·10 ⁻¹	0,10; 0,01	1–7	К, X

В табл. 5.1 введены следующие обозначения: П – пленочные электроды: электроды с поливинилхлоридной пленочной мембраной; К – кристаллические электроды: быстродействующие электроды с продолжительным рабочим ресурсом и стабильными характеристиками; X – халькогенидные стеклянные электроды: оригинальные электроды со сферическими мембранами на основе халькогенидных стекол, они являются химически и коррозионно-устойчивыми в агрессивных средах и при высоких (до 1000 °С) значениях температуры.

Схема потенциометрической установки показана на рис. 5.2.

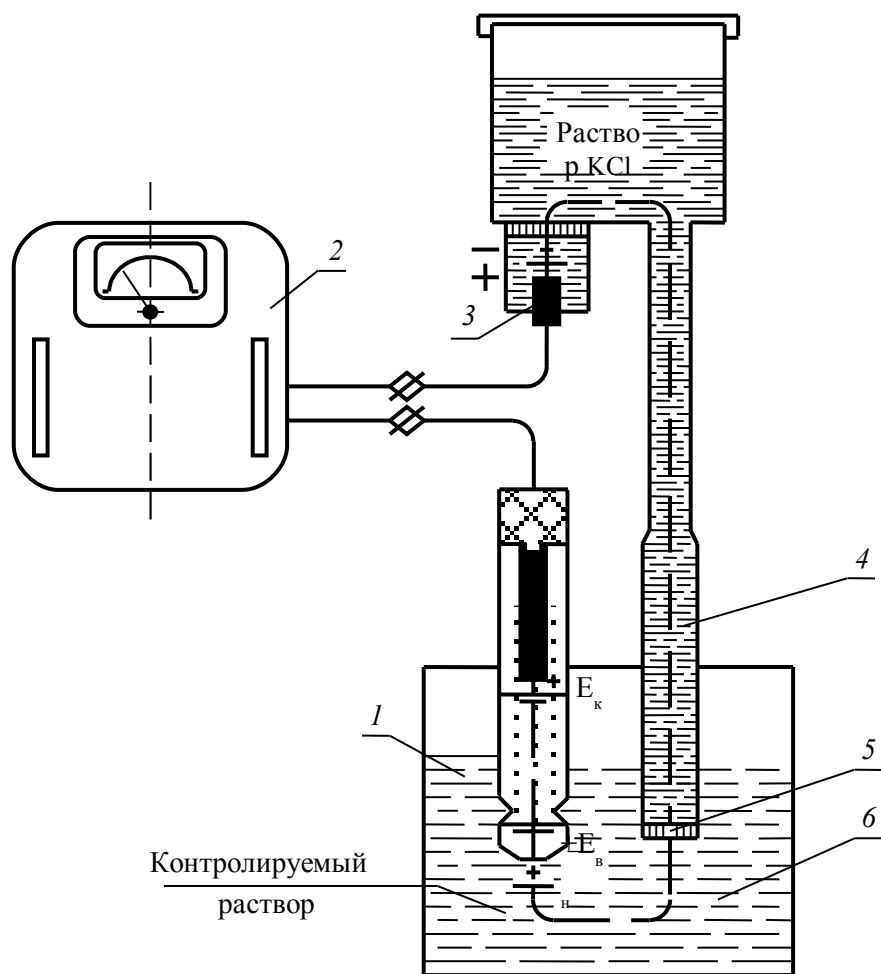


Рис. 5.2. Схема потенциметрической установки:
 1 – стеклянный измерительный электрод; 2 – потенциометр;
 3 – вспомогательный электрод; 4 – электролитический контакт;
 5 – мембрана; 6 – анализируемый раствор

5.5. Измерение рН жидкостей

В ряде растворов вещества распадаются (диссоциируют) на ионы. Благодаря этому на электродах, опущенных в такой раствор, называемый электролитом, образуется потенциал, значение которого зависит от природы образующихся ионов и от их концентрации или активности в растворе. Это свойство используется для измерения содержания анализируемых веществ. Наибольшее распространение потенциометрический метод получил для измерения концентрации водородных ионов. Образование и растворение большей части осадков, как, например, сульфидов, карбонатов, фосфатов, зависит от концентрации водородных ионов. Многие процессы окисления и восстановления (в частности, биохимические) как неорганических, так и органических веществ нередко совершенно меняют свое направление при изменении концентрации водородных ионов. Коррозия металлов и образование защитных пленок также сильно зависят от кислотности или щелочности растворов, которые и характеризуются концентрацией этих ионов. В производстве соды и других минеральных солей, при флотационном обогащении руд, в пищевой промышленности, при дублении кожи, крашении тканей и в прочих производствах для правильной постановки технологического процесса также требуется учитывать влияние концентрации водородных ионов и уметь их определять.

На практике концентрацию водородных ионов принято выражать водородным показателем рН, значения которого характеризуют кислотные или щелочные свойства раствора. Понятие «рН» впервые было введено датским химиком Соренсеном и обозначает: р (начальная буква датского слова *Potenz*) – степень, Н – химический символ водорода. Физическое содержание этой величины состоит в следующем. В водных растворах веществ растворитель – чистая вода является химически нейтральным соединением. Она, хотя и очень слабо, диссоциирует (распадается) на катионы (положительно заряженные ионы) водорода (H^+) и анионы (отрицательно заряженные ионы) гидроксила (OH^-) по схеме: $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$. Концентрации диссоциированных ионов водорода и гидроксила в чистой воде одинаковы и равны 10^{-7} моль/л. Их произведение $K_{\text{H}_2\text{O}} = \text{H}^+ \cdot \text{OH}^- = 10^{-14}$ называется ионным произведением. Вода, а также все растворы, в которых

концентрации водородных и гидроксильных ионов одинаковы и равны каждой 10^{-7} моль/л, называются нейтральными растворами. Преобладание в растворе кислоты и щелочи приводит к возрастанию, соответственно, концентрации водородных или гидроксильных ионов. Однако во всех случаях их произведение остается постоянным. Это значит, что если указать только концентрацию водородных (или гидроксильных) ионов в каком-либо растворе, то тем самым будет определена концентрация другого иона. Поэтому как степень кислотности, так и степень щелочности растворов можно количественно характеризовать концентрацией водородных ионов. Для этого вместо абсолютной концентрации водородных ионов используют ее логарифм, взятый с обратным знаком, который называют водородным показателем и обозначают рН: $\text{pH} = -\lg(\text{H}^+)$. Например, если $\text{H}^+ = 10^{-5}$, то $\text{pH} = 5$.

Для нейтрального раствора $\text{pH} = 7$. Если $\text{pH} > 7$, раствор обладает щелочными свойствами, и тем более сильными, чем выше значение рН; если $\text{pH} < 7$, раствор имеет кислые свойства, и тем более сильные, чем меньше значение рН. Это позволило построить условную шкалу рН. По ГОСТ 8.134 шкала рН основана на приписывании и дальнейшем воспроизведении определенных значений рН пяти растворов буферных веществ. В стандарте приведены их значения рН в интервале температур от 0 до 150 °С. Шкала рН обладает внутренней согласованностью, т. е. экспериментально измеренное значение рН не зависит от того, какой из растворов был выбран в качестве стандартного. Примерно такой же набор первичных стандартных растворов используется и в других странах.

Известны два основных метода измерения рН – колориметрический (индикаторный) и электрометрический (потенциометрический). Первый из них основан на использовании свойств некоторых веществ (так называемых индикаторов) менять свою окраску в зависимости от значения рН контролируемого раствора. Наиболее употребляемые из них приведены в табл. 5.2.

Индикаторы

Индикатор	Окраска раствора в среде		
	кислой	нейтральной	щелочной
Лакмус	Красная	Фиолетовая	Синяя
Фенолфталеин	Бесцветная	Бесцветная	Малиновая
Метилоранж	Розовая	Оранжевая	Желтая

Электрометрический способ измерения рН основан на теоретических предположениях. Значение потенциала, возникающего на электродах, опущенных в электролит, и его знак зависят от природы металла электродов и растворителя, концентрации катионов в растворе и определяется по уравнению, вытекающему из закона Нерста:

$$E = E_0 + \ln C \cdot RT/nF, \quad (5.2)$$

где E_0 – потенциал электрода; C – концентрация катионов металлов в растворе; R – универсальная газовая постоянная; T – абсолютная температура раствора; n – валентность металла; $F = 96485$ – число Фарадея.

Для измерения электродного потенциала ячейки составляют гальваническую цепь, состоящую из опущенных в электролит измерительного и сравнительного электродов, соединенных внешней цепью. В этом случае уравнение (5.2) принимает вид

$$E_{\text{яч}} = E_{\text{и}} + E_{\text{ср}} + \ln C \cdot RT/nF, \quad (5.3)$$

где $E_{\text{и}}$ – нормальный потенциал измерительного электрода; $E_{\text{ср}}$ – потенциал сравнительного электрода.

Электрод сравнения – это в основном электрод второго рода. Наиболее распространенными из этой группы являются каломельные электроды (рис. 5.3, а). Он состоит из смеси 2 металлической ртути и твердого хлорида ртути (каломель), находящейся в контакте и в равновесии с насыщенным водным раствором хлорида калия 4 через отверстие 3, платинового электрода 1 и асбестовой ткани 5.

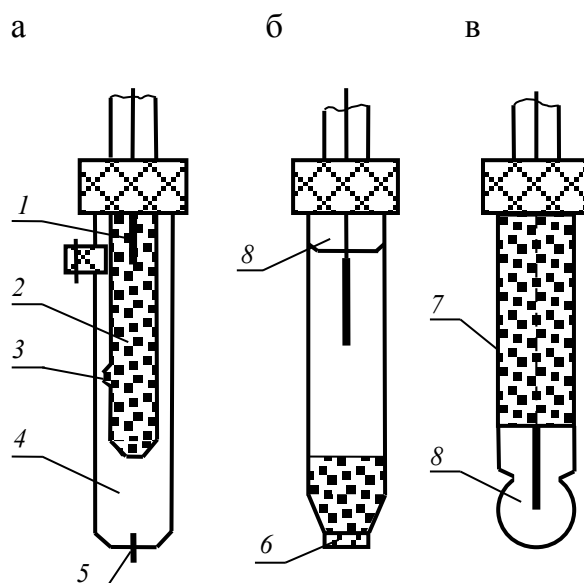


Рис. 5.3. Варианты потенциометрических стеклянных электродов:
 а – каломельный; б – хлорсеребряный; в – стеклянный;
 1 – платиновый электрод; 2 – смесь металлической ртути и твердого хлорида ртути (каломель); 3 – отверстие; 4 – насыщенный раствор хлорида калия;
 5 – асбестовая ткань; 6 – диск из оплавленного стекла;
 7 – стеклянная трубка; 8 – чувствительная мембрана

Другим важным электродом сравнения является хлорсеребряный электрод (см. рис. 5.3, б). Он представляет собой аналог каломельного электрода, за исключением того, что вместо ртути и хлорида ртути в нем находятся серебро и хлорид серебра, а асбестовая ткань заменена на диск из оплавленного стекла б. Из измерительных наиболее распространены стеклянные электроды (см. рис. 5.3, в). Это объясняется их большими метрологическими, конструктивными, эксплуатационными преимуществами перед другими электродами. Электрод представляет собой трубку 7 из обычного стекла, на конце которой напаяна чувствительная мембрана 8 (плоская, конусообразная или сферическая) из специального электродного стекла. Мембрана выполняет функцию одновременно двух электродов, аналогичных водородному: наружного, соприкасающегося с контролируемым раствором, и внутреннего, соприкасающегося с раствором, имеющим известный состав и постоянное значение рН. Контакт между обоими электродами осуществляется через мембрану, обладающую высоким электрическим сопротивлением, значение которого зависит от поверхности, толщины, химического состава стекла и температуры.

Таким образом, потенциал стеклянного электрода является алгебраической суммой потенциалов внутренней и наружной поверх-ностей измерительной мембраны. Для измерения необходимо рН раствора с какой-либо стороны мембраны поддерживать строго постоянным. В этом случае суммарный потенциал стеклянного электрода будет являться функцией рН второго, контролируемого раствора.

Основными достоинствами стеклянных электродов являются простота в работе, быстрое установление равновесия и возможность определения рН в окислительно-восстановительной среде. К недостаткам относят хрупкость их конструкций и усложнение работы при переходе к сильнощелочным и сильнокислотным растворам.

Для обеспечения механической прочности электродов, особенно при использовании в производственных условиях, их армируют, для чего применяют различные конструкции (в зависимости от решаемой задачи) из полимерных материалов или коррозионно-стойкой стали.

В случае работы с растворами, вызывающими образование на электродах мешающих осадков, необходимо обеспечить механическую очистку. Это может быть сделано протиранием мягкими щетками или упругими скребками, приводимыми в движение электро- или пневмоприводом. Опасность замасливания стеклянной мембраны может быть устранена ультразвуком, который одновременно предотвращает и отложение осадков.

В особых условиях, в частности при измерениях в вязких средах с одновременным перемешиванием или при больших скоростях потока, конструкция измерительного датчика должна быть весьма прочной. На практике это достигается тем, что вместо стеклянного электрода используют слой эмали, чувствительной к рН. Такие покрытия наплавляют на стальную трубу.

При измерении ЭДС гальванического элемента через элемент практически не должен протекать ток, так как его прохождение вносит две погрешности в значение ЭДС:

- вследствие изменения концентрации потенциалопределяющих частиц у поверхности каждого электрода;
- вследствие того, что каждый элемент обладает внутренним сопротивлением и на нем происходит падение напряжения, которое

в зависимости от направления тока либо уменьшает, либо увеличивает ЭДС системы.

Наиболее удовлетворительные результаты дают измерения с помощью потенциометра. Воспроизводимость любого такого измерения зависит в основном от чувствительности, с которой известную переменную ЭДС можно компенсировать ЭДС гальванического элемента. Эта чувствительность определяется прибором, применяемым для обнаружения очень слабых токов, которые текут через цепь, когда две противоположно направленные ЭДС недостаточно компенсированы. рН-метр прямого отсчета, по существу, представляет собой вольтметр с высоким входным сопротивлением, измеряющий ЭДС гальванического элемента и преобразующий ее в пропорциональный ей ток, который проходит через амперметр. Шкала такого амперметра градуирована непосредственно в единицах рН.

рН-метр (потенциометрический или с нуль-прибором) состоит из цепи, примерно аналогичной примененной в обычном потенциометре, за исключением того, что гальванометр заменен полупроводниковым усилителем. В результате этого при потенциометрическом компенсировании можно легко обнаружить токи менее 10^{-12} А.

Погрешность рН-метров прямого отсчета обычно составляет до $\pm 0,1$ рН, а рН-метры с нуль-прибором обеспечивают погрешность измерения $0,01-0,02$ рН, поэтому они предпочтительны для точных измерений.

В практике измерений составляют гальванический элемент из стеклянного измерительного и каломельного сравнительного электродов. Для такой системы суммарная ЭДС связана с рН раствора соотношением

$$E = E_0 + 0,059 \text{ рН}, \quad (5.4)$$

где E_0 определяется составом гальванического элемента. Его значение находят экспериментальным путем для каждой измерительной ячейки с помощью стандартного раствора, называемого буферным.

Если последовательно в одной ячейке измерить значения ЭДС со стандартным буфером E_c и с неизвестным раствором E_x , то на основании предыдущего соотношения получим

$$\text{pH}_x = \text{pH}_c + 16,95 (E_x - E_c). \quad (5.5)$$

Данное определение принято в качестве инструментального определения pH. Чтобы оно было действительно правильным, значение E_0 должно быть постоянным. Для этого на практике следует подбирать pH стандартного буфера как можно ближе к pH неизвестной пробы. Например, если неизвестный раствор имеет pH, близкий к четырем, то предпочтительно в качестве стандартного буферного раствора использовать бифталат калия ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) с $\text{pH} = 4,01$ при 25°C . В конечном счете точность измерения pH определяется постоянством параметра E_0 . Для оптимальных условий, когда значения pH стандартного буфера и раствора неизвестной пробы идентичны, погрешность измерения pH неизвестного раствора может составить приблизительно $\pm 0,02$ pH.

Стеклянный мембранный электрод обычно менее чувствителен к помехам по сравнению с другими электродами, однако он обладает некоторыми особенностями, которые ограничивают его применение в определенных средах. Так, в растворах, содержащих высокие концентрации ионов щелочных металлов, стеклянный мембранный электрод имеет так называемую щелочную погрешность. Эта погрешность возникает из-за того, что катионы, в особенности ион натрия и в меньшей степени ионы лития и калия, конкурируют с ионами водорода за ионообменные центры на поверхности внешнего гидратированного гелевого слоя, в результате чего изменяется потенциал на поверхности раздела фаз на величину, называемую, диффузионным потенциалом.

Значения жидкостных диффузионных потенциалов в зависимости от зарядов, подвижности и концентрации ионов, а также природы растворителя по каждой стороне от поверхности раздела изменяются в широких пределах. Кроме того, во многих гальванических элементах, используемых в анализе, состав растворов по каждую сторону от поверхности раздела жидкостей отличается настолько, что значение жидкостного диффузионного потенциала нельзя предсказать. В лучшем случае, когда два контактирующих слоя довольно схожи по составу и концентрации, жидкостный диффузионный потенциал будет составлять 1–2 мВ, т. е. значение, которое серьезно влияет на правильность результатов, полученных прямым измерением. Часто диффузионный потенциал

достигает 10 мВ и более. Его наличие и неизвестность значения жидкостных диффузионных потенциалов являются одними из основных препятствий в использовании прямой потенциометрии для аналитических целей.

Для уменьшения жидкостного диффузионного потенциала до приемлемого уровня между растворами обычно помещают солевой мостик, содержащий насыщенный раствор хлорида калия, потому что ионы калия и хлора имеют близкую подвижность и проявляют тенденцию к мигрированию через жидкостные соединения почти с одинаковыми скоростями. Однако этот прием успешен только тогда, когда концентрации всех других ионных частиц у поверхности раздела растворов малы по сравнению с концентрацией хлорида калия, иначе жидкостные диффузионные потенциалы будут оставаться сравнительно большими.

В большинстве случаев при использовании прямой потенциометрии для аналитических целей применяют эмпирическую калибровку, которая сводит к минимуму погрешности, возникающие из-за ненадежности определения потенциала электрода сравнения и жидкостных диффузионных потенциалов.

5.6. Ионметрия

Потенциометрический анализ с использованием ионоселективных электродов (ИСЭ) называется ионметрией. Методы анализа с применением ИСЭ включают в себя прямую потенциометрию, потенциометрическое титрование, метод стандартных добавок, анализ в потоке проб. Ионоселективный электрод – это электрохимический датчик на основе мембраны, потенциал которой служит мерой активности определяемого поля. Мембраны ИСЭ представляют собой растворы электролитов либо твердые или стекловидные электролиты. Разность потенциалов по обе стороны мембраны линейно зависит от логарифма активности определенного ионного компонента в соответствии с уравнением Нернста.

Ионоселективные электроды имеют следующие достоинства:

- они не оказывают воздействия на исследуемый раствор;
- имеют малые размеры;
- пригодны как для прямых определений, так и в качестве индикаторов в титрометрии;
- недороги.

Необходимость анализа биологических объектов, в том числе на клеточном уровне, обусловила важность конструирования и изготовления микроэлектродов, эквивалентные параметры резонансного измерительного контура. Различают три типа ионоселективных мик-роэлектродов (ИСМ):

- стеклянные;
- твердые мембранные ПСМ (для определения хлоридионов);
- жидкостные мембранные (для определения ионов калия, хлора и кальция).

В последнее время интенсивно развивается ионометрия, основанная на использовании ферментов и бактерий, предназначенных для проведения реакций; в результате реакций образуются ионы, к которым чувствителен данный ПСЭ. Дальнейший прогресс в развитии ионометрии связан:

- с разработкой надежных методов для определения ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , CO_3^{2-} , HCO_2^- , Cl^- ;
- более широким применением ионоселективных микроэлектродов.

Разновидностью ионоселективных электродов являются ферментные электроды. В них активный ферментный слой либо непосредственно иммобилизован в ионоселективном электроде, либо располагается в проточной системе. Во втором случае необходимо, чтобы исследуемый раствор вначале соприкасался со слоем иммобилизованного фермента, затем образующийся продукт реакции определяют с помощью проточного ионоселективного электрода. Такое биологическое измерительное устройство называется ферментным реактором. Первым из предложенных и до сих пор наиболее важным потенциометрическим ферментным электродом является электрод, чувствительный к мочеvine.

5.7. Основы капиллярного электрофореза

Метод капиллярного электрофореза (КЭФ) появился сравнительно недавно. Он основан на разделении компонентов сложной смеси в кварцевом капилляре под действием приложенного электрического поля. Микрообъем анализируемого раствора (около 2 нл) вводят в капилляр, предварительно заполненный подходящим буфером – электролитом. При подаче к концам капилляра высокого напряжения (до 30 кВ) компоненты смеси начинают двигаться по

капил-ляру с разной скоростью, зависящей в первую очередь от заряда и массы (точнее – от значения ионного радиуса), в разное время до-стигают зоны детектирования. На полученной электрофорезграмме последовательность пиков фиксирует качественную характеристику вещества (время миграции) и количественную (как в хроматограмме, высота или площадь пика, пропорциональная концентрации вещества).

Для более подробного представления о сущности метода рассмотрим процессы, происходящие в капилляре, заполненном электро-литом и помещенном в продольное электрическое поле.

Плавленный кварц несет на своей поверхности почти исключительно силосановые группы $> Si = O$. При контакте с водой они подвергаются гидролизу и образуют силанольные группы $> Si$, которые затем гидратируются. Скорость и степень гидролиза зависят от температуры и состава водного раствора, в частности от значения рН. Кислотные свойства поверхностных силанольных групп характеризуются константой диссоциации: $K_1 = 4 \cdot 10^{-3}$, поэтому при $pH > 2,5$ на поверхности находятся в большем или меньшем количестве диссоциированные силанольные группы, которые придают ей отри-цательный заряд. При $pH < 2$ диссоциация силанольных групп прак-тически полностью подавлена и поверхность становится нейтральной.

На границе раздела кварц–водный раствор электролита возникает так называемый «двойной электрический слой» (ДЭС). Его обкладку составляют отрицательно заряженные гидратированные силанольные группы. В приповерхностном слое электролита к отри-цательно заряженной поверхности кварца примыкают гидратированные катионы, которые образуют вторую обкладку двойного слоя. Из-за мощного электростатического взаимодействия с поверхностью часть катионов, так же как и силанольные группы, частично теряют гидратирующую воду, в результате чего первый слой катионов, непо-средственно контактирующий с поверхностью, становится весьма малоподвижным. Остальная часть нейтрализующих заряд поверхнос-ти катионов распространяется в толщу раствора, образуя так назы-ваемую диффузную часть второй обкладки двойного слоя. Распре-деление катионов между неподвижным и диффузным слоями, а следовательно, и толщина двойного слоя, зависят в первую очередь от общей концентрации электролита в растворе. Чем она больше, тем большая часть положительного заряда диффузного слоя

перемещается в неподвижный слой и тем меньшей становится толщина диффузного слоя. При концентрации бинарного однозарядного электролита 10^{-4} – 10^{-3} М толщина двойного электрического слоя составляет в среднем 30–50 мкм. Таким образом, при диаметре внутреннего канала 50–100 мкм практически вся жидкость, заполняющая капилляр, представляет собой диффузную часть двойного электрического слоя.

При наложении электрического поля, направленного вдоль канала капилляра, в нем возникает встречное движение носителей электрических зарядов, в том числе ионов. Так как в диффузной части двойного электрического слоя присутствует некоторая избыточная концентрация катионов, их движение увлекает за собой (вследствие молекулярного сцепления и трения) всю массу жидкости в капилляре. Возникает так называемый *электроосмотический поток* (ЭОП), направленный к катоду, который осуществляет пассивный перенос раствора внутри капилляра. Скорость ЭОП в сильной степени зависит от рН раствора: в слабокислых растворах она отсутствует или незначительна, а в нейтральных и щелочных она возрастает до максимально возможной. С другой стороны, скорость электроосмотического потока зависит от концентрации электролитов в ведущем буфере: чем больше концентрация электролитов, тем меньшая часть катионов ДЭС остается в диффузионном слое и, соответственно, уменьшается максимально возможная скорость электроосмотического потока. Наряду с этим под действием электрического поля в капилляре имеют место так называемая «электрическая подвижность ионов» и электрофоретическая подвижность других заряженных частиц. Эта сложная комбинация различных по природе и свойствам процессов, происходящих в капилляре при наложении электрического поля, используемая для аналитических целей; она получила название метода капиллярного электрофореза.

Минимально система, реализующая принципы электрофоретического разделения, должна иметь следующие узлы: кварцевый капилляр, источник высокого напряжения, устройство ввода пробы, детектор и систему вывода информации (рис. 5.4).

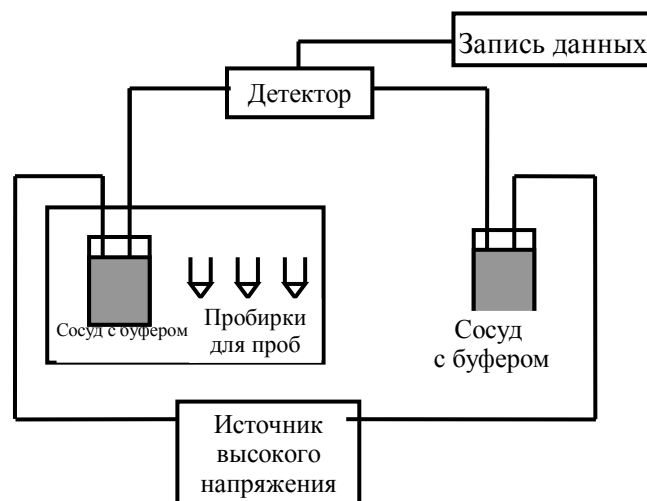


Рис. 5.4. Устройство системы капиллярного электрофореза

Системы капиллярного электрофореза:

- как правило, используют кварцевые капилляры с внешним полиамидным защитным покрытием: внутренний диаметр 50–75 мкм, внешний – 365 мкм, общая длина 30–100 см;

- для разделения используют положительные и отрицательные напряжения до 30 кВ;

- для ввода пробы применяют избыточное давление (гидродинамический способ) или высокое напряжение (электрокинетический способ). Объем вводимой в капилляр пробы составляет несколько нанолитров;

- для регистрации электрофореграмм чаще всего используют УФ-детектирование непосредственно в капилляре, в прямом и косвенном вариантах.

В приборе, реализующем метод капиллярного электрофореза, капилляр, заполненный раствором электролита, своими концами опущен в два содержащих тот же электролит сосуда, в которые введены электроды. Электролит обязательно должен обладать буферными свойствами, чтобы, с одной стороны, воспрепятствовать изменению состава раствора в приэлектродных пространствах, а с другой – стабилизировать состояние компонентов пробы в процессе анализа.

Для регистрации сигналов в системе капиллярного электрофореза используют фотометрическое детектирование с фиксированной или переменной длиной волны.

Дополнительные устройства позволяют автоматизировать по-

дачу образцов (автосамплер), осуществлять отвод тепла от капилляра (системы охлаждения капилляра) и управлять прибором, а также собирать и обрабатывать полученные данные с помощью програм-мных продуктов.

При подаче на электроды высокого напряжения в капилляре быстро устанавливается стационарное состояние; при данном состоянии через капилляр протекает постоянный электроосмотический по-ток, на который накладывается взаимно противоположная электро-миграция катионов и анионов. Если в капилляр со стороны анода (положительного электрода) ввести небольшой объем раствора пробы, то ЭОП будет переносить эту зону к катоду и зона некоторое время будет находиться в капилляре под воздействием электриче-ского поля высокого напряжения. В течение этого времени компо-ненты пробы, имеющие заряды и отличающиеся от компонентов ведущего электролита, будут перемещаться в соответствии с их электрической подвижностью, специфичной для каждого компонента. Катионные компоненты пробы, двигаясь к катоду, будут обгонять электроосмотический поток. Скорость их движения будет склады-ваться из скорости ЭОП и скорости электромиграции, поэтому на вы-ходе капилляра катионные компоненты будут появляться первыми, и тем раньше, чем больше электрическая подвижность данного иона. Нейтральные компоненты пробы будут перемещаться только под действием ЭОП и появятся на выходе, когда его достигнет зона пробы. Анионные компоненты, перемещаясь к аноду, будут двигаться с меньшими скоростями, чем скорость ЭОП. Некоторые из них, медленно мигрирующие, будут появляться на выходе после выхода ЭОП, а те, чья скорость электромиграции по абсолютной величине превышает скорость ЭОП, вообще будут выходить из капилляра в прианодное пространство.

Если время нахождения пробы в капилляре, которое можно регулировать скоростью ЭОП, напряжением или геометрическими характеристиками капилляра, достаточно, то на выходе капилляра вблизи катода можно фиксировать зоны раствора, в которых находятся индивидуальные компоненты пробы. Если тем или иным спосо-бом зарегистрировать изменение концентрации компонентов на вы-ходе из капилляра, то полученная запись называется электрофо-реграммой и может служить основой для качественного и количе-ственного анализа смеси.

Вариант зонного капиллярного электрофореза позволяет анализировать компоненты, которые в условиях проведения анализа находятся в форме катионов или анионов. Однако техника капиллярного электрофореза может применяться и для анализа нейтральных молекулярных форм веществ вследствие различного распределения аналитов между водным раствором буфера и псевдостационарной мицеллярной фазой. Этот вариант носит название мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ). Данный принцип разделения роднит МЭКХ с обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ).

Традиционно КЭФ сравнивают с ВЭЖХ, поскольку в обоих методах разделение происходит в ограниченном пространстве (колонке или капилляре) с участием движущейся жидкой фазы и для детектирования используются аналогичные принципы. Преимуществами КЭФ над ВЭЖХ являются:

- высокая эффективность разделения, недоступная ВЭЖХ и связанная с плоским профилем электроосмотического потока;
- малый расход реактивов, при этом практически не требуется применение дорогостоящих высокочистых растворителей: ацетонитрила, метанола, гексана;
- отсутствие дорогостоящих хроматографических колонок и, следовательно, проблем со «старением» сорбента и заменой колонок при выработанном ресурсе;
- отсутствие прецизионных дорогостоящих насосов высокого давления, необходимых для ВЭЖХ;
- простота аппаратного оформления;
- экспрессность анализа.

Из недостатков КЭФ нужно отметить ограниченное применение метода для образцов, плохо растворяющихся в водных или разбавленных водно-спиртовых растворах; кроме того, невысокую чувствительность при регистрации сигнала в капилляре из-за малой длины оптического пути.

Примером применения КЭФ является анализ консервантов, неорганических катионов и анионов.

В безалкогольных и слабоалкогольных напитках в качестве консервирующих добавок используют бензоат натрия и сорбиновую кислоту. В данных продуктах также можно определять аскорбиновую кислоту (антиоксидант и витаминизирующую добавку) и кофеин. Анионы бензойной, сорбиновой и аскорбиновой

кислот определяются практически в тех же условиях, что и в методике поверки, т. е. на приборе положительной полярности в виде анионов, выходящих после системного пика, в боратном буферном растворе при $\text{pH} = 8,6$.

На рис. 5.5 показан пример применения электрофореза для анализа консервантов, красителей, подсластителей и антиоксидантов методом мицеллярной электрокинетической хроматографии с использованием системы капиллярного электрофореза.

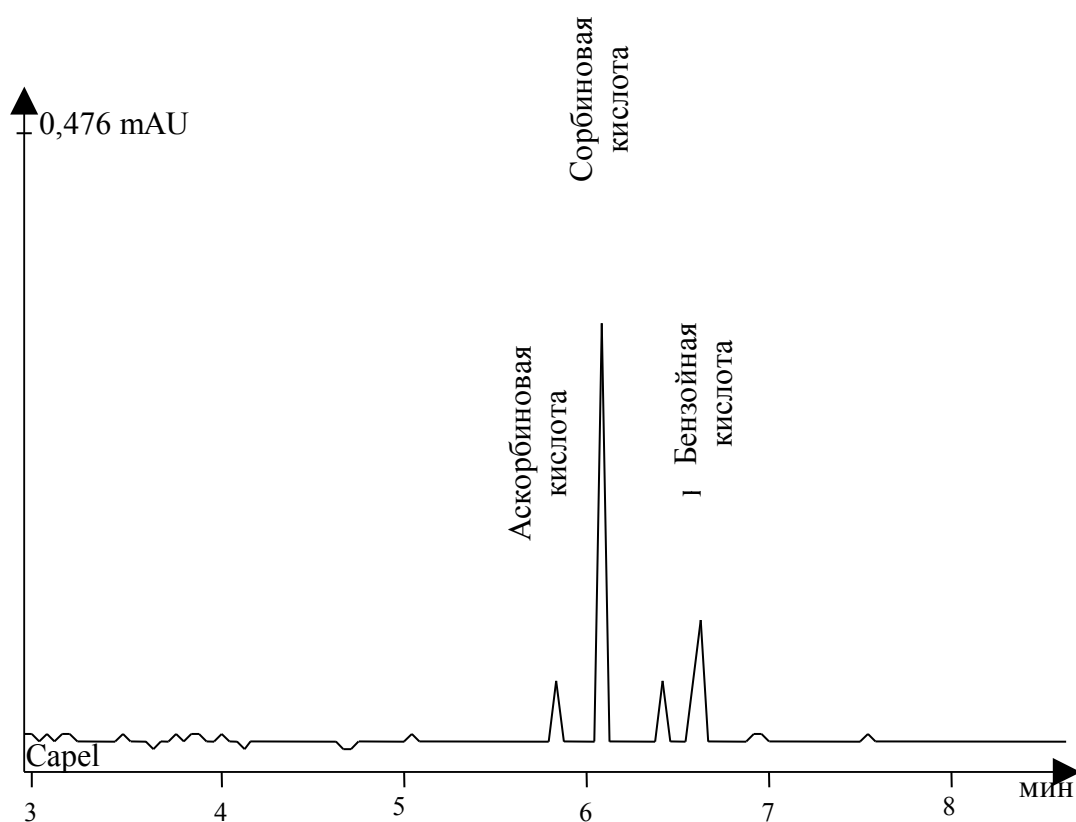


Рис. 5.5. Разделение консервантов (сорбиновой и бензойной кислот) и антиоксиданта (аскорбиновой кислоты) в безалкогольном напитке pH -бодного основания, которое может быть зарегистрировано в системном пике, так как кофеин сильно поглощает излучение при длине волны 254 нм.

Для определения неорганических катионов ряда щелочных и щелочноземельных металлов в приборе используется источник высокого напряжения положительной полярности. Катионы движутся к катоду в том же направлении, что и ЭОП, но быстрее его. Чтобы

зарегистрировать пики катионов, применяют косвенное детектирование.

При анализе природных вод на электрофореграмме могут наблюдаться дополнительные пики, принадлежащие другим катионам, в частности катионам двухвалентных марганца и железа. Пик марганца выходит вслед за пиком стронция, а пик железа – после пика кальция.

Для анализа неорганических анионов в приборе необходимо установить источник высокого напряжения отрицательной полярности, тогда электрод на входном конце капилляра будет катодом, а электрод выходного конца – анодом и анионы будут мигрировать в сторону выходного конца, т. е. к детектору.

Примеры использования электрических и электрохимических методов:

– известны примеры использования электропроводности как показателя качества молока. Обосновывается это тем, что в аномальном молоке увеличивается содержание хлоридов, которые на 75 % обуславливают электропроводность молока. Следовательно, повышенная электропроводность молока является показателем его аномальности;

– использование потенциометрии с ионоселективными электродами для определения Na и K в сточных водах, что позволяет упростить, ускорить и автоматизировать анализ сточных вод;

– для оценки качества овощей и фруктов предлагается измерять коэффициент индуцированной электрической проводимости – отношение проводимости после предварительно пропущенного через продукцию постоянного электрического микротока в прямом направлении к проводимости и в обратном направлении. Эта величина прямо пропорциональна сохранности, достоверно отражает физиологические и фитопатологические изменения задолго до видимых проявлений болезни. На основе эффекта индуцированной проводимости можно разработать коэффициент Лежко, создать автоматические индикаторы качества;

– применение вольтамперометрического метода, который позволяет одновременно в одной пробе анализировать микропримеси Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} и Zn^{2+} в пищевых продуктах. В качестве рабочего электрода вместо широко используемого ртутного предлагается применять ртутно-графитовый. В качестве фонового электролита используется ацетатный буферный раствор;

– предлагается использовать метод селективной электролитической флотации для очистки сточных вод от жиров. Жировые частицы прикрепляются к пузырькам по электростатическому механизму в соответствии с силами электрического притяжения (отталкивания). Процессом селективной электролитической флотации можно управлять, добавляя в сточную воду реагенты, влияющие на формирование электрического заряда частиц и пузырьков. Показано, что лучше использовать H_2 или O_2 , поверхности пузырьков которых всегда имеют определенный электрический заряд. Решающими факторами, от которых зависит процесс селективной электролитической флотации, являются рН и напряжение на электродах. Изучены оптимальные условия, в которых проявляются силы электростатического взаимодействия пузырьков и флотируемых частиц;

– использование установки для автоматического определения влажности зерна. Конструкция датчика: верхний и нижний электроды находятся в прессе с регулируемым давлением. Путем вращения, подъема и опускания электродов испытываемое зерно вдавливается, через него пропускается ток, измеряется сопротивление. Поскольку для пробы используется небольшое количество зерна, во избежание погрешности измерения, обусловленной неравномерным содержанием влаги в общем объеме зерна, оценку влажности производят путем усреднения результатов измерений;

– применение метода для определения содержания соли в сыре. Сущность данного метода заключается в получении суспензии сыра и определении ее электропроводности, обусловленной концентрацией водорастворимых солей, а также химическим составом продукта; диапазон измерения массовой доли составляет 5–7 %, абсолютная погрешность – 0,2 %;

– использование возможности метода электрофореза для оценки качества белково-сывороточного концентрата (контроль фракционного состава белков или количественного содержания и нативности в БСК);

– применение метода измерения влажности без отбора проб; он заключается в измерении диэлектрической проницаемости с помощью коаксиальной линии, к открытому концу которой подключается датчик, выполненный в виде расширяющегося отрезка

коаксиальной линии. Метод позволяет измерять влажность непосредственно в технологическом процессе.

6. МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ВЕЩЕСТВА И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

К данным методам относятся:

– абсорбционные – поглощение, отражение или пропускание падающего на вещество излучения: рентгеновская абсорбционная спектроскопия, атомно-абсорбционная спектрофотометрия, УФ-спектрофотометрия, фотометрия, ИК-спектрометрия;

– эмиссионные – методы, основанные на испускании исследуемым веществом излучений: атомная флуоресценция, люминесцентный анализ, рентгеновская флуоресценция, пламенная фотометрия, эмиссионная спектроскопия, оптические методы, радиометрические ЯМР, ЭПР, масс-спектрометрия.

6.1. Методы спектрального анализа. Спектроскопия

Спектроскопией называют методы, основанные на разнообразных формах взаимодействия молекул и их атомов материалов с переменным электромагнитным полем. Она основана на изучении спектров электромагнитного излучения. В таком спектре названия областей даны по способу возбуждения излучения (рис. 6.1). На рисунке области частично перекрываются.

Как видно из рис. 6.1, различные молекулы и их части (атомы, протоны) проявляют разные физические свойства при взаимодействии с переменным электромагнитным полем разной длины волны. В настоящее время приняты следующие области общего спектра излучения, используемые в спектроскопии:

- 1) ультрафиолетовое излучение (10–380 нм);
- 2) видимое излучение (380–740 нм);
- 3) инфракрасное излучение (0,74 мкм–2 мм).

К методам спектрального анализа относят:

спектроскопию в видимой, инфракрасной, ультрафиолетовой, рентгеновской, ядерной и СВЧ областях;

спектроскопию нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО);

комбинационное рассеяние света;

люминесцентный анализ, атомный спектральный анализ, ядерный магнитный резонанс и парамагнитный резонанс (ПМР) – спектроскопию, мессбауэровскую спектроскопию.

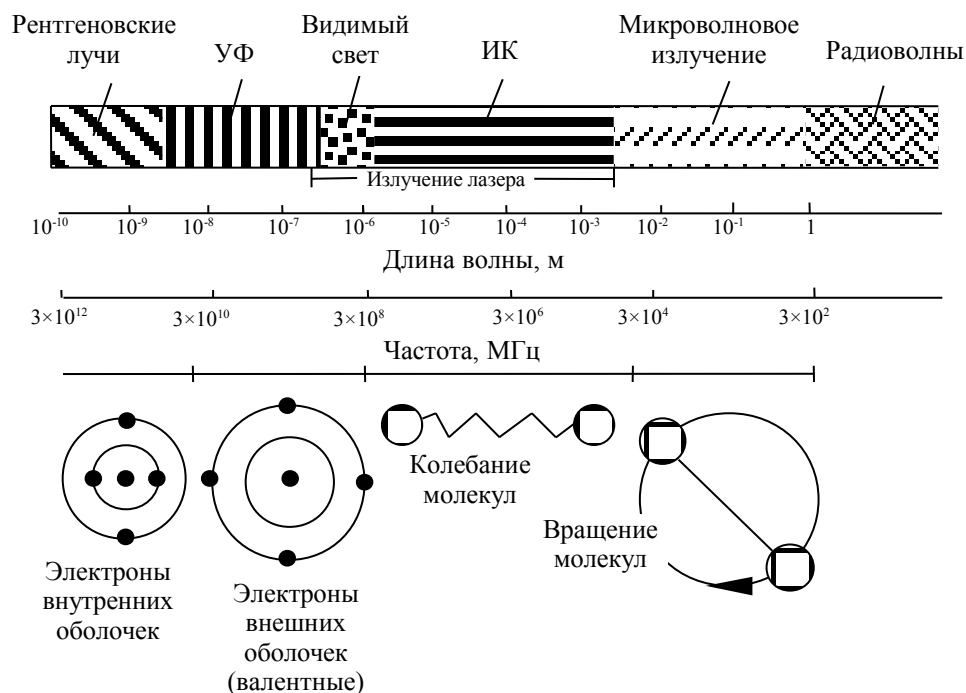


Рис. 6.1. Спектр электромагнитного излучения

Рассмотрим основные направления развития и области применения наиболее перспективных из этих методов:

– спектроскопия нарушенного полного внутреннего отражения заключается в получении спектра образца, находящегося в контакте с оптически более плотной средой. При этом в полосах поглощения образца происходит уменьшение интенсивности излучения, претерпевающего на границе раздела сред полное внутреннее отражение. Достоинством данного метода является простота подготовки образца. Область применения – анализ упаковочных пленочных материалов;

– спектроскопия, основанная на комбинационном рассеянии света. В основе метода лежит явление рассеяния света, проходящего через анализируемое вещество, причем частоты рассеянного света отличаются от частот исходного. Спектр комбинационного рассеяния является характеристическим для рассеивающего вещества. Комбинационное рассеяние пока применяется относительно редко, в основном для анализа канцерогенных веществ. Обычные методы комбинационного рассеяния с использованием лазерного излучения в видимой области спектра в большинстве случаев непригодны для биологических объектов, так как многие из них обладают высокофлуоресцентными свойствами.

Для устранения этой проблемы в последнее время проводятся исследования с использованием лазеров, излучающих в ближней ИК-области. При этом возникают две проблемы:

– первая проблема связана с неточным оптическим центрированием пробы;

– вторая – с чрезмерным повышением температуры и ее нестабильностью внутри пробы.

Для устранения указанных проблем перспективным является использование достижений волоконной оптики. Это в данном случае эффективное средство подачи возбуждающего излучения на пробу и передачи комбинационного рассеяния.

Сочетание спектроскопии комбинационного рассеяния в ближней ИК-области с преобразованием Фурье и волоконной оптикой значительно расширяет возможности проведения спектральных измерений биологических систем. Так, метод позволяет легче регистрировать спектры комбинационного рассеяния хрупких, высокофлуоресцентных биомолекул в разбавленных водных средах; упрощается применение метода для биомолекулярных проб, чувствительных к изменению температуры.

Атомная спектроскопия делится на атомно-абсорбционную и атомно-эмиссионную. Первая основана на поглощении исследуемым веществом излучения; вторая – на анализе испускаемого вещества излучения.

В последнее время атомно-эмиссионная спектрометрия несколько вытеснила атомно-абсорбционную по частоте использования. Развитие эмиссионных методов анализа с возбудителем спектра в виде индуктивно связанной плазмы сделало возможным одновременное измерение за малый промежуток времени (~30 с) до 60 элементов. Атомно-эмиссионный метод применяется прежде всего в областях, где требуются высокая производительность и определение большого числа элементов.

Для небольших объемов пробы перспективным является использование метода атомно-эмиссионной спектроскопии с электротермической атомизацией. К достоинствам данного метода следует отнести высокую чувствительность и возможность элементного анализа. Недостатками являются чувствительность к матричным эффектам, имеющим место при атомизации в графитовой печи, чувствительность к изменениям условий нагрева и возбуждения.

Несмотря на широкое распространение методов атомно-эмиссионной спектроскопии, атомно-абсорбционный метод продолжает оставаться наиболее экономичным (стоимость установки в несколько раз меньше). Этот метод широко применяется в сельском хозяйстве для анализа концентрации макроэлементов и микроэлементов в почвах, кормах и растениях, в системах контроля состояния окружающей среды. К преимуществам рассматриваемого метода относятся высокая избирательность, экспрессность, сравнительная простота используемой аппаратуры. Наряду с этим популярность атомно-абсорбционного метода в значительной степени обусловлена постоянным усовершенствованием аппаратуры.

Основными направлениями дальнейшего развития метода атомно-абсорбционной спектроскопии являются:

- широкое применение новых компонентов в оптической и электрической схемах приборов;
- применение голографических решеток, кварцевых поляроидов;
- использование элементов волоконной оптики;
- употребление источников света с повышенной стабильностью.

6.2. Оптические методы

Оптическими называют методы и средства измерения, в основу которых положена зависимость оптических свойств самой анализируемой среды или свойств проходящего через нее электромагнитного излучения от количества анализируемого компонента в анализируемой пробе. Они основаны на использовании свойств анализируемого материала, облучаемого потоком излучения, поглощать, отражать и пропускать извне излучение, а также излучать энергию.

Первые три характеристики зависят как от условий облучения (спектральный состав, степень поляризации падающего излучения), так и от состояния и свойств облучаемого вещества. Последняя же характеристика определяется только состоянием и свойствами материала. К этим свойствам относятся: преломление, поляризация, интенсивность окраски и свечения, цвет и многие другие. Несмотря на такое многообразие используемых для измерения свойств, все анализаторы состоят из трех основных узлов: излучателя, кювет с анализируемой пробой и приемника. Оптические анализаторы

подразделяются на монохроматические, когда используется излучение с определенной длиной волны, и полихроматические, когда используется поток интегрального, т. е. с широким спектром длин волн, излучения, а также на анализаторы видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной частей спектра излучения.

Пищевые продукты по своим физико-химическим свойствам и структуре относятся к группе капиллярно-пористых коллоидных тел. Они характеризуются сложностью микроструктуры и большой оптической плотностью. Поглощение и рассеяние в этих материалах определяются главным образом следующими четырьмя процессами:

- резонансным поглощением излучения молекулами одного вещества (всеми компонентами, образующими данное вещество) и молекулами структурной и связанной с материалом воды;

- рассеянием, обусловленным флюктуациями плотности или концентрации вещества, а также рассеянием на молекулах (например, на молекулах белков, крахмала и других) или ионах;

- рассеянием излучения на взвешенных коллоидных частицах (зернах крахмала, растительных клетках, частицах пигмента и т. д.);

- рассеянием на других оптических неоднородностях – капиллярах и порах в капиллярно-пористых коллоидных телах, порах в пенных и шлаковых материалах и т. д.

Оптические методы используются прежде всего для анализа состава продукта, а также для измерения давления, температуры, влажности, уровня, массы и силы, перемещения и распознавания объектов.

6.2.1. Рефрактометрические методы

Рефрактометрические методы основаны на том, что скорость распространения света в веществе меньше, чем в вакууме. Поэтому при падении светового луча на границу раздела двух сред происходит изменение направления – преломление его движения.

Мерой степени преломления служит показатель преломления, равный отношению скорости света в вакууме к скорости света в веществе. Показатель преломления зависит от природы вещества, внешних условий (температуры, давления), агрегатного состояния вещества и длины волны падающего света. Эту зависимость, как

правило, устанавливают эмпирически для каждого типа анализаторов.

Рефрактометры с дифференциальными кюветами применяют для анализа прозрачных и полупрозрачных жидкостей. Способ полного внутреннего отражения основан на следующем. При прохождении из оптически более плотной среды в менее плотную луч отражается от границы раздела сред. Угол падения луча может быть подобран так, что отраженный луч будет параллелен границе раздела этих сред. Такой угол называют предельным, а связанное с этим явление – полным внутренним отражением. Для анализа непрозрачных жидкостей используют зависимость между предельным углом и их составом.

Приборы, основанные на рефрактометрическом методе, называют рефрактометрами. Существует несколько способов измерения показателя преломления. В рефрактометрах наиболее часто применяют спектрометрический метод и метод, основанный на использовании полного внутреннего отражения.

На рис. 6.2 и 6.3 показаны принципиальные схемы автоматического рефрактометра полного внутреннего отражения лабораторного и промышленного применения.

На рис. 6.4 показана структурная схема проточного рефрактометра. В трубопровод 1, по которому протекает анализируемая жидкость, вмонтирована измерительная кювета 2. Падающий на нее свет от источника 5 проходит через предварительный светофильтр 4 и коллиматор 3 и, отражаясь от границы раздела сред (анализируемая жидкость и призма), попадает через оптический рассеиватель 9 на фотоэлемент ФЭ₁ и зеркало 8, а затем на фотоэлемент ФЭ₂. Сигнал разбаланса от фотоэлементов через электронный усилитель 6 поступает на реверсивный двигатель 7, поворачивающий зеркало 8 до тех пор, пока отраженный от него свет, направленный на фотоэлемент ФЭ₂, не уравнивает световой поток, падающий на ФЭ₁.

Жидкость

Рабочая

Линза

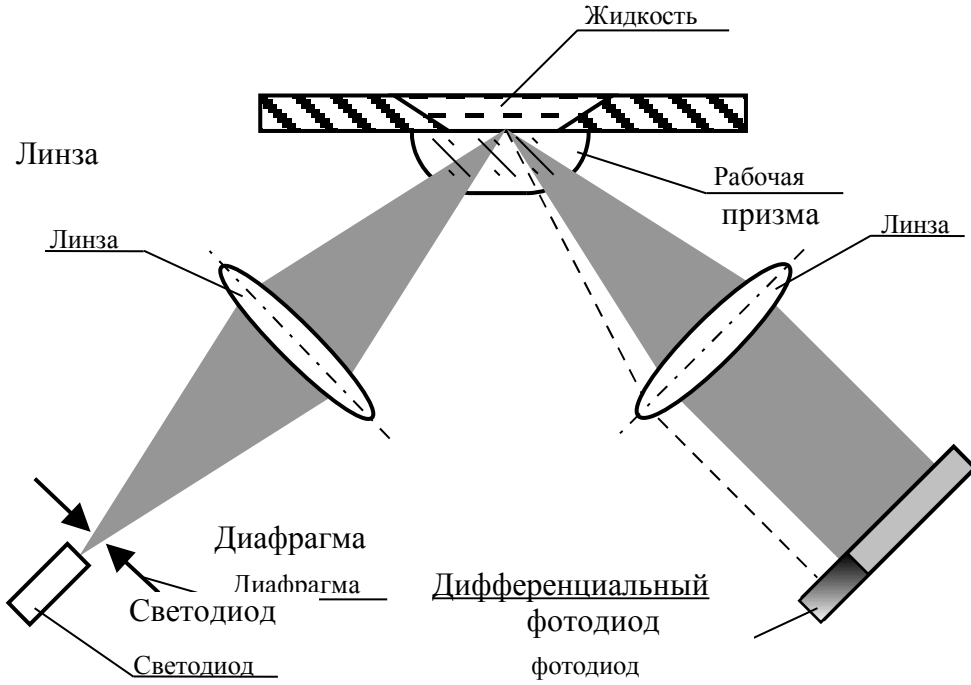


Рис. 6.2. Рефрактометр полного внутреннего отражения

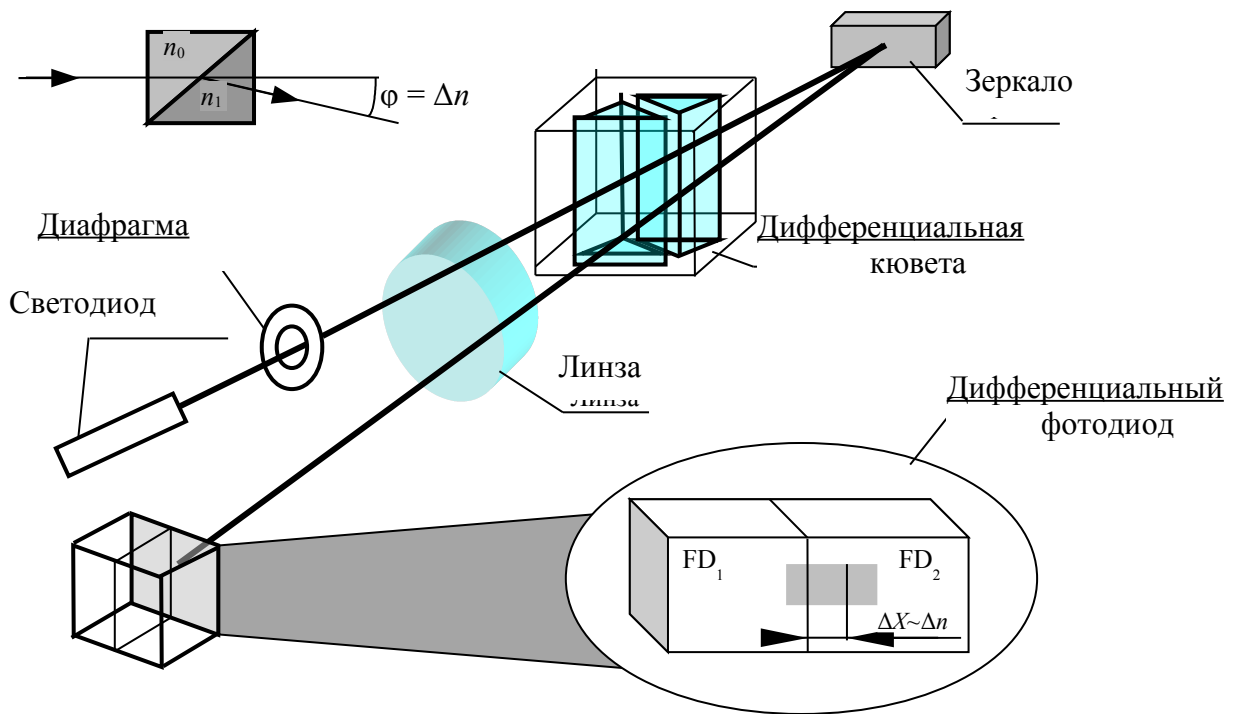


Рис. 6.3. Автоматический рефрактометр полного внутреннего отражения

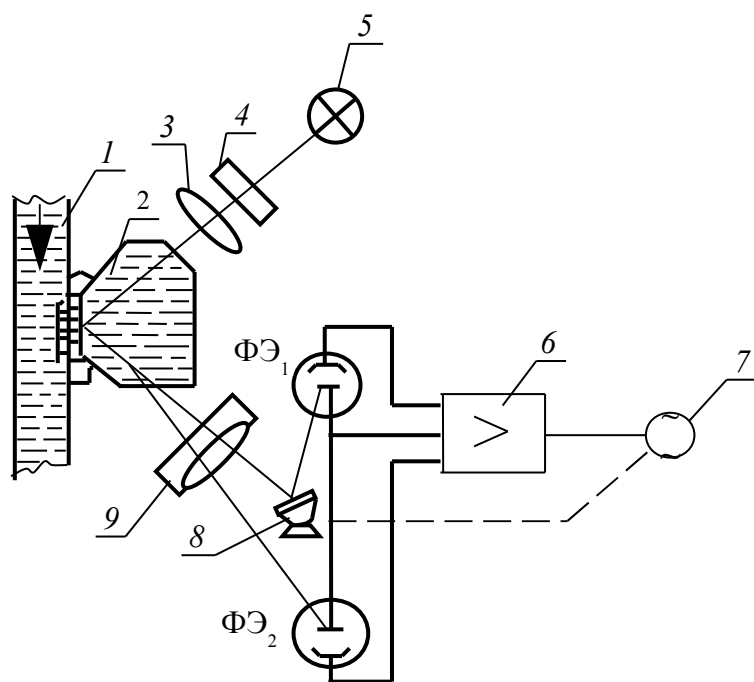


Рис. 6.4. Промышленный рефрактометр:

- 1 – трубопровод; 2 – измерительная кювета; 3 – коллиматор;
 4 – предварительный светофильтр; 5 – источник; 6 – электронный усилитель;
 7 – реверсивный двигатель, 8 – зеркало; 9 – оптический рассеиватель;
 ФЭ₁, ФЭ₂ – фотоэлементы

Конструктивно рефрактометры бывают лабораторного и промышленного исполнения, в том числе погружные и дифференциальные. Дифференциальные проточные рефрактометры измеряют разность показателей преломления Δn жидкостей и газов, регистрируя отклонение светового пучка при прохождении им дифференциальной оптической кюветы с двумя камерами в виде полых призм, которые заполняют эталонной и анализируемой средами. При равных показателях преломления сравниваемых сред

световой пучок проходит через такую кювету, не изменяя направления, а при разных – отклоняется на угол, пропорциональный Δn . Отклонение светового пучка регистрируется с помощью дифференциального фотодиода. Сочетание высокой чувствительности измерений с чрезвычайно малым объемом ячеек кюветы позволяет использовать такие рефрактометры в качестве детектора в высокоэффективной жидкостной аналитической хроматографии, в том числе микроколоночной.

В погружных рефрактометрах (рис. 6.5) в качестве рабочего элемента используется сапфировый стержень, у которого один торец плоский, а другой – сферический. Если такой элемент находится в воздухе, то все направленные на него световые лучи испытывают полное внутреннее отражение и попадают на кольцевой фотодиод. При погружении в жидкость полное внутреннее отражение испытывают только те лучи, которые падают на поверхность раздела жидкости и рабочего элемента под углом больше критического.

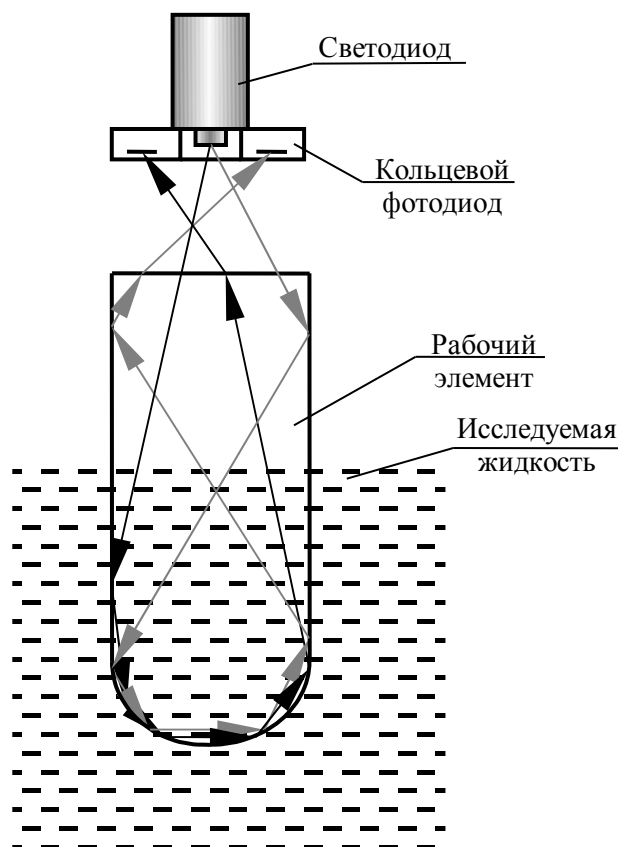


Рис. 6.5. Погружной рефрактометр

Обусловленная этим эффектом зависимость сигнала фотодиода от значения критического угла позволяет рассчитывать показатель преломления анализируемой жидкости.

Основная относительная погрешность измерения с помощью рефрактометров составляет (0,5–1,5) %.

6.2.2. Интерферометры

Интерферометрами называют рефрактометры, основанные на явлении интерференции. Это явление заключается в том, что на экране совмещенные два луча, исходящие из одного источника, дают увеличение освещенности, если они проходят одинаковый путь, и затемнение, если разность их путей кратна длине волны света. В интерферометрах (рис. 6.6) один луч проходит через кювету с анализируемым раствором, а второй – со сравнительным.

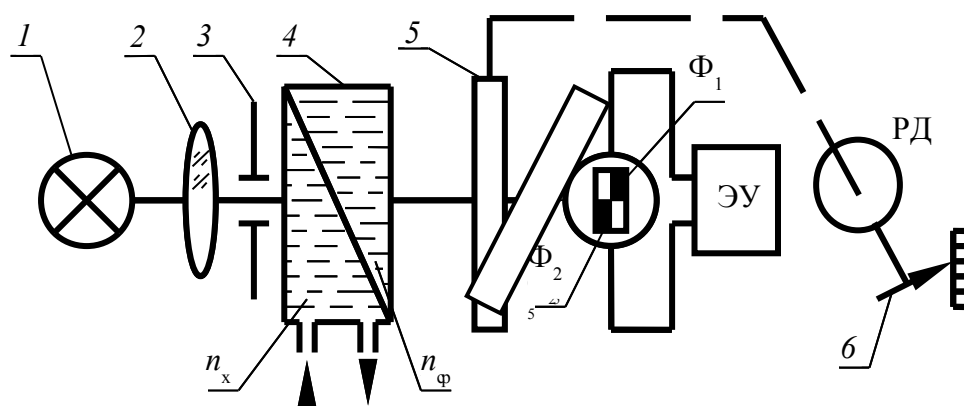


Рис. 6.6. Интерферометр:

1 – источник; 2 – линза; 3 – диафрагма; 4 – кювета измерительная;
5 – компенсационная пластина; 6 – самописец; РД – реверсивный двигатель;
ЭУ – электронный усилитель; Φ_1 , Φ_2 – фотоэлементы

По сравнению с другими анализаторами рефрактометры просты по конструкции, поэтому широко применяются во многих областях: минералогии, кристаллографии, оптике, нефтехимии, органической химии и других – для идентификации веществ и количественного измерения концентрации. Автоматические рефрактометры используют для контроля и управления технологическими процессами в пищевой, нефтехимической, металлургической и многих других отраслях промышленности.

Чувствительность интерференционных рефрактометров достигает 10^{-6} – 10^{-8} . Относительная погрешность измерения концентрации с помощью дифференциальных рефрактометров составляет 10^{-6} – $5 \cdot 10^{-7}$, рефрактометров полного внутреннего отражения – 10^{-4} – 10^{-5} , а реф-рактометров интенсивности – 10^{-5} – $5 \cdot 10^{-6}$.

Использование рефрактометров в пищевой промышленности регламентировано многими стандартизованными методами, относящи-мися к контролю качества растительных и эфирных масел, душистых веществ и полупродуктов их производства, к задачам производства спирта, действительного экстракта и содержанию сухих веществ в пиве, алкогольных и безалкогольных напитках.

Таким образом, в пищевой промышленности рефрактометры применяются непосредственно для анализа и контроля веществ в продуктах питания по их показателю преломления. Так, рефрактометры непосредственно используются для определения показателя преломления жиров и масел животного и растительного происхождения, олеиновой кислоты в семенах подсолнечника, содержания сахарозы в плодово-овощных и фруктовых соках, сахарозы и фруктозы в сиропах из глюкозы, содержания сахарозы и спирта в безалкогольной продукции, концентрации спирта в пиве, а также при определении цветности сахара, концентрации неомыляемых веществ в жирных кислотах синтетических, содержания спирта в сиропах, концентратах и экстрактах квасов и других веществ.

6.3. Фотометрический метод

Фотометрический метод – один из самых распространенных физико-химических методов. Он основан на свойстве растворов поглощать проходящий через них свет. Данный метод прост, имеет высокую чувствительность и может применяться для определения концентраций практически всех элементов Периодической системы и большого количества органических веществ. Степень поглощения характерна для каждого вещества и зависит от его концентрации в растворе. Большинство веществ сами энергию излучения слабо поглощают, поэтому обычно определяемый компонент с помощью какого-то конкретного реактива переводят в определенное химическое соединение, обладающее более сильным эффектом

светопоглощения. Таким образом, при фотометрическом методе измеряют концентрацию химического соединения, а не анализируемого вещества. Исходя из примененного реактива, а следовательно, состава образовавшегося соединения, по результатам измерения рассчитывают концентрацию анализируемого вещества.

В аналитической практике применяют в основном два способа измерения – колориметрический («колор» – цвет) и фотоэлектроколориметрический. Первый основан на преднамеренном переводе анализируемого компонента в соединение с характерной окраской. Интенсивность окраски зависит от его концентрации. Ее оценивают визуально по сравнению со стандартным раствором, имеющим известную концентрацию анализируемого вещества. Для измерений составляют набор стандартных растворов во всем диапазоне интересующих значений концентрации. Колориметрический способ измерения обладает невысокой точностью, но благодаря простоте исполнения его широко применяют. При фотоэлектроколориметрическом способе концентрацию определяют по степени ослабления интенсивности первоначального светового потока с помощью фотоэлементов. Фотоэлектроколориметры имеют шкалы, отградуированные не в единицах концентрации, а в единицах оптической плотности. При измерении используют градуировочные характеристики «оптическая плотность–концентрация».

Фотометрический анализатор имеет следующие основные узлы: источник света; монохроматор; кюветы, в которых находятся анализируемый и сравнительный растворы; узел измерения интенсивности света. Монохроматор – это устройство, выделяющее из широкого спектра потока излучения узкую часть длин волн, при которых фотометрический эффект проявляется с наибольшей чувствительностью. В качестве монохроматоров используют светофильтры, призмы и дифракционные решетки.

По конструктивному признаку фотометрические анализаторы делятся на одно- и двухлучевые. В первых на пути светового потока помещают последовательно кюветы с анализируемой пробой и образцом сравнения и измеряют соответствующие соотношения интенсивности потока излучения. Эти приборы просты, но требуют высокостабильных источников излучения и приемников. В двухлучевых анализаторах обе кюветы помещены в разные потоки излучения, поэтому в них, кроме указанных выше элементов, входят

делитель потока света, система модуляции для разделения сигналов от обоих потоков и оптическое устройство для соединения обоих потоков на один приемник. Эти приборы обладают существенно лучшей стабильностью и используются преимущественно для непрерывной записи спектров и для измерений, требующих особенно высокой стабильности. Веществ и соединений, поглощающих свет равномерно во всех участках спектра, известно очень мало. Большинство же поглощают преимущественно излучение в каком-то характерном участке спектра, в связи с чем измерение при определенной длине волны (такое излучение называют монохроматическим), соответствующей максимуму поглощения, имеет более высокую чувствительность. Кроме того, снижается влияние сопутствующих веществ.

В зависимости от ширины выделенного участка спектра различают фотоэлектроколориметры (ФЭК, КФК) и спектрофотометры (СФ). Спектрофотометры отличаются тем, что в них выделяется значительно более узкий участок спектра, их можно настраивать на различные требуемые значения длины волны, и именно те, в которых анализируемое вещество (точнее – образованное соединение) «оптически реагирует» с наибольшей чувствительностью. Это позволяет с его помощью изучать поглощение света в отдельных участках спектра, т. е. вести наблюдения по всему спектру поглощения и таким образом выбирать оптимальные условия измерения. Однако фотоэлектроколориметры значительно проще по конструкции и в работе.

На рис. 6.7 показана оптическая схема двухлучевого фотоэлектроколориметра. Верхний луч (по схеме) является измерительным, нижний – компенсационным. Нить лампы Л посредством двух конденсаторов K_1 и K_2 и двух зеркал Z_1 и Z_2 изображается на линзах O_1 и O_2 . Эти изображения нити проецируются линзами O_1 , O_2 и сводятся зеркалами Z_3 , Z_4 и призмой П в фотоэлемент Ф. Модулятор М модулирует верхний и нижний световые потоки в противофазе. Эти потоки, пройдя светофильтры C_1 и C_2 и кюветы К, попадают на фотоэлемент и возбуждают переменный электрический ток, пропорциональный разности световых потоков обеих ветвей прибора. В верхний световой поток включают кюветы с раствором, диафрагма D_1 при этом полностью открыта (отсчет 100 по шкале пропускания). Изменяя площадь

диафрагмы D_2 , уравнивают интенсивность обоих световых потоков, что соответствует нулевому положению стрелки микроамперметра. Затем кювету с раствором заменяют такой же кюветой с растворителем или контрольным раствором, который более прозрачен, чем анализируемый. Изменяя диафрагму D_1 , уменьшают интенсивность светового потока этой ветви до первоначальной, т. е. вновь подводят стрелку микроамперметра к нулевому положению. Полученный отсчет по шкале измерительной диафрагмы будет соответствовать отношению значений светового потока, прошедшего через раствор, к значению светового потока, прошедшего через растворитель или контрольный раствор, и таким образом даст значение пропускания раствора по отношению к растворителю или контрольному раствору.

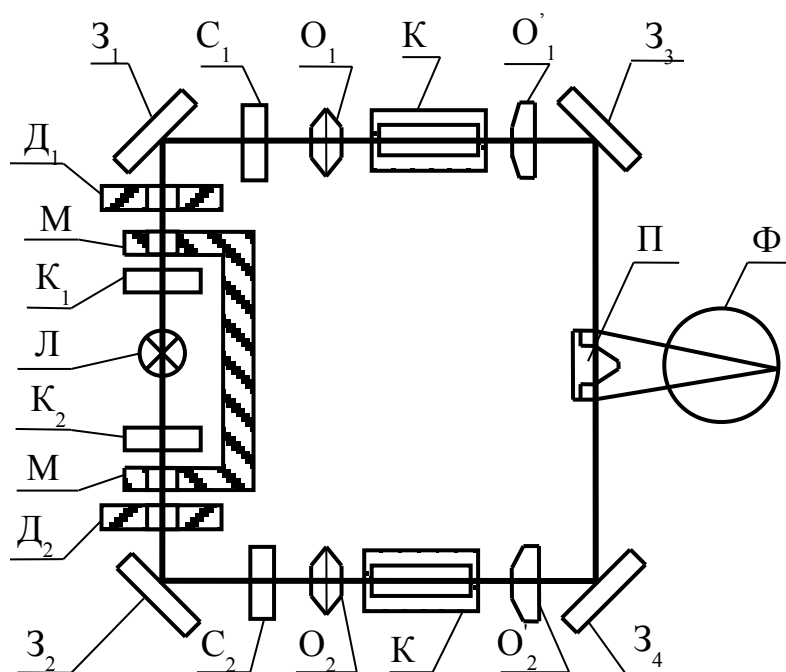


Рис. 6.7. Фотоэлектроколориметр:
 Л – лампа; K_1, K_2 – конденсаторы; Z_1, Z_2, Z_3, Z_4 – зеркала;
 O_1, O_2 – линзы; П – призма; Ф – фотоэлемент; М – модулятор;
 C_1, C_2 – светофильтры; К – кюветы; D_1, D_2 – диафрагмы

На рис. 6.8 показана оптическая схема спектрофотометра СФ-18, состоящего из спектральной (двойного монохроматора) и фотометрической частей. Нить лампы 1 фокусируется конденсатором 2 через входную щель 3 в плоскость объектива 4. Входная щель расположена в фокальной плоскости объектива. Выходящий из него параллельный пучок света проходит

диспергирующую призму 5 и разлагается в спектр. Объектив 6 первого монохроматора дает спектральное изображение входной щели в плоскости средней щели. Последняя, образованная поворотным зеркалом 7 и ножом 8, вырезает участок спектра, который проходит во второй монохроматор и проецируется в плоскость выходной щели 9.

При выходе из второго монохроматора пучок света попадает в фотометрическую часть прибора. Сначала пучок проходит через линзу 10 и двоякопреломляющую призму 11, где разделяется на два поляризованных пучка во взаимно перпендикулярных плоскостях. Одно изображение, расположенное на оптической оси системы, проходит через призму 13 и линзу 14; другое, смещенное, срезается диафрагмой 12. Линза 14 дает изображение выходной щели в плоскости полулинз 15, установленных внутри модулятора света. Вследствие двойного лучепреломления призмы 13 в плоскости полулинз 15 получают два изображения выходной щели. Пройдя через полулинзы 15 и контрольный и анализируемый образцы, пучки отклоняются на 90° призмами 16, затем через входные окна 17 шара 18 падают на окна 19, к которым прижимаются две белые заглушки. Свет суммируется шаром и освещает фотоэлемент, расположенный за выходным окном шара.

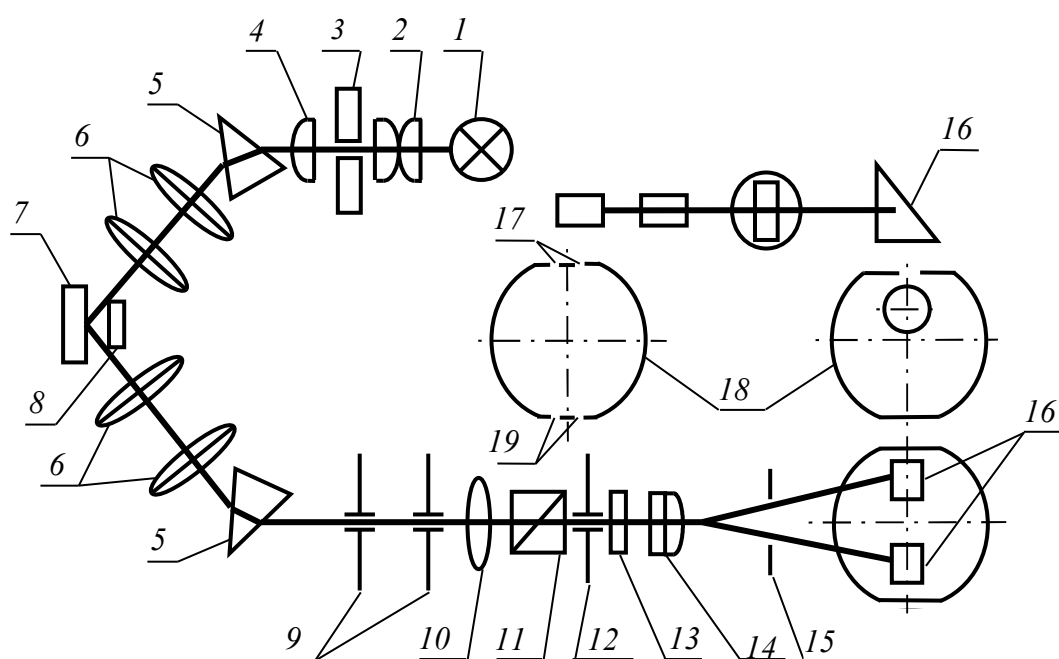


Рис. 6.8. Спектрофотометр СФ-18:

- 1 – лампа; 2 – конденсатор; 3 – входная щель; 4, 6 – объективы;
5 – диспергирующая призма; 7 – зеркало; 8 – нож; 9 – выходная щель;
10, 14 – линзы; 11 – двоякопреломляющая призма; 12 – диафрагма;
13, 16 – призмы; 15 – полулинза; 17 – входное окно;
18 – шар; 19 – выходные окна

Принцип действия прибора основан на нулевом методе и заключается в следующем. Монохроматический пучок света делится призмой 11 на два плоскополяризованных пучка. Один пучок диафрагмируется, другой проходит через призму 13 и снова делится на два пучка, поляризованных во взаимно перпендикулярных плоскостях. Так как на призму 13 падает плоскополяризованный свет, интенсивность его за призмой определяется угловым положением относительно нее призмы 11. Далее пучки поочередно перекрываются вращающимся модулятором таким образом, что интенсивность света в каждом пучке изменяется по трапецеидальной форме и началу открытия одного пучка соответствует начало закрытия другого. Свет, прошедший через контрольный и измеряемый образцы, попадает в интегрирующий шар и после многократного отражения от его стенок освещает фотоэлемент.

Освещенность фотоэлемента в каждый момент времени определяется суммой потоков, прошедших через контрольный и анализируемый образцы. Если световые потоки равны, освещенность фотоэлемента будет постоянной в любой момент времени и переменный сигнал на входе усилительной системы будет отсутствовать. При наличии поглощения в измерительном образце на входе усилителя появится сигнал с частотой, определяемой скоростью вращения модулятора. Этот сигнал после усиления подается на электродвигатель, который поворачивает призму Рошона до тех пор, пока не исчезнет разность световых потоков. Одновременно с поворотом призмы перемещается перо самописца.

Длина волны света, выходящего из монохроматора, изменяется путем перемещения вдоль спектра средней щели. Одновременно с этим поворачивается барабан записывающего устройства. Таким образом, на бланке, закрепленном на барабане, записывается кривая зависимости коэффициента пропускания или оптической плотности образца от длины волны.

В качестве примера на рис. 6.9 показана однолучевая оптическая схема фотоэлектроколориметра КФК-2. Принцип действия прибора основан на том, что на фотоприемник поочередно направляются полный $F_{0\lambda}$ и прошедший через исследуемую среду F_{λ} световые потоки и рассчитывается их отношение, представляющее собой коэффициент пропускания. На колориметре это отношение находят следующим образом. Вначале в световой пучок помещают кювету с растворителем или контрольным раствором. Изменением чувствительности колориметра добиваются, чтобы отсчет по шкале коэффициентов пропускания колориметра n_1 был равен 100. Таким образом, полный световой поток $F_{0\lambda}$ условно принимается равным 100 %. Затем в световой пучок помещают кювету с исследуемым раствором. Полученный отсчет n_2 по шкале коэффициентов пропускания колориметра будет соответствовать F_{λ} . Следовательно, этот отсчет есть значение коэффициента пропускания исследуемого раствора в процентах.

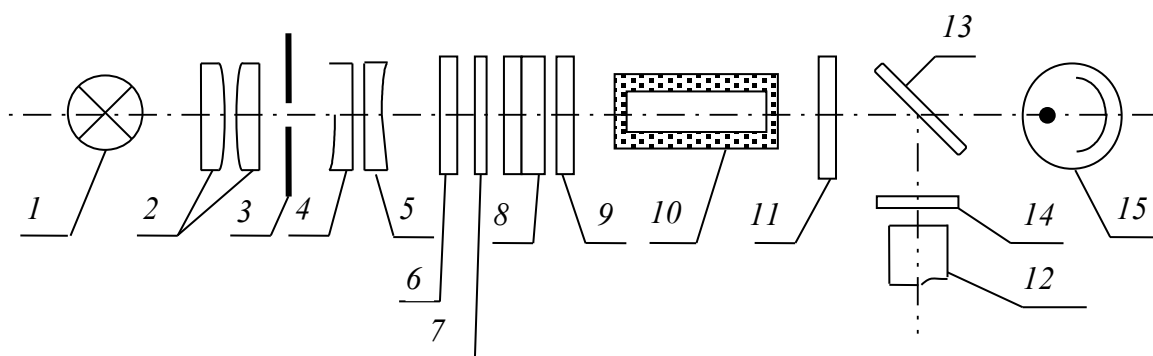


Рис. 6.9. Фотоэлектроколориметр КФК-2:

- 1 – лампа; 2 – конденсаторы; 3 – диафрагма; 4, 5 – линзы; 6 – теплозащитный светофильтр; 7, 8 – светофильтры; 9, 11 – защитные стекла;
10 – измерительная кювета; 12 – фотодиод; 13 – разделительная пластина;
14 – светофильтр; 15 – фотодиод

Оптическая плотность D определяется как десятичный логарифм от коэффициента пропускания: $D = -\lg F_{\lambda}/F_{0\lambda}$.

Оптическая схема: нить лампы изображается конденсатором в плоскости диафрагмы диаметром 2 мм. Это изображение объективом переносится в плоскость, отстоящую от объектива на расстоянии 300 мм, с увеличением 10^x . Кювета с исследуемым раствором вводится в световой пучок между защитными стеклами. Для выделения узких участков из сплошного спектра излучения лампы в колориметре предусмотрены цветные светофильтры.

Теплозащитный светофильтр введен в световой пучок при работе в видимой области спектра (380–740) нм. Для ослабления светового потока при работе в спектральном диапазоне (400–540) нм установлены нейтральные светофильтры. Пластина 13 делит световой поток на два: один, около 10 %, направляется на фотодиод 12, работающий в области спектра (590–980) нм; второй, около 90 %, – на фотодиод 15 в области спектра (315–540) нм. Светофильтром выравниваются фототоки, снимаемые с фотодиода при работе с различными цветовыми светофильтрами.

При работе с кюветами малой емкости в кюветное отделение устанавливается приставка для микроанализа. При этом одни линзы уменьшают световой поток в месте установки микрокюветы или пробирки, другие восстанавливают световой пучок до первоначального диаметра.

Колориметр КФК-2 имеет спектральный диапазон от 315 до 980 нм, который разбит на интервалы с помощью светофильтров. Коэффициент пропускания – от 1 до 100 % (оптическая плотность от 2 до 0). Предел допускаемого значения основной абсолютной погрешности колориметра по коэффициенту пропускания составляет ± 1 %.

Фотоколориметр КФК-3 является двухлучевым. Принцип его действия основан на сравнении светового потока Φ_0 , прошедшего через растворитель или контрольный раствор, по отношению к которому производится измерение, и светового потока Φ , прошедшего через исследуемую среду. Световые потоки Φ_0 и Φ преобразуются фотоприемником в электрические сигналы U_0 , U и U_T (U_T – сигнал при неосвещенном приемнике), которые обрабатываются компьютером фотометра и представляются на цифровом табло в виде коэффициента пропускания, оптической плотности, скорости изменения оптической плотности, концентрации. На рис. 6.10 показана принципиальная оптическая схема фотометра КФК-3.

Нить лампы 1 изображается конденсатором 2 в плоскости диафрагмы D_1 ($0,8 \times 4,0$ мм), заполняя светом щель диафрагмы. Далее диафрагма D_1 изображается вогнутой дифракционной решеткой 4 и вогнутым зеркалом 5 в плоскости такой же щелевой диафрагмы D_2 ($0,8 \times 4,0$ мм). Дифракционная решетка и зеркало создают в плоскости диафрагмы D_2 растянутую картину спектра. Поворачивая дифракционную решетку вокруг оси, параллельной

штрихам решетки, выделяют щель диафрагмы D_2 излучение любой длины волны от 315 до 990 нм. Объективы 7, 8 создают в кюветном отделении слабосходящийся пучок света и формируют увеличенное изображение щели D_2 перед линзой 10. Линза сводит пучок света на приемнике 11 в виде равномерно освещенного светового кружка. Для уменьшения влияния рассеянного света в ультрафиолетовой области спектра (за диафрагмой D_1) установлен светофильтр 3, который работает в схеме при измерениях в спектральной области (315–400) нм; затем из приемника 11 автоматически выводится измерительная информация. В кюветное отделение, между объективами 7, 8 и линзой 10, устанавливаются прямоугольные кюветы 9.

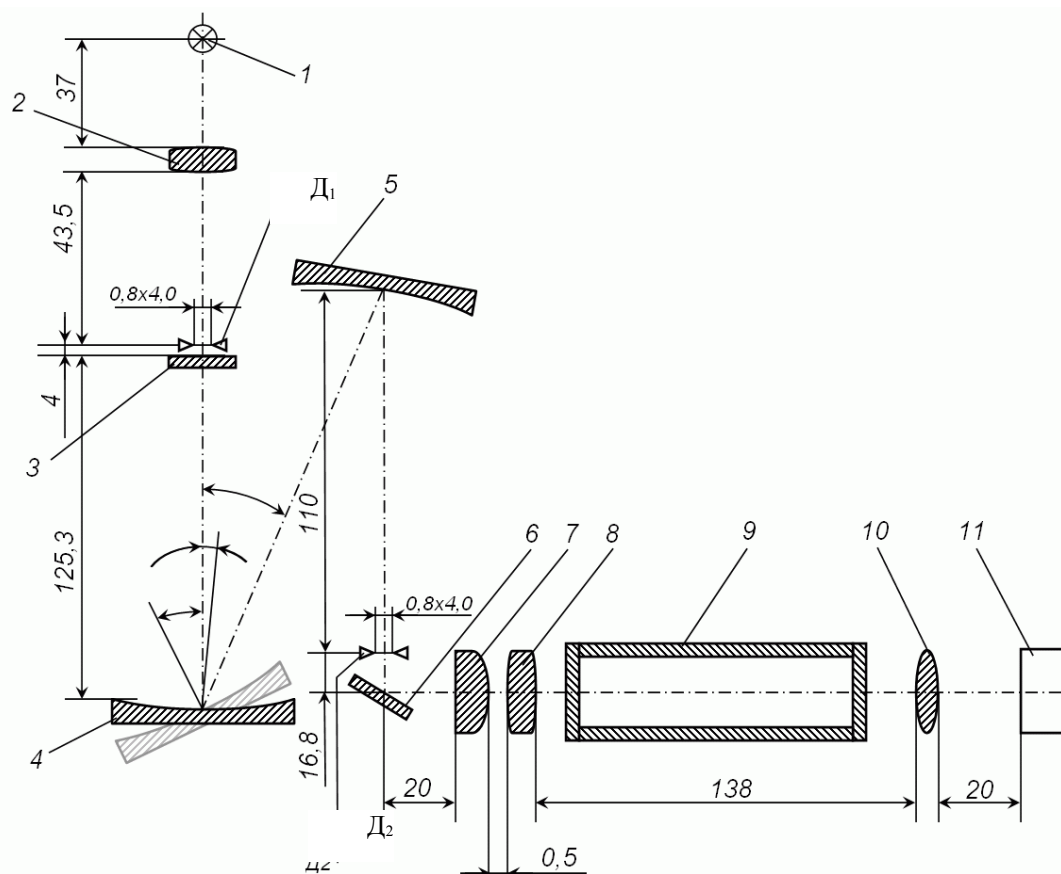


Рис. 6.10. Колориметр КФК-3

1 – лампа; 2 – конденсатор; 3 – светофильтр; 4, 6 – дифракционные решетки;
5 – зеркало; 7, 8 – объективы; 9 – кювета; 10 – линза; 11 – приемник;
 D_1 , D_2 – диафрагмы

Коэффициент пропускания τ исследуемого раствора определяется как отношение потоков или сигналов:

$$\tau = \frac{\Phi}{\Phi_0} 100 \% = \frac{U - U_T}{U_0 - U_T} 100 \%, \quad (6.1)$$

где Φ, Φ_0 – световые потоки; U, U_0, U_T – электрические сигналы.

Оптическая плотность

$$D = \lg \frac{1}{\tau} = \lg \frac{U_0 - U_T}{U - U_T}. \quad (6.2)$$

Скорость изменения оптической плотности

$$A = \frac{D_2 - D_1}{t}, \quad (6.3)$$

где D_2, D_1 – разность значений оптической плотности за временной интервал t , мин. Время t может принимать значения от 1 до 9 мин.

Концентрация

$$C = D F, \quad (6.4)$$

где F – коэффициент факторизации, определяется потребителем и вводится с цифровой клавиатуры в пределах от 0,001 до 9999.

Одной из современных моделей спектрофотометров является СФ-2000 (далее – спектрофотометр). Он предназначен для измерения спектральных коэффициентов направленного пропускания жидких и твердых прозрачных образцов в диапазоне от 1 до 100 % в спектральном диапазоне от 200 до 1000 нм и может применяться при проведении биологических, биохимических, физических исследований, а также при контроле качества готовой продукции и контроле продукции по ходу технологического процесса в химической, микро-биологической, фармацевтической и других отраслях промышленности.

Предел допускаемого значения абсолютной погрешности спектрофотометра при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания составляет 1,0 %; при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания – 0,2 %. Кюветное отделение спектрофотометра обеспечивает возможность термостатирования жидких образцов при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Принцип действия спектрофотометра основан на измерении отношения двух световых потоков: светового потока, прошедшего через исследуемый образец, и потока, падающего на исследуемый образец (или прошедшего через контрольный образец). В световой поток от источника излучения поочередно вводятся затвор для определения темнового сигнала, расположенный внутри спектрофотометра, контрольный образец и исследуемый образец.

Коэффициент пропускания исследуемого образца рассчитывается по формуле

$$T = (I - I_T) / (I_k - I_T), \quad (6.5)$$

где I – сигнал, пропорциональный световому потоку, прошедшему через исследуемый образец; I_k – сигнал, пропорциональный световому потоку, прошедшему через контрольный образец; I_T – сигнал, пропорциональный темновому току приемника.

Оптическая схема спектрофотометра состоит из оптических схем двух каналов "У" и "В". Каждый из каналов представляет собой полихроматор, построенный на основе вогнутой дифракционной решетки с коррекцией aberrаций.

Свет от источника ультрафиолетового излучения через объектив направляется на образец, а затем проецируется на входную щель канала "У" спектрофотометра. Затем световой пучок попадает на дифракционную решетку, после чего диафрагмированный свет фокусируется на поверхности многоэлементного приемника. Аналогично свет от источника видимого излучения через объектив направляется на образец и проецируется на входную щель канала "В" спектрофотометра. Затем световой пучок направляется на дифракционную решетку, после чего диафрагмированный свет фокусируется на поверхности многоэлементного приемника.

Каждый из многоэлементных приемников регистрирует свой спектральный диапазон (200–395) нм и (395–1000) нм одновременно. Принцип работы многоэлементного приемника состоит в преобразовании светового сигнала в электрический, причем величина электрического сигнала прямо пропорциональна как величине светового сигнала, так и времени освещения приемника (экспозиции).

В приборе зафиксированы определенные варианты рабочих значений щелей.

Кюветное отделение спектрофотометра снабжено подвижной кареткой, обеспечивающей возможность установки различных держателей жидких и твердых образцов. Имеется возможность термостатирования исследуемой жидкости в кювете с длиной оптического пути 10 мм и меньше при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Спектрофотометр работает под управлением компьютера.

6.4. Фурье-спектрометры

Инфракрасные (ИК) фурье-спектрометры так же, как и традиционные дисперсионные ИК-спектрометры, предназначены для измерения спектров поглощения проб исследуемых веществ в ИК-области спектра, которая характеризуется значениями длины волны электромагнитного излучения в диапазоне $\lambda = (0,8 \dots 50)$ мкм, что соответствует волновым числам $\nu = 1/\lambda$ в диапазоне $(200 - 12500)$ см⁻¹. В данной области спектра проявляется поглощение, связанное с характеристическими молекулярными колебаниями, которые определяют индивидуальный вид ИК-спектра каждого вещества. Наиболее информативной для идентификации веществ является область $(400 - 1800)$ см⁻¹, которую по этой причине обычно называют областью «отпечатков пальцев».

Основное отличие ИК-фурье-спектрометров от традиционных состоит в том, что для получения спектра здесь не используются какие-либо дисперсионные элементы, решетки или призмы, пространственно раскладывающие излучение с различными длинами волн. Основным элементом фурье-спектрометра является двухлучевой интерферометр Майкельсона (рис. 6.11), состоящий из полупрозрачного для ИК-излучения светоделителя и двух зеркал, одно из которых может перемещаться, изменяя длину пути, проходимого пучком излучения.

Зависимость регистрируемого сигнала от оптической разности хода пучков в интерферометре $I(x)$ называется интерферограммой. Максимум сигнала интерферограммы соответствует нулевой разности хода, когда все спектральные составляющие излучения двух пучков приходят на выход интерферометра в одинаковой фазе. Интерферограмма содержит информацию о спектральном составе излучения, а соответствующий спектр интенсивности $S(\nu)$ может быть получен с помощью обратного фурье-преобразования интерферограммы:

$$S(\nu) = 2 \int_0^L \left[I(x) - \frac{1}{2} I(0) \right] \exp(i2\pi\nu x) dx, \quad (6.6)$$

где $S(\nu)$ – спектр интенсивности, здесь ν – частота; L – максимальная разность хода; $I(x)$ – ход лучей при измерении; $I(0)$ – ход лучей при нулевой разности.



Рис. 6.11. Схема использования двухлучевого интерферометра:
 S – источник излучения; M_1 – неподвижное зеркало;
 M_1' – изображение неподвижного зеркала относительно светоделителя;
 M_2 – подвижное зеркало; B – светоделитель; D – фотоприемник

Спектральное разрешение, т. е. минимальное регистрируемое расстояние между отдельными линиями в спектре, для фурье-спектрометра равно $\Delta\nu \approx 1/L$.

Благодаря своему принципу действия ИК-фурье-спектрометры обладают существенно более высокой эффективностью по сравнению с дифракционными приборами.

При заданном разрешении $\Delta\nu$ в исследуемом интервале значений частоты между ν_1 и ν_2 укладываются $R = (\nu_1 - \nu_2) / \Delta\nu$ спектральных элементов, где R – так называемая разрешающая сила. Для дисперсионного ИК-спектрометра каждый спектральный элемент наблюдается в течение времени T/R , где T – общее время, необходимое для регистрации спектра. Следовательно, накопленный сигнал от одного спектрального элемента пропорционален T/R . Для интерферометра все спектральные элементы рабочего спектрального диапазона регистрируются одновременно в течение всего времени регистрации T . Таким образом, при одинаковом времени регистрации спектров выигрыш в отношении сигнал–шум для фурье-спектрометра будет составлять $R^{1/2}$. Для рутинных ИК-измерений разрешающая сила обычно составляет 1000–4000, что

соответствует выигрышу в отношении сигнал–шум примерно 30–70 раз. Кроме того, в дифракционном приборе для достижения требуемого разрешения необходимо использовать щели, которые существенно ограничивают мощность регистрируемого светового потока. Для фурье-спектрометра таких ограничений нет, что дает дополнительный выигрыш в 10–20 раз.

Излучение тепловых источников ИК-диапазона имеет низкую интенсивность, поэтому возможности дисперсионных ИК-спектрометров весьма ограничены, они не могут эффективно применяться для проведения массовых лабораторных измерений или контроля качества на производстве. Широкое использование ИК-фурье-спектрометров стало возможным после появления доступных персональных компьютеров. В настоящее время, благодаря своим преимуществам, ИК-фурье-спектрометры практически вытеснили дифракционные приборы.

Основные преимущества фурье-спектрометров:

- высокая чувствительность. Фурье-спектрометр в 100–1000 раз превосходит по чувствительности дифракционные приборы, что позволяет регистрировать низкие концентрации и предельно малые количества веществ, до 100 мкг и менее;

- высокая производительность. Время получения спектра в 10–30 раз меньше, чем для дифракционных приборов. Это позволяет получать качественные спектры менее чем за 1 мин и выполнять экспрессные измерения, переходя от выборочного контроля к полному, а также осуществлять мониторинг параметров технологического процесса в реальном времени;

- автоматизация измерений. Инструментальная часть процесса измерений и обработка полученных данных, включая количественный анализ и расчеты любой сложности, а также протоколирование результатов, выполняются автоматически под управлением програм-многo обеспечения;

- высокая надежность измерений. Благодаря автоматизации повышаются уровень стандартизации и качество оперативного контроля процесса измерений, снижается вероятность ошибки оператора;

- простота эксплуатации. Инфракрасный фурье-спектрометр имеет встроенный стандарт длины волны, процессы тестирования и поверки автоматизированы.

Устройство и работа фурье-спектрометра. Схема устройства фурье-спектрометра и получения спектров показана на рис. 6.12. Излучение от источника с помощью параболического зеркала коллимируется и в виде параллельного пучка падает на полупрозрачный светоделитель двухлучевого интерферометра Майкельсона, который расщепляет его на два примерно равных по интенсивности пучка. После отражения от соответствующих зеркал интерферометра излучение двух пучков снова складывается на светоделителе и с помощью фокусирующей оптики после прохождения через исследуемый образец направляется на приемник, который преобразует его в электрический сигнал. Подвижное зеркало интерферометра перемещается (сканирует), приводя к изменению оптической разности хода между двумя пучками. Изменение условий интерференции двух пучков при движении зеркала приводит к изменению интенсивности излучения, регистрируемой приемником.

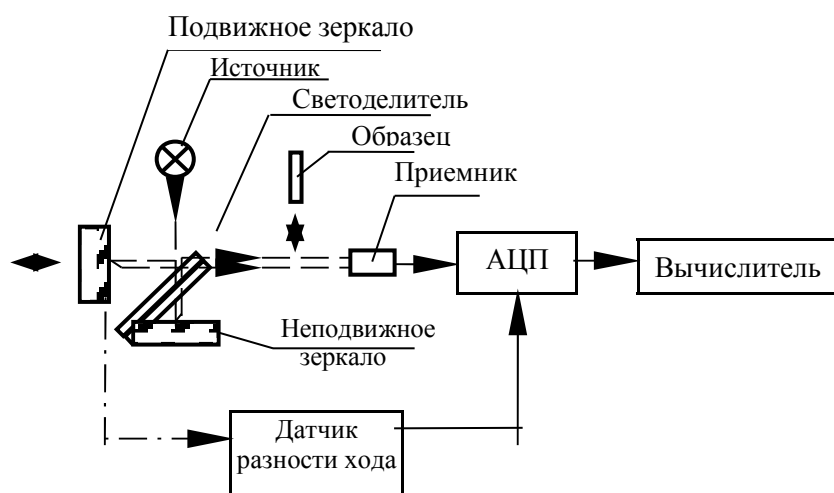


Рис. 6.12. Фурье-спектрометр

Электрический сигнал с выхода приемника усиливается и поступает на вход аналого-цифрового преобразователя (АЦП). Работа АЦП синхронизируется импульсами, поступающими с датчика разности хода. Цифровые данные с выхода АЦП поступают в вычислитель, в качестве которого может использоваться персональный компьютер или встроенное микропроцессорное устройство. Компьютер (встроенный микропроцессор) также обычно используется для управления исполнительными устройствами

фурье-спектрометра, например управления сканированием подвижного зеркала.

Все промышленные ИК-фурье-спектрометры построены по однолучевой схеме. Поэтому спектр пропускания исследуемого образца определяют как отношение спектра интенсивности излучения $S(\nu)$ при установленном образце в измерительном канале к аналогичному спектру $S_0(\nu)$ без образца или с образцом сравнения $T(\nu) = S(\nu) / S_0(\nu)$.

Наличие компьютера делает процесс получения спектра пропускания в однолучевом приборе таким же простым, как и в двухлучевом. При необходимости несложно рассчитать и оптическую плотность $D(\nu) = -\lg T(\nu)$.

Оптическая часть фурье-спектрометра включает источник ИК-излучения, двухлучевой интерферометр Майкельсона, приемник ИК-излучения, а также оптику для коллимирования пучка и фокусирования излучения в кюветном отделении на образце и приемнике. Для регистрации интерферограммы используется неселективный пироэлектрический приемник. Параллельное перемещение подвижного зеркала интерферометра обеспечивается прецизионной механикой, а в качестве датчика оптической разности хода используется вспомогательный лазерный интерферометр с гелиево-неоновым лазером в качестве источника. Поскольку длина волны излучения гелиево-неонового лазера $\lambda_0 = 0,6328$ мкм, фотоприемник на выходе лазерного интерферометра регистрирует серию импульсов, соответствующих изменению оптической разности хода на $\lambda_0/2 = 0,3164$ мкм. Эти импульсы используются для запуска АЦП. В кюветном отделении предусмотрена возможность установки исследуемых образцов, в том числе жидкостных и газовых кювет, а также различных приставок.

Оптические элементы ИК-фурье-спектрометра обычно размещаются в герметичном корпусе, снабженном патронами с силикагелем, также может быть предусмотрена система продувки сухим инертным газом. Осушка камер и продувка инертным газом позволяют существенным образом уменьшить влияние паров воды и углекислого газа, находящихся в воздухе и поглощающих ИК-излучение, на результаты измерения спектров.

Электронная часть спектрометра состоит из системы регистрации сигнала, включающей детектор с предварительным усилителем, усилитель и АЦП, схем управления, обеспечивающих

организацию накопления и обмена данными, интерфейсного устройства для сопряжения с компьютером, а также блока питания.

Система управления и обработки данных фурье-спектрометров обычно построена на базе стандартного персонального компьютера и обеспечивает возможность оперативного управления процессом измерения, математическую обработку полученных спектров, хранение всей полученной информации, а также ее отображение на дисплее или представление в виде обычного документа.

Характеристики ИК-фурье-спектрометров могут варьироваться в широких пределах, выбор необходимого прибора определяется поставленными задачами.

Простые ИК-фурье-спектрометры, предназначенные для рутинных измерений в средней ИК-области, обычно имеют диапазон 400–4800 см⁻¹, который реализуется с помощью светоделителя из KBr. Для более дорогих и универсальных приборов рабочий диапазон может быть расширен как в сторону длинных волн – до 250 см⁻¹, так и коротких – до 10 см⁻¹ путем использования сменных светоделителей.

Спектральное разрешение. Для рутинных измерений обычно достаточно разрешения в 1 см⁻¹. В то же время существуют серийные приборы, имеющие разрешение до 0,003 см⁻¹.

Для исследования абсорбционных спектров жидких образцов традиционно используются разборные и неразборные кюветы толщиной в пределах от десятков микрон до нескольких сантиметров. В случае сильно поглощающих жидкостей, например водных растворов, когда необходимо обеспечить толщину поглощающего слоя в пределах 5–20 мкм, целесообразно для регистрации абсорбционных спектров использовать метод *многократного нарушенного полного внутреннего отражения* (МНПВО), так как использование кювет соответствующей толщины сильно затруднено.

Для исследования газовых сред используются газовые кюветы с оптическим путем от долей сантиметра до нескольких десятков метров. Для практической реализации оптического пути более 10 см используют так называемые многоходовые кюветы, в которых световой пучок многократно отражается системой зеркал в пределах сравнительно небольшого объема кюветы, обычно в пределах 2–3 дм³. Такие измерения позволяют проводить анализ

многокомпонентной газовой смеси с концентрацией компонентов вплоть до 10^{-7} .

В твердых образцах можно непосредственно анализировать спектры пропускания, если образцы имеют форму плоскопараллельных пластинок. В других случаях можно измерять спектры порошков, приготавливая образцы в виде таблеток с добавлением порошка исследуемого вещества или исследуя спектры диффузного отражения.

Измерение спектров отражения применяют для исследования свойств поверхности, в частности характеристик адсорбции. Наибольшая чувствительность в этом случае достигается при больших углах падения зондирующего пучка $\alpha = (80 \dots 85)^\circ$. Интерферограмма содержит информацию о спектральном составе излучения, а соответствующий спектр интенсивности $S(\nu)$ может быть получен с помощью обратного фурье-преобразования интерферограммы.

Благодаря своему принципу действия ИК-фурье-спектрометры обладают существенно более высокой эффективностью по сравнению с дифракционными приборами.

На рис. 6.13 в качестве примера изображена спектрограмма трансизомеров масла.

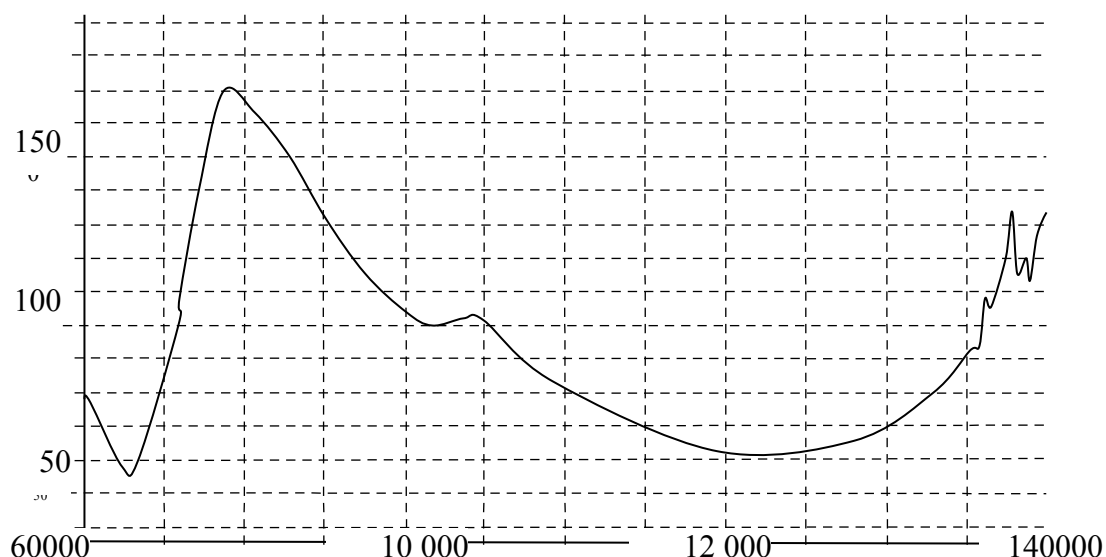


Рис. 6.13. Спектрограмма трансизомеров масла

Фотометрические, особенно спектрофотометрические, анализаторы применяют не только для анализа. Их используют для

изучения реакции между веществами в растворе, а также изучения состава и строения соединений, влияния различных факторов на равновесие между реагирующими веществами.

Для фотометрического метода анализа наиболее характерны источники погрешности, связанные с проведением химических реакций, способствующие образованию светопоглощающих соединений (чем более полно анализируемый компонент переведен в соединение, тем эта погрешность меньше); зависящие от способа измерения; определяемые полнотой выделения данной части спектра; обусловленные влиянием сопутствующих веществ и внешних условий; вызванные нестабильностью образовавшихся соединений или самого анализируемого раствора во времени. Фотометрический метод используется в широком диапазоне значений концентрации – от 10^{-3} – 10^{-4} до 0,1–0,3. Относительная погрешность измерения составляет от десятых долей процента (у лабораторных) до нескольких процентов (у промышленных).

6.5. Оптические датчики

В зависимости от эффекта, положенного в основу принципа действия, оптические датчики делятся на пять типов:

– фотоэлектронная эмиссия (или внешний фотоэффект) – это испускание электронов при падении света на анализируемое вещество;

– эффект фотопроводимости (или внутренний фотоэффект) – изменение электрического сопротивления измеряемого продукта при облучении его светом. Этим эффектом обладают, например, такие материалы, как ZnS, CdS, Ga, As, Ge, PbS и др.;

– фотогальванический эффект – он заключается в возникновении ЭДС на выводах *p-n*-перехода в облучаемом светом полупроводнике;

– пироэлектрический эффект – явления, при которых на поверхности физического тела вследствие изменения поверхностного температурного «рельефа» возникают электрические заряды, соответствующие этим изменениям. Из датчиков этого типа широко используются ИК-датчики;

– волоконно-оптические измерительные преобразователи (ВОИП).

В оптоэлектронных преобразователях измеряемая величина воздействует на оптический канал, изменяя параметр излучаемого

потока при его распространении от источника к приемнику. Наиболее просты по конструкции оптоэлектронные преобразователи, в которых под воздействием физической величины изменяется интенсивность потока некогерентного излучения.

К достоинствам ВОИП можно отнести следующие:

- отсутствие влияния электромагнитных наводок и помех на результаты измерений;
- возможность измерений при высокой степени электроизоляции в условиях полной взрывобезопасности;
- возможность измерений при отсутствии источников питания;
- волоконно-оптические элементы не являются источниками электромагнитных помех.

Все эти факторы в значительной мере способствовали использованию ВОИП в измерительной технике.

К достоинствам оптических датчиков относятся:

- возможность бесконтактного измерения, высокая скорость отклика;
- применение интегральной технологии обусловило уменьшение размеров датчиков и увеличение срока службы.

Недостатками являются чувствительность к загрязнению, влияние на результат измерения колебаний температуры.

Дальнейшее развитие оптических методов связано прежде всего с применением достижений волоконной оптики, причем не только для передачи направленных потоков оптического излучения на значительные расстояния, но и собственно для преобразования измерительной информации. Другим направлением развития оптических методов является применение лазеров в качестве источника излучения, что позволяет повысить стабильность, точность и чувствительность измерений.

В настоящее время значительные достижения имеются в области создания волоконно-оптических датчиков физических величин. На основе исследований появились предпосылки создания экспресс-анализаторов качества продукции в потоке с помощью оптического метода зондирования. Сущность названного метода заключается в измерении диффузного отражения от поверхности продукта; для передачи информации о качестве объекта используется волоконно-оптическая система, что существенно расширяет возможности этого метода. С его помощью были проведены спектрофотометрические исследования образцов

(сушеных яблок, сливы, винограда). Результаты позволяют рекомендовать оптический метод зондирования для широкого использования. Существует два метода оптического зондирования:

– основанный на пропускании света через локальный объем анализируемого продукта и регистрации изменения его оптической проводимости.

– основанный на отражении света от конца световода, помещенного в контролируруемую среду.

Оптические методы зондирования дают возможность исследовать качество продукции непосредственно в потоке.

Применение лазера расширяет возможности оптических методов.

Проведенные экспериментальные исследования показали высокую эффективность лазерно-оптических методов при контроле состава молока. Возможность применения этого метода основана на том, что характеристики рассеяния света зависят от оптических свойств молока и содержат информацию о концентрации и дисперсном составе его компонентов. Известно, что основной вклад в рассеяние света вносят частицы жира и белка.

Развитие рефрактометрии идет по двум направлениям:

1) использование оптических волокон; измеряется ослабление света в оптическом волокне, погруженном в исследуемую жидкость;

2) применение лазера; контролируется угол дифракции света, проходящего через дифракционную решетку, задняя сторона которой находится в контакте с исследуемой жидкостью.

Достоинствами лазерных рефрактометров являются их простота, возможность дистанционных измерений и использования на технологических линиях.

На основе применения лазеров создан датчик определения загрязнения жидкостей, позволяющий обнаруживать частицы, размер которых не превышает 0,2 мкм. Используемый в этом датчике гелиево-неоновый лазер однородно освещает всю кювету, через которую проходит объем жидкости с расходом 20 мл/мин, обеспечивая обнаружение всех частиц независимо от их положения в кювете. Датчик может использоваться для всех агрессивных и неагрессивных технологических жидкостей.

6.6. Радиометрические методы

Радиометрические методы основаны на использовании различных видов ядерных излучений и взаимодействий. В настоящее время они применяются для измерения состава многих веществ пищевых анализируемых объектов.

Например, для измерения влажности жидких и твердых веществ используется метод ослабления интенсивности γ -излучений при прохождении их через исследуемое вещество, основанный на зависимости рассеяния и поглощения γ -лучей от свойств вещества – плотности и химического состава. Ослабление интенсивности излучения в слое вещества постоянной толщины при неизменных условиях зависит от его влажности. Основное практическое применение влагомеров – измерение влажности грунтов, почв и торфа в полевых условиях без нарушения структуры материала.

Для измерения состава одним из наиболее перспективных является нейтронно-активационный анализ, к достоинствам которого относятся высокая селективность и точность, экспрессность, неразрушающий характер, низкий порог обнаружения элементов.

Сущность нейтронно-активационного анализа: образец облучают потоками нейтронов высокой плотности, в результате чего атомы одного или всех элементов образца становятся радиоактивными; анализ основан на измерении энергии, испускаемой облученным образцом, и интенсивности излучения. Этот метод позволяет проводить как качественный, так и количественный анализ. К недостаткам следует отнести необходимость источника активации (например, реактора) и специального оборудования.

Нейтронный метод, применяемый для измерения влажности, основан на замедлении и рассеянии быстрых нейтронов при упругих соударениях с ядрами водорода, входящими в состав воды анализируемого продукта. Для материалов, не содержащих углеводорода и поглотителей нейтронов, число возникающих замедленных нейтронов приблизительно пропорционально содержанию в них водорода, т. е. пропорционально влажности. Однако нейтронные влагомеры могут применяться лишь для тех продуктов, в которых водород содержится только в воде, и малоприспособны для веществ, составной частью которых является водород.

Рентгеновский метод измерения влажности обладает достоинствами γ -метода, но имеет большую чувствительность благодаря более сильному поглощению рентгеновского излучения водой. Этим методом измеряют объемную влажность высокого содержания.

6.6.1. Релаксационные методы ядерного магнитного резонанса

Методы ядерного магнитного резонанса (ЯМР) применяют для технологического контроля в пищевой промышленности. Релаксационными методами ЯМР называются методы, в которых в качестве аналитических параметров используются интенсивность сигналов и время ядерной магнитной релаксации.

В основе данных методов лежит поглощение энергии электромагнитных волн ядрами, обладающими магнитным моментом, в радиочастотном диапазоне.

Как известно, атомы состоят из ядер и электронных оболочек. Каждое ядро несет положительный заряд, кратный заряду ядра водорода (протона). Помимо этого некоторые ядра ведут себя как слабые постоянные магниты. Для объяснения этого свойства, используемого для анализа, представим себе ядро в виде шарика, в котором более или менее равномерно распределен положительный заряд. Шарик вращается, за счет чего его заряд движется по круговой орбите вокруг оси вращения. Таким образом, возникает круговой электрический ток. Известно, что электрический ток создает магнитное поле. Следовательно, вращающееся ядро представляет собой миниатюрный постоянный магнитик, имеющий два полюса, разделенные некоторым расстоянием l . Такая система называется диполем. Если магнит поместить в магнитное поле напряженностью H , диполь будет стремиться повернуться так, чтоб расположиться вдоль силовых линий внешнего магнитного поля. На северный и южный полюсы магнита будут действовать силы, равные по значению, но противоположно направленные. Они образуют пару сил, вращающий момент которых равен произведению силы на плечо: $M = mHL = -H$. Величина $L = ml$ называется магнитным моментом.

Собственными магнитными моментами обладают электронные оболочки и большинство ядер, но ядерный эффект проявляется лишь в сильных магнитных полях, в которых ядра стремятся

ориентироваться определенным образом. Эта ориентация во внешнем магнитном поле выражается лишь в изменении положения оси вращения, или так называемой прецессии орбиты; формы же орбиты электрона, ее наклон по отношению к силовым линиям магнитного поля и движение электрона по орбите не изменяются во времени. Таким образом, влияние магнитного поля аналогично тому эффекту, который можно наблюдать, если при вращении волчка отклонить его ось от первоначального положения.

Магнитные моменты электрона и ядра определяют их собственные моменты количества движения. Последние называются спином. Для их описания в квантовой физике введено спиновое квантовое число. Ядра, имеющие нечетное число нейтронов (^{13}C , ^{127}I) либо протонов (^1H , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , ^{11}B , ^{79}Br), но не одновременно, обладают нечетным спином. Движение заряда, связанного с этими ядрами, приводит к возникновению магнитного поля. Поэтому ядро обладает собственным магнитным моментом L , вектор которого направлен в ту же сторону, что и вектор собственного момента количества движения (спина) ядра. Ядра, у которых четное число как протонов, так и нейтронов (^{12}C , ^{16}O , ^{28}Si , ^{32}S), не имеют собственного момента количества движения ($I = 0$) и не обладают магнитными свойствами.

Под действием внешнего магнитного поля магнитные ядра принимают определенную дискретную ориентацию с соответствующими энергетическими уровнями. Для данного ядра возможно $2I + 1$ уровней ориентации. В частном случае, когда $I = 1/2$ (^1H , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P), существует лишь две возможные ориентации. Спин ядра может располагаться вдоль силовых линий приложенного магнитного поля или в противоположном направлении. При этом энергии будут соответственно равны, но противоположны по знаку: $E = \mu H$. Таким образом, изменение энергии при переориентации составит $\Delta E = 2\mu H$, где H – напряженность внешнего магнитного поля.

Согласно атомной модели Бора, электроны вращаются вокруг ядра только по определенным орбитам. В соответствии с этим они могут иметь лишь определенные значения энергии. Энергия, освобождающаяся при переходе электрона с одной орбиты на другую, излучается в виде электромагнитного колебания с частотой ν , зависящей от разности энергий обоих уровней: $-E = h\nu$, где h – постоянная Планка.

Квантование энергии проявляется и в поведении ядерного магнита в магнитном поле: разрешенными являются только определенные направления между магнитным моментом ядра и силовыми линиями внешнего магнитного поля, что и характеризуется спиновым квантовым числом. Исходя из этого условие перехода ядра с одного уровня на другой описывается выражением $\Delta E = (h\gamma H_0)/2\pi$, где γ – гиромагнитное отношение, которое является характеристикой свойств конкретных ядер. Из этого выражения следует, что под воздействием переменного поля с частотой ν , приложенного под прямым углом к однородному магнитному полю напряженностью H_0 , ядра с гиромагнитным отношением γ приобретают энергию, необходимую для перехода из ориентации с низкой энергией в состояние с высокой энергией. Такой переход называется магнитным резонансом. Следовательно, если на ядра действует поле с резонансной частотой, происходит резонансный переход ядер между двумя уровнями с заданной энергией. Поглощение энергии ядрами приводит к падению интенсивности колебаний переменного поля, которое можно измерить и использовать для изучения этого явления.

Гиромагнитное отношение определяет соотношение частоты переменного поля и напряженности магнитного поля, необходимое для достижения резонансных условий. Большинство исследований на протонах проводят обычно с использованием частоты 60 или 100 МГц. Гиромагнитное отношение для протона равно $2,674 \cdot 10^4 \text{ Э} \cdot \text{с}^{-1}$. Поэтому напряженность магнитного поля, необходимая для возникновения протонного резонанса, соответственно равна 14094 или 23490 Э (рис. 6.14).

Поглощенная образцом вещества энергия радиочастотного поля зависит от количества в нем ядер, обладающих данной резонансной частотой, а потому по поглощенной общей энергии можно оценивать содержание данного вещества в образце. Это дает возможность анализировать многокомпонентные системы путем постепенного подбора соответствующих частот колебаний или мощности магнитного поля. Получающиеся при этом пиковые зависимости энергетических выходов от частоты называются масс-спектрами и масс-спектро-граммами.

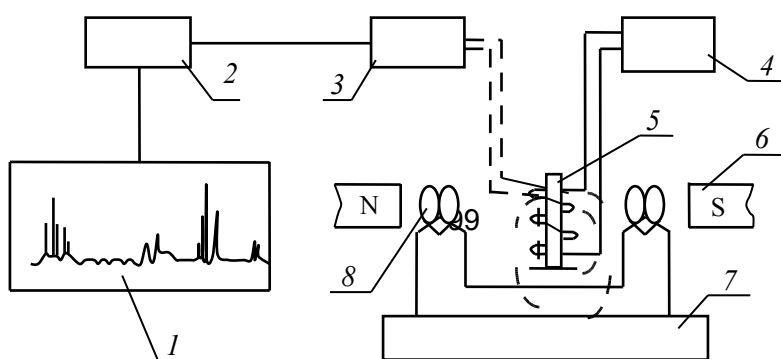


Рис. 6.14. Анализатор ядерного магнитного резонанса:
1 – регистрирующее устройство; 2 – усилительное устройство;
3 – радиочастотный приемник; 4 – радиочастотный генератор;
5 – капсула с образцом; 6 – магнит; 7 – генератор развертки;
8 – набор спиралей Гельмгольца

Возможно и узкоспециальное применение метода, когда система постоянно настроена на резонансную частоту только одного конкретного вещества. В этом случае устройство значительно упрощается. Например, магнетические свойства протона воды позволяют использовать этот метод для измерения влажности твердых и жидких сред.

Основными частями ЯМР-спектрометра (см. рис. 6.14) являются: электромагнит, или постоянный магнит, 6, создающий сильное, стабильное и однородное поле H_0 , которое представляет собой основную часть поля, воздействующего на образец; набор спиралей Гельмгольца 8, которые питаются постоянным током от генератора развертки 7 и накладывают на постоянное поле дополнительное так, что полная напряженность магнитного поля принимает резонансное значение; радиочастотный генератор 4, связанный со спиралью, которая передает энергию образцу в направлении, перпендикулярном к постоянному магнитному полю; радиочастотный приемник 3 излучения, связанный со спиралью, окружающей образец. Эта спираль закреплена перпендикулярно как к передающей спирали, так и к приложенному полю; зонд, служащий главным образом для закрепления образца между наконечниками магнита. Образец помещают в контейнер (кварцевую трубку длиной 5 мм), вращаемый турбинкой (для усреднения магнитного поля по трем измерениям образца). Усилительное 2 и регистрирующее 1 устройства связаны с радиочастотным детектором; блок интегратора предназначен для записи относительной площади пиков в спектре, являющейся мерой содержания в образце анализируемого компонента.

Для регистрации ЯМР-спектра образец закрепляют на зонде и помещают его в точно зафиксированное положение, соответствующее максимальной однородности поля. Затем включают переменное поле, частота которого фиксирована, и изменяют напряженность дополнительного магнитного поля (с помощью спиралей, соединенных с генератором развертки) до тех пор, пока не будут достигнуты резонансные условия. Этот момент регистрируется детектором в виде пика.

Рассмотрим работу ЯМР-влагомера. Анализируемое вещество, помещенное в измерительный преобразовательно-резонансный контур, находится в поле постоянного магнита, создающего в образце магнитное поле определенной напряженности. Преобразователь с веществом находится во внутренней полости катушки, входящей в параллельный резонансный контур, который питается током высокочастотного генератора. Радиочастотный сигнал поступает в приемник, где детектируется и усиливается. При подводе энергии с частотой, соответствующей резонансной частоте ядер водорода, наступает поглощение энергии, резко изменяющее эквивалентные параметры резонансного измерительного контура. Приемник преобразует это изменение в выходное напряжение, которое и подается на измерительное устройство.

Методы ЯМР-влагометрии разделяются на стационарный и импульсный. При стационарном методе образец анализируемого вещества должен находиться во взаимно перпендикулярных магнитных полях – постоянном и вращающемся. Равновесие, приводящее к установлению стационарного состояния, наступает при взаимной компенсации этих двух противоположных тенденций. Наиболее приемлемыми для измерения влажности параметрами ЯМР-сигналов являются: при стационарном методе – интегральная интенсивность сигнала абсорбции, а при импульсном – начальное значение сигнала свободной индукции или четные эхо-сигналы, получаемые при наложении на анализируемый образец импульсной последовательности Мейбаума–Гилла.

Проведенные исследования показали, что для таких продуктов, как крахмал, мармелад, конфеты, леденцы, жевательная резинка, при измерении массовой доли воды от 5 до 16 % абсолютная погрешность не превышает 0,5 %.

Среда, в которой находится образец, влияет на значение резонансной частоты, поэтому ЯМР-спектр образца имеет несколько

пиков, разделенных на группы, каждая из которых соответствует особому типу окружения ядра. Интенсивность сигналов прямо пропорциональна числу ядер, находящихся в окружении данного типа.

Регистрируемый спектр содержит информацию трех видов. Расположение и высота пиков свидетельствуют о молекулярном окружении отдельных ядер, о числе ядер в данном окружении, которые также могут участвовать в резонансе, и о природе ближайшего окружения. Спектр содержит информацию, позволяющую судить о структуре как простых, так и сложных молекул и является мощным инструментом многопланового изучения многообразных систем.

Достоинства этого метода:

- универсальность с точки зрения получения аналитической информации обо всех элементах Периодической системы. На одном спектрометре можно получить сигналы от всех магнитных ядер, лишь изменяя частоту облучения образца радиоманитным полем;

- независимо от химического строения и физического состояния вещества сигналы ЯМР для всех элементов не перекрываются и идентифицируются однозначно;

- наличие прямо пропорциональной зависимости поглощенной мощности от числа определяемых ядер в образце и независимость коэффициента пропорциональности от их химического состояния;

- может быть реализован на достаточно простой аппаратуре;

- точный, быстрый и бесконтактный.

Развитие этого метода связано прежде всего с появлением импульсной техники ЯМР, основанной на импульсном возбуждении высокочастотного поля. В его основе лежит избирательное поглощение веществом энергии электромагнитного поля на фиксированной частоте в результате переориентации ядерных спинов при определенных условиях. Резонансная частота, при которой наступает поглощение, зависит от свойств ядер и внешнего магнитного поля, действующего на это вещество. Количество поглощаемой энергии пропорционально числу ядер, содержащихся в образце, т. е. пропорционально числу протонов, входящих в состав молекулы воды.

Таким образом, по интенсивности поглощения энергии определяют влажность веществ, так как первое место по величине

создаваемого сигнала занимают ядра водорода. Искажение результатов измерения происходит лишь за счет ядер водорода – протонов, входящих в состав других элементов, кроме воды.

Импульсный ЯМР-метод может применяться не только для измерения влажности, но и для одновременного измерения содержания масла в семенах подсолнечника и сои. Для этого анализируемую пробу помещают в постоянное магнитное поле, при этом магнитные моменты ядер атомов водорода – протоны, ориентируясь определенным образом, образуют суммарный вектор ядерной намагниченности вещества. На вектор воздействуют серией радиочастотных импульсов, сначала частотой $0,5\pi$; потом π . Длительность импульсов выбирают из условия поворота вектора на угол 90° импульсом $0,5\pi$ и на 180° импульсом π . В интервалах между радиочастотными импульсами от протонов вещества анализируемой пробы регистрируют сигнал свободной прецессии после импульса $0,5\pi$ и спинового эха после импульса π . Огибающая сигналов спинового эха затухает экспоненциально с постоянной времени T_2 , которая характеризует процессы энергетического обмена между протонами исследуемого вещества. При наличии в анализируемой пробе различных протонсодержащих компонентов огибающая сигналов спинового эха представляет собой сумму сигналов ЯМР-протонов этих составляющих. На основании сказанного разработан метод совместного измерения влажности и масличности масличных семян и продуктов их переработки.

При другом варианте совместного измерения содержания жира и влаги в продуктах пищевой промышленности (колбасный фарш, мясо, растительное масло, кукурузная мука и др.) изменение соотношения времени релаксации достигается путем добавления к образцу хлорида марганца. Однако этот способ, позволяющий ускорить получение результатов анализа, не всегда удобен с точки зрения подготовки проб и неприемлем в случае, если добавка парамагнитных ионов воздействует как на анализируемый, так и на мешающие компоненты вещества.

Для разделения сигналов при отношении времени релаксаций меньше 10 предложена модификация рассмотренного выше способа, основанная на том, что время релаксации и, соответственно, положение связанного с фактором насыщения максимума сигнала не зависят от концентрации масла. При этом производятся два отсчета суммарного сигнала при двух значениях напряжения на контуре,

выбранных таким образом, чтобы составляющие амплитуды сигнала одного из компонентов (в данном случае масла) были равны и составляли, например, 0,7–0,8 от его максимального значения, достигаемого при условии $D = 1$. Содержание второго компонента определяется по разности между вторым и первым измерениями. Расчет показал, что второй компонент (вода) может быть измерен таким способом при отношениях времени релаксаций от 1,5 до 10.

Другой способ измерения маслячности материалов, содержащих воду, основан на зависимости высокочастотных потерь в катушке рабочего контура от концентрации воды. Экспериментальная проверка показала, что во всем диапазоне измерения маслячности жмыхов и шротов добротность контура на частоте 10 МГц не изменяется. В диапазоне значений массовой доли влаги от 0 до 6 % добротность контура также постоянна; от 6 до 20 % она уменьшается примерно на 14 % при начальном значении 215. В связи с этим в ЯМР-анализатор вводят корректирующие усилители, управляющие током в катушке контура и обеспечивающие тем самым постоянство напряженности высокочастотного поля. Выходное напряжение корректирующего усилителя пропорционально потерям в контуре и может использоваться для внесения поправки на влажность материала.

Общим недостатком двух последних методик разделения сигналов является увеличение дополнительной погрешности, обусловленной изменением времени релаксации, например, при переменном содержании в образцах парамагнитных примесей, колебаниях температуры и др.

Для измерения маслячности и влажности сред перспективно сочетание двух методов – ядерного магнитного резонанса и диэлькометрического. Подобный двухпараметрический контроль имеет ряд преимуществ: возможность измерения содержания независимо от соотношения времени релаксаций компонентов; возможность выбора оптимальных режимов и методик контроля каждого из компонентов; обеспечение практически одновременного отсчета по обоим параметрам, что особенно важно при контроле сред в потоке.

Таким образом, метод ЯМР позволяет решить важные вопросы аналитической химии:

– идентификацию органических соединений. Определение или подтверждение структуры (структурный анализ). Качественный анализ сложных смесей;

– количественный анализ органических соединений в сложных смесях, как правило, с использованием внутренних стандартов. Метод не деструктивный, позволяет проводить измерения с использованием одного спектра, не требует предварительной градуировки;

– изучение динамического равновесия конформационных превращений, таутомерии, меж- и внутримолекулярных превращений и т. д.;

– исследование комплексных образований. Разрабатываются методы получения реального двухмерного изображения объекта с помощью метода ЯМР (ЯМР-интроскопия). Это является результатом съемки спектра ЯМР при наложении на образец градиента поля. Для улучшения соотношения сигнал–шум в приборах ЯМР используется импульсная спектроскопия Фурье.

Ограничением ЯМР-спектроскопии как аналитического метода является его низкая чувствительность, поэтому трудно измерять малые значения концентрации веществ.

6.6.2. Методы квадрупольного резонанса

Методы, основанные на явлении квадрупольного резонанса – чисто электростатического взаимодействия квадрупольного момента ядра с градиентом электрического поля электронного окружения в месте расположения ядра, применяются для измерения температуры на различных уровнях точности. Разделение ионов осуществляется при прохождении ионного пучка вдоль оси между четырьмя параллельными стержнями, к которым одновременно приложено постоянное и переменное высокочастотное напряжение. Между стержнями создается поле с гиперболическим распределением потенциала. При фиксированных значениях частоты и амплитуды переменного поля только ионы с определенным значением отношения массы иона к его заряду m/z проходят через анализатор, попадая на коллектор ионов.

Амплитуда колебаний ионов с другим m/z нарастает по мере их движения между стержнями квадрупольного поля так, что эти ионы достигают стержней и нейтрализуются. Чтобы их зафиксировать, изменяют либо частоту, либо амплитуду высокочастотного

переменного поля. Таким образом, ионы с разной массой регистрируются при разных значениях частоты (или амплитуды) переменного поля, в результате чего формируется масс-спектр.

Одной из разновидностей квадрупольного масс-анализатора является «ионная ловушка». Ее особенность – совмещение области ионизации и анализа. После ионизации определяемых молекул образующиеся ионы, имеющие значение указанного отношения больше некоторого заданного, удерживаются в электронной ловушке полем квадрупольного поля. Последнее формируется за счет приложения радиочастотного напряжения между кольцевым и торцевым электродами. При увеличении амплитуды радиочастотного поля пропорционально растет нижняя граница интервала m/z ионов, которые удерживаются в ловушке. Поэтому рост амплитуды приводит к тому, что ионы в порядке увеличения m/z быстро покидают область удерживания и достигают детектора.

6.6.3. Масс-спектрометрия

К методам этой группы относится совокупность методов исследования вещества путем определения спектра масс нуклидов, содержащихся в веществе, и их распространенности. Рассматриваемые методы основаны на взаимодействии электрических и магнитных полей на пучки ионов, движущихся в вакууме. Для регистрации ионных токов обычно используются усилители постоянного тока либо фотопластинки.

6.6.4. Масс-спектрометрический метод

Метод основан на измерении важнейшей характеристики вещества – массы его молекул или атомов. Это дает возможность определять состав газообразных, жидких и твердых веществ независимо от их физических и химических свойств. Метод является одним из наиболее совершенных универсальных современных методов анализа. К преимуществам метода относятся: возможность определения многих компонентов сложных смесей; для анализа требуется очень малое количество анализируемого вещества; достаточно высокая скорость проведения анализа и высокая чувствительность – до 0,001 %.

В основе метода лежит свойство заряженных частиц – ионов вещества менять направление или скорость своего движения в

электрическом либо магнитном поле в зависимости от отношения массы частицы к ее заряду. Метод заключается в переводе образцов (твердых и жидких сред) в газообразные; в переводе молекул анализируемого вещества в положительные ионы и формировании ионного пучка; разделении ионного пучка по массе в магнитном или электрическом поле; в улавливании ионов, отдельном измерении и регистрации ионных токов каждой составляющей ионного пучка.

Распределение ионов по массе на пучки и их относительная интенсивность образуют масс-спектр, из которого получают различную информацию о молекулах веществ, введенных в прибор. По относительной интенсивности каждого выделенного пучка определяют концентрацию компонентов анализируемой смеси. Изучение масс-спектров позволяет найти точные формулы молекул и определить молекулярную массу. Опытные масс-спектрометристы могут по ним охарактеризовать исходное вещество и полностью расшифровать его структуру.

На рис. 6.15 показана принципиальная схема масс-спектрометра.

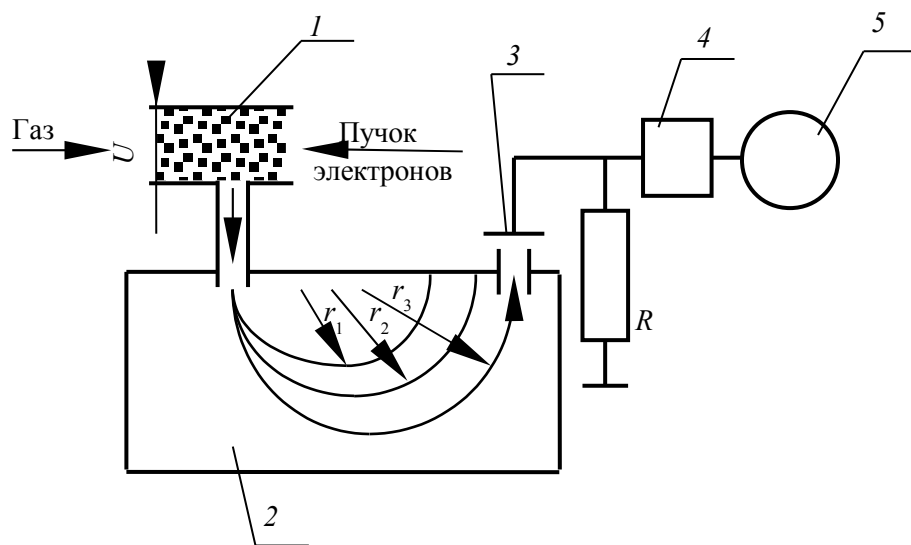


Рис. 6.15. Масс-спектрометр:
 1 – ионизационная камера; 2 – камера; 3 – коллектор;
 4 – усилитель; 5 – измерительный прибор

Системой введения анализируемое вещество подают в ионизатор, где молекулы превращаются в ионы. В случае твердых и жидких проб ионизатор включает испаритель, переводящий пробу в газообразное состояние. Для ионизации используют облучение

пробы фотонами, ионами, воздействием электрического поля и др. Образующиеся положительно заряженные ионы проходят через пластины, между которыми наводится электрическое поле с разностью потенциалов в несколько тысяч вольт. Остатки неионизированного вещества удаляются вакуумным насосом. Быстро движущиеся ионы попадают в магнитное поле напряженностью H . При этом в зависимости от массы иона, его заряда и соотношения ускоряющего напряжения и напряженности магнитного поля эти ионы начинают двигаться по траекториям с различными радиусами.

Масс-спектры получают, одновременно регистрируя все ионные пучки на одной фотопластинке (масс-спектрография) или непрерывно изменяя радиусы (варьируя H или U) так, что различные пучки ионов достигают улавливающего электрода последовательно (масс-спектрометрия). Спектры регистрируют на ленточном самописце или с помощью осциллографа.

Одна из основных характеристик масс-спектрометра – его разрешающая способность. Она отражает способность прибора разделять линии, относящиеся к ионам с близкой массой. Считается, что два пика равной высоты разрешены, если в промежутке между ними интенсивность не превышает 10 % высоты пика. Отсюда разрешающая способность системы определяется как относительная разность массы для двух ионов, линии которых можно разрешить. Более же принято разрешающую способность выражать обратной величиной.

Значение необходимого разрешения зависит от задачи, которую необходимо решить: при увеличении разрешающей способности масс-спектр становится более сложным и его интерпретация затрудняется. Разрешающая способность простейших приборов лежит в пределах 200–2000. Масс-спектрометры высокого разрешения обладают разрешающей способностью 20 000–200 000.

Для точных измерений массы элементов одновременно регистрируют спектры образца и калибровочного соединения. Это соединение, обычно фторсодержащее, должно давать в масс-спектре линии ионизированных фрагментов известного состава, которые можно легко идентифицировать.

В последнее время разработаны устройства, передающие информацию с детектора на компьютер, что ускоряет обработку данных и дает возможность непосредственно получать концентрационные характеристики. Масс-спектры многих веществ

подробно изучены и представлены в специальных атласах в виде спектрограмм или таблиц.

6.6.5. Методы электронного парамагнитного резонанса

Методы электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) относятся к радиоспектроскопическим (спиномрезонансным) методам анализа, с помощью которых изучают взаимодействие вещества с излучением в радиочастотном диапазоне.

Методы ЭПР и ЯМР имеют много сходных черт. Оба основаны на явлении магнитного резонанса – избирательном поглощении электромагнитного излучения в радиочастотном диапазоне и обусловлены магнитными свойствами частиц (электронов – в методе ЭПР и ядер – в методе ЯМР).

Магнитный резонанс можно истолковать с квантово-механических и классических позиций. Согласно классическим представлениям, заряженная частица, имеющая собственный механический момент (спин), при движении создает магнитное поле, т. е. характеризуется собственным магнитным моментом μ .

При помещении заряженной частицы в постоянное магнитное поле H_0 ее магнитный момент взаимодействует с полем с энергией $E = -\mu H$. В результате такого взаимодействия частица получает вращательный момент, вызывая прецессию вектора вокруг H_0 под неизменным углом φ с частотой ν_0 . Такая прецессия создает переменный магнитный момент, вращающийся с частотой ν_0 перпендикулярно направлению поля H_0 . Если в той же плоскости в том же направлении вращается переменное магнитное поле H_1 с частотой ν_1 , то это поле взаимодействует с немагнитным моментом. Взаимодействие тем больше, чем частота ν_1 ближе к ν_0 . При $\nu_1 = \nu_0$ наступает резонанс, сопровождающийся перекачкой (поглощением) энергии переменного магнитного поля H_1 в исходную систему.

С позиций квантово-механической модели состояния спина (электронного и ядерного) и магнитного момента квантованы. При отсутствии магнитного поля состояния частицы, характеризующиеся спиновыми квантовыми числами $\pm 1/2$, вырождены, т. е. имеют одну и ту же энергию. При помещении частицы в постоянное магнитное поле H_0 вырождение снимается и энергии уровней с $m_s = +1/2$ и $m_s = -1/2$ оказываются неравными. Магнитный резонанс возникает вследствие переходов частицы из нижнего энергетического состоя-

ния в более высокое, индуцируемое переменным полем H_1 с частотой ν_1 .

Условие перехода $\Delta E = h\nu_1 = g\beta H_0$ является условием резонанса. Поглощение энергии магнитного поля H_1 системой определяется избытком магнитных частиц в нижнем энергетическом состоянии. Этот избыток невелик из-за малых значений величины ΔE и близости заселенности верхнего и нижнего состояний. При поглощении энергии нарушается термодинамическое равновесие в системе спинов и разность заселенности уменьшается. Однако существуют релаксационные процессы, возвращающие систему в равновесное состояние вследствие наличия безызлучательных процессов.

Различают два типа релаксационных процессов: спин-решеточную (продольную) релаксацию, характеризующуюся временем T_1 , и спин-спиновую (поперечную) релаксацию, характеризующуюся временем T_2 . Спин-решеточная релаксация связана с передачей энергии ядер окружающей среде (решетке) и превращением ее в тепловую. Чем больше время релаксации, тем меньше разность заселенности уровней, а следовательно, и меньше сигнал. В предельном случае он может совсем исчезнуть, когда достигнуто равенство заселенности уровней (явление насыщения). Малое время релаксации исключает возможность насыщения, однако при малых T_1 , что соответствует малому времени жизни системы в возбужденном состоянии, линия поглощения сильно уширяется. Уменьшение времени жизни системы в возбужденном состоянии Δt влечет увеличение ΔE , что приводит к уширению линии. Например, ширина линии ЭПР для свободных органических радикалов составляет ~ 1 Э. Для парамагнитных ионов переходных металлов вследствие большого вклада орбитального момента характерно малое время релаксации, и линии уширяются до 10 Э. По тем же причинам спектры ЭПР-ионов элементов, для которых спин-орбитальное взаимодействие велико, вообще не наблюдаются, даже при температуре жидкого азота 77 К.

Спин-спиновая релаксация заключается в обмене энергии между спинами частиц. При этом ядра одного атома с высокой энергией передают часть своей энергии другому атому, находящемуся в более низком энергетическом состоянии.

Для экспериментального наблюдения резонансного поглощения существует две возможности. В обоих случаях

соблюдается условие резонанса $h\nu_1 = g\beta H_0$. Можно варьировать частоту ν_1 при постоянном магнитном поле H_0 , а можно изменять напряженность магнитного поля H_0 , оставляя неизменной частоту ν_1 . В спектрометрах ЭПР и в большинстве ЯМР-спектрометрах реализуется вторая возможность.

Принцип работы установки ЭПР: электромагнитные колебания от генератора (клизотрона) поступают в резонатор (поглощающую ячейку). Резонатор и помещенное в него исследуемое вещество находятся в постоянном магнитном поле, создаваемом магнитом. Напряженность магнитного поля сканируется. При достижении резонанса исследуемое вещество поглощает энергию, количество которой детектируется, усиливается и поступает на регистрирующее устройство. Регистрация спектра осуществляется либо в виде линии поглощения, либо в виде ее производной. Чаще всего если в ЯМР-спектро-метрии высокого разрешения регистрируют сигнал поглощения, то в ЭПР – ее первую или вторую производную. При обычно применяемых магнитных полях (10^3 – 10^4) Э частота ЯМР попадает в диапазон коротких радиоволн (10^6 – 10^8) Гц, а ЭПР – в микроволновый диапазон (10^8 – 10^{10}) Гц.

Большинство стандартных ЭПР-спектрометров работают на частоте 9400 МГц ($\lambda = 3,2$ см), что соответствует напряженности магнитного поля $H_0 = 3300$ Э для $g = 2$. В ряде случаев используют более длинные (до 100 см) и более короткие (8 и 4 мм) волны. Чувствительность оценивается числом детектируемых частиц на 1 Э. Если ширина линии составляет 1 Э, то предел обнаружения методом ЭПР составляет $n \cdot 10^{10}$ частиц.

Сигнал ЭПР наблюдается для веществ, в атомах или молекулах которых имеются неспаренные электроны. К ним относятся:

- органические и неорганические свободные радикалы;
- ионы с частично заполненными внутренними уровнями ($3d$ - и $4d$ -переходные элементы и некоторые $4f$ -элементы);
- атомы и молекулы с нечетным числом электронов, например атомы водорода, азота, молекулы NO, ClO₂ и др.;
- кристаллы, имеющие центры окраски;
- металлы и полупроводники, имеющие электроны проводимости.

При химическом анализе чаще имеют дело с первыми двумя группами веществ.

Исследования ЭПР проводят с жидкими и твердыми образцами, реже – с газообразными. При работе с жидкими образцами целесообразнее использовать неполярные органические растворители, так как увеличение диэлектрической проницаемости приводит к ухудшению аналитического сигнала. Для твердых образцов наиболее перспективно использование монокристаллов, однако из-за трудности их получения чаще работают с замороженными растворами (стеклами) или с поликристаллическими порошками. Для снижения спин-спинового взаимодействия часто используют совместную кристаллизацию парамагнитного вещества с диамагнитными, образующими с ним изоморфные кристаллы.

Симметричная линия поглощения ЭПР характеризуется ее положением в магнитном поле, интенсивностью, шириной и формой. Положение линии в магнитном поле определяется g -фактором, являющимся мерой эффективного магнитного момента электрона. Величина g -фактора – индивидуальное свойство каждого вещества. Угол расхождения энергетических уровней при увеличении магнитных полей зависит от g -фактора, и для различных веществ он разный. С другой стороны, g -фактор зависит от структуры атома, свойств его ядра и его химического окружения, что позволяет исследовать строение молекул вещества.

Ограничением метода ЭПР является малое число объектов исследования, поскольку большинство ионов металлов и органических веществ диамагнитно. К тому же линии парамагнитных ионов широки вследствие вклада орбитальной составляющей в магнитный момент. Часто их трудно использовать для чувствительных аналитических определений. Избежать эти недостатки позволяет использование комплексообразования диамагнитных ионов с органическими лигандами, являющимися стабильными свободными радикалами (спин-меченые реагенты). В этом случае концентрацию диамагнитного иона определяют по парамагнетизму органической части компонентов соединения. Использование спин-меченых реагентов делает метод ЭПР универсальным, метод становится пригодным для определения ионов в любой степени окисления, как парамагнитных, так и диамагнитных. Кроме того, спектры ЭПР с реагентом-радикалом характеризуются более узкими линиями, что существенно повышает чувствительность определения металлов.

Применение ЭПР для исследования комплексообразования парамагнитных ионов открывает большие возможности для решения многих вопросов химии координационных соединений: о способе координации лиганда, содержащего несколько донорских атомов; о числе и эквивалентности донорских атомов, входящих в состав внутренней координационной сферы (по числу линий СТО от лиганда); о различиях в составе комплексных соединений в твердом и жидком состояниях (по характеру спектров ЭПР при варьировании температуры). Кроме того, метод дает возможность непосредственного изучения:

– последовательного комплексообразования и определения количественных характеристик; исследования смешанно-лигандных комплексов (по изменениям в спектрах ЭПР при замене одного лиганда другим);

– координационных соединений в необычных степенях окисления (малоустойчивые соединения можно получать непосредственно в ячейке резонатора спектрометра).

Метод позволяет также оценить степень ковалентности связи в комплексных соединениях и изучить кинетику аналитических реакций.

6.6.6. Метод протонного магнитного резонанса

Метод протонного магнитного резонанса (ПМР) обуславливает его широкое применение для идентификации органических соединений и качественного анализа сложных смесей путем сравнения положения полученных сигналов с описанными в литературе. Кроме того, химические сдвиги протонов отдельных классов органических соединений можно рассчитать по эмпирическим аддитивным схемам, основанным на постоянном вкладе отдельных структурных элементов в экранирование протона. Следует отметить, что положение протонов гидроксильной и аминогруппы может изменяться в широких пределах. Это связано с их способностью образовывать водородные связи, в зависимости от окружения и прочности водородной связи экранирование протона может меняться.

Количественный анализ методом ПМР основан на прямой пропорциональности интегральной зависимости интенсивности сигнала от числа протонов при резонансной частоте ν_0 и

напряженности переменного магнитного поля H . Для количественного анализа смеси известных веществ необходимо, чтобы для каждого компонента смеси имелся неперекрывающийся характеристический сигнал; определение в этом случае можно проводить в одну стадию, используя однократную съемку спектра ПМР. Наиболее часто для количественных ПМР-определений используют метод внутреннего стандарта. Количественный ПМР-анализ особенно перспективен для определения смеси родственных соединений, поскольку вид ПМР-спектра меняется даже при незначительных изменениях геометрии молекулы и порядка связей. Последнее обстоятельство широко используют для установления структуры чистых органических соединений и структурных различий близких по строению соединений при исследовании конформационных превращений и изомеризации.

Таким образом, спектральные методы позволяют решить следующие важные вопросы аналитической химии:

- идентификацию органических соединений. Определение или подтверждение структуры (структурный анализ). Качественный анализ сложных смесей;

- количественное определение органических соединений в сложных смесях, как правило, с использованием внутренних стандартов.

Метод неdestructивный, позволяет проводить определение, используя один спектр; не требует предварительной градуировки;

- изучение динамического равновесия конформационных превращений, меж- и внутримолекулярных превращений и т. д.;

- исследование комплексообразования. Разрабатываются методы получения с помощью метода ЯМР реального двухмерного изображения объекта (ЯМР-интроскопия). Это является результатом съемки спектра ЯМР при наложении на образец градиента поля. Для улучшения соотношения сигнал–шум в приборах ЯМР используется импульсная спектроскопия Фурье.

7. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Биологические методы основаны на использовании биологических элементов, которые определенным образом взаимодействуют с определяемым веществом.

В целях расширения методов проведения анализа разработаны ферментные электроды для определения аминокислот, фенилаланина, глутамина, креатимина, аденозинмонофосфата, нитрата, салицилата, ацетилхолина, метионина, о-ацетилсерина и гистидина. Ферментные электроды с амперометрическим способом индикации имеют определенные преимущества над потенциометрическими сенсорами. Поскольку продукт ферментативной реакции расходуется на электроде, вступая в электрохимическую реакцию, следовательно, время отклика уменьшается.

7.1. Биосенсоры

Биосенсоры – это измерительные устройства, в состав которых входит биологический элемент, специфически взаимодействующий с определяемыми молекулами.

Молекулы анализируемого вещества взаимодействуют с биомолекулярным элементом, расположенным (иммобилизованным) непосредственно на преобразователе (табл. 7.1). При этом взаимодействии генерируется поток электронов или изменяются физические свойства биомолекул, что преобразуется в электрический сигнал, который затем усиливается и выводится на индикатор.

Таблица 7.1

Биологические элементы и преобразователи

Биологические элементы (биологические катализаторы)	Преобразователи
Ферменты Антитела Рецепторы Клетки микроорганизмов Срезы тканей ДНК Другие биополимеры	Электрохимические: потенциометрический электрод, амперометрическая ячейка, кондуктометрическая ячейка, ионоселективный полевой транзистор. Термические – терморезистор, микрокалориметр.

Биологические элементы (биологические катализаторы)	Преобразователи
	Оптические: оптическое волокно, ячейка поверхностных электромагнитных волн, ячейка поверхностных плазмонов. Пьезоэлектрические – пьезокварцевый датчик. На поверхностных акустических волнах (ПАВ) – ячейка ПАВ

7.2. Биоэлементы

При действии ферментов происходит превращение молекул определяемого органического вещества. В среднем молекула фермента катализирует превращение приблизительно 100 молекул анализируемого вещества в секунду. При монослойном заполнении поверхности преобразователя молекулами фермента возможна генерация плотностью до $0,1 \text{ мА/см}^2$.

Применяемые в качестве биологических элементов клетки микроорганизмов или срезы тканей выполняют функции специфических биокатализаторов. Известен пример использования микроорганизмов в качестве биодатчиков. Предпринята попытка применить инфузории для определения токсичности жидких отходов (бульонов) рыбоперерабатывающего предприятия. Количественный учет инфузорий показал их нормальный рост и размножение в присутствии бульонов. Проверка действия на тетрахимену разрешенных антиокислителей и консервантов показала, что эти вещества в допустимых значениях концентрации не сдерживают рост и размножение инфузорий. Этот результат позволяет рекомендовать тетрахимену для определения токсичности жидких отходов. Сорбиновая кислота даже в разрешенном интервале значений концентрации вызывала гибель инфузорий. Механизм генерации сигнала при действии антител, рецепторов или биополимеров отличаются от действия ферментов. Этим биологическим элементам свойственно высокое сродство к определяемым молекулам, константы диссоциации образующихся комплексов достигают 10^{-7} – 10^{-14} моль/л. В результате такого

сильного молекулярного взаимодействия меняются физические свойства биоэлемента, что преобразуется посредством преобразователя в электрический сигнал.

7.3. Преобразователи

В биологических измерительных устройствах, содержащих электрохимический преобразователь, при взаимодействии биоэлемента с определяемыми молекулами генерируется изменение потенциала действия системы (потенциометрические электроды, ионоселективный полевой транзистор) или тока (амперометрическая и кондуктометрическая ячейки).

Рассмотрим более подробно потенциометрические биосенсоры, как имеющие наибольшее практическое значение.

В состав потенциометрического биосенсора входит внутренний ионоселективный электрод; обычно используют ферменты, иммобилизованные на гидрофильной мембране. В качестве специфических химических реакций, лежащих в основе работы потенциометрических биосенсоров, можно применять биохимические реакции, протекающие в клетках или срезах биологических тканей, прикрепленных к ионоселективному электроду (обычно стеклянный), и соединенном с ним активном гидрофильном слое. В этом слое один из компонентов анализируемого вещества превращается в форму, пригодную для потенциометрического измерения с помощью внутреннего ионоселективного электрода.

В настоящее время существует несколько видов электродов с использованием биологических элементов. Рассмотрим наиболее распространенные виды таких электродов.

Бактериальные электроды. В них между измерительным электродом и мембраной, непроницаемой для высокомолекулярных веществ, помещают слой бактерий. Определяемое вещество под действием соответствующего штамма бактерий превращается в продукт, к которому чувствителен данный электрод. С помощью биологических измерительных устройств (БИУ) можно определять аргинин, глутамин, аспаргиновую кислоту, гистидин и нитрат-ион.

Существуют гибридные бактериально-ферментные электроды. В этих биосенсорах специфическая химическая реакция осуществляется с участием штамма бактерий и фермента одновременно.

Электроды на основе биологической ткани. Основным элементом конструкции этих БИУ является тонкий слой биологической ткани, прикрепленной к поверхности внутреннего электрода. В результате ферментативной реакции, происходящей в ткани, выделяются продукты, потенциалобразующие для этого электрода. В биологических измерительных устройствах, содержащих термический преобразователь, используется универсальное свойство выделения тепла 25–100 кДж/моль при протекании ферментативных реакций.

Оптические преобразователи. Данные преобразователи служат для детекции изменения окраски или люминесцентных свойств среды, возникающего при действии биокатализатора. Преобразователи, основанные на ячейках поверхностных электромагнитных волн и поверхностных плазмонов, регистрируют изменения коэффициента преломления на поверхности оптического элемента, обусловленные взаимодействием определяемых молекул с молекулами антитела, рецепторов, ДНК и другими биомолекулами.

При погружении биоанализатора в исследуемый раствор придающее вкус вещество связывается с пленкой, что вызывает изменение флуоресцентных характеристик. Измерение этих изменений позволяет определять концентрацию глутаминовой кислоты и МР в растворе.

За рубежом создан новый высокоэффективный биоанализатор вкуса, который может обнаруживать глутаминовую кислоту и СМР одновременно. Биоанализатор изготавливается нанесением на стеклянную подложку пленок Ленгмюра–Биоджетт стеариновой кислоты, содержащей два флуоресцирующих вещества – пирен и периллен. Пьезоэлектрический преобразователь является частью высокочастотного генератора (9–14 МГц), частота которого меняется при изменении массы пьезокристалла. Это изменение обусловлено взаимодействием находящегося на поверхности пьезокристалла биоэлемента с молекулами определяемого вещества. Преобразователи на поверхностных акустических волнах используются в подобной пьезоэлектрическим преобразователям конфигурации. Они действуют при частоте в несколько сот мегагерц. Теоретически это должно было бы увеличить чувствительность, но практически чувствительность уменьшается из-за необходимости использовать очень тонкие (молекулярные) слои биоэлемента. Параметры БИУ зависят от температуры, кислотности

и других физических свойств среды. Чувствительность БИУ изменяется во времени.

Проблема зависимости характеристик биосенсоров от времени была рассмотрена теоретически. Однако предложенные объяснения оказались малоприспособленными для интерпретации экспериментальных данных.

Несмотря на большие возможности биосенсоры до сих пор не получили заметного распространения, и в большинстве случаев определение глюкозы по-прежнему ведется спектрофотометрическим методом. В развитых странах наблюдается большой подъем научно-исследовательских и конструкторских разработок в области создания БИУ. Можно с уверенностью сказать, что в будущем потребность в БИУ для контроля качества пищи возрастет.

7.4. Люминесцентный метод

Люминесцентный метод основан на явлении люминесценции, т. е. свойстве атомов и молекул выделять поглощенную ими энергию в виде потока квантов. Это явление имеет следующее теоретическое объяснение. Энергия любой молекулы или атома, находящихся в нормальном, равновесном состоянии, характеризуется определенным энергетическим уровнем. При облучении светом молекула поглощает часть энергии и в результате этого переходит на новый энергетический уровень. После снятия облучения молекула самопроизвольно возвращается на прежний уровень, испуская при этом поглощенную порцию энергии. Это и вызывает свечение – люминесценцию. Из-за сложности своего строения молекула поглощает и испускает кванты энергии не одной определенной длины волны, а в некотором их интервале. Совокупность значений длины волны, вызывающих свечение вещества, называется спектром возбуждения. Молекулы обладают и спектром излучения, под которым понимается совокупность значений длины волны энергии, излучаемой люминесцирующим веществом. Иными словами, спектры возбуждения и излучения определяют границы активного поглощения и излучения, приводящего к возникновению свечения.

Каждое вещество имеет свои характерные спектры излучения, которые отличаются шириной и положением максимума интенсивности, что определяет цвет и интенсивность свечения. Меняя длину волны падающего света, можно найти ту область

облучения, при которой начнут люминесцировать молекулы интересующего компонента исследуемой системы. Это позволяет применять люминесценцию для качественного анализа, который чаще всего основывается на самом факте возникновения или исчезновения свечения.

Для количественного анализа используют зависимость интенсивности свечения от концентрации в растворе анализируемого вещества. Однако эта зависимость имеет линейный характер только при малых значениях молярной концентрации – до 10^{-7} – 10^{-4} моль/л, что и определяет верхнюю границу диапазона измерений.

Сравнительно немногие вещества обладают люминесцентными свойствами в чистом виде. Однако номенклатура анализируемых этим методом веществ значительна за счет применения специальных реагентов, переводящих определяемый компонент в соединение, обладающее этим свойством.

Приборы, основанные на люминесцентном методе измерения, называются флуориметрами. Их устройство аналогично рассмотренным выше спектрофотометрам.

Одним из главных преимуществ люминесцентного метода анализа является высокая чувствительность – около $0,01$ млн⁻¹. Погрешность измерения составляет от одного до нескольких процентов. Для флуориметров характерны те же источники погрешности, что и для спектрофотометров. Однако имеются и специфические погрешности, связанные с интенсивностью свечения, влиянием температуры и сопутствующих веществ, в том числе растворителя; на интенсивность свечения влияет и кислотность среды.

Применение люминесцентных методов весьма разнообразно. Интенсивным свечением обладают, например, канцерогенные вещества, многие гнилостные бактерии, что используется в биологии, медицине для анализа качества лекарств и пищевых продуктов. Например, жизнеспособные семена имеют желтую, а нежизнеспособные – коричневую люминесценцию. Очень полезным оказалось применение этих методов в археологии, криминалистике, судебной экспертизе.

В пищевой промышленности широко используется явление флуоресценции – разновидности люминесценции, в которой источником возбуждающего электромагнитного излучения служит

ультрафиолетовый или видимый свет с длиной волны от 250 до 500 нм. Люминесценция предназначена для идентификации и количественного анализа витаминов, белков, жиров, углеводов и др.; для диагностики порчи овощей, плодов; обнаружения в продуктах питания консервантов, канцерогенных веществ; для определения сорта муки и наличия в ней примесей; для контроля всхожести семян и пр.

Несомненными достоинствами спектрального люминесцентного метода являются следующие: во-первых, анализ продуктов проводится без их разрушения, в отличие от химического, калориметрического, хроматографического и других методов, на основе собственной люминесценции ряда компонентов (например, ароматических аминокислот, витаминов, полиненасыщенных жирных кислот и т. п.); во-вторых, высокая чувствительность и точность. Спектрально-люминесцентные свойства органических молекул определяются в основном особенностями электронной структуры, так как именно от них зависит вероятность протекания тех или иных процессов в электронно-возбужденных молекулах.

Большинство органических молекул поглощают свет и испускают его (люминесцируют) в ближней ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Поглощение и испускание света в этом случае обусловлено перепадами между электронно-колебательными состояниями молекул. Спектры люминесценции содержат, как правило, большое количество полос излучения, что обусловлено наличием целого ряда люминесцирующих компонентов. Для идентификации конкретного люминесцирующего компонента необходимо выделить отдельную полосу излучения, что осуществляется при помощи светофильтров и монохроматоров.

В качестве источников возбуждения используются лампы накаливания, газоразрядные лампы и лазеры.

Примеры использования люминесцентного метода:

– определение остаточных загрязнений молочного происхождения. Метод основан на том, что под воздействием УФ-облучения остатки молочных продуктов люминесцируют. Зависимость интенсивности люминесцентного излучения от количества загрязнения на облучаемой поверхности носит линейный характер;

– оценка санитарно-гигиенического состояния самосогревшегося и заплесневевшего зерна. Предложенные

экспресс-методы оценки поражения зерна грибками и выявления фузарнозного зерна основаны на билюминесцентном спектральном анализе. Для выявления загрязненного афлатоксинами зерна применяется косвенный метод желто-зеленой флуоресценции (ЖЗФ), сущность которого заключается в просматривании навески зерна под источником УФ-света в затемненном помещении. Нормальные зерна при этом флуоресцируют тускло-фиолетовым светом, а пораженные грибками и афлатоксинами – желто-зеленым;

– диагностика загрязнения окружающей среды с помощью фотосинтезирующих бактерий, водорослей, низших и высших растений, обладающих фотосинтетической люминесценцией (послесвечение, замедленная люминесценция). Так, обнаруженное замедление люминесценции различных биопрепаратов и семян растений с низкой влажностью (менее 15 %) позволило разработать очень быстрые и чувствительные методы измерения влажности препаратов и оценки жизнеспособности семян без их проращивания. Другое явление – резонансная ядерная флуоресценция, т. е. излучение, поглощение и рассеяние гамма-квантов без отдачи (без расходования части энергии ядерного перехода на отдачу излучающего и поглощающего гамма-квант ядра);

– радиотермолюминесцентная спектроскопия (РТЛ) основана на следующем явлении: если органический объект облучить при низком значении температуры лучами или электронами, то при последующем нагревании он будет светиться. При использовании метода РТЛ снижается зависимость интенсивности свечения продукта от температуры. При разогреве облученного органического вещества интенсивность термолюминесценции существенно меняется в том интервале температур, где проявляется молекулярная подвижность. Кривая высвечивания РТЛ очень сильно зависит от дозы облучения и скорости разогрева. Радиотермолюминесцентная спектроскопия является единственным методом, позволяющим изучать молекулярную подвижность и структуру сверхтонких слоев органических веществ;

– в клетках высших растений и животных билюминесценция не обнаружена, а наблюдается только сверхслабое свечение – биохемилюминесценция. И билюминесценция и биохемилюминесценция – результат окислительных реакций с участием кислорода, причем возбужденные молекулы возникают в результате распада диоксидантов. Поскольку существует

зависимость между свечением живых организмов и их функциональным состоянием, следовательно, явление хемилюминесценции можно использовать на практике. В частности, по интенсивности свечения можно судить о ходе технологического процесса или о концентрации химического соединения в смеси. В растениях различают очень слабую спонтанную хемилюминесценцию (ХЛ), вызванную протеканием в них метаболических процессов, и ХЛ, индуцированную некоторыми добавками (H_2O_2 , KO_4 и пр.).

Индуцированную ХЛ следует отличать от фотолюминесценции – послесвечения биообъекта, предварительно облученного коротким импульсом света.

Основным направлением использования ХЛ-анализа является исследование физиологического состояния овощей, фруктов, семян. Например, ХЛ-метод используется для автоматической диагностики болезней картофеля. С этой целью измеряют уровень сверхслабого свечения:

– принципиально возможны разработки на основе хемилюминесценции методов контроля содержания в мясопродуктах белковых добавок растительного и животного происхождения, пищевых добавок, содержащих кислоты, карбоксильные, красящие и ароматические компоненты. Успешно используют метод хемилюминесценции для контроля за содержанием в мясопродуктах нитритов, одновременного анализа Cu и Co в молоке. Это связано с тем, что ионы меди II, кобальта II и хрома III непосредственно усиливают свечение, а железо (Fe) катализирует реакцию только в присутствии активаторов – органических аминов. Данный метод отличают высокая чувствительность, селективность и простота исполнения;

– ХЛ-метод применим для анализа микроколичества аскорбиновой кислоты в некоторых продуктах. В основу разработанной методики положен ингибиторный эффект аскорбиновой кислоты. На этом принципе основан метод оценки жизнеспособности дрожжей при регидрации.

Приборная реализация рассмотренных методов принципиально не представляет больших трудностей.

Биолюминесцентный АТФ-метод микробиологического контроля. Способностью к люминесценции обладают некоторые бактерии, простейшие, грибы, черви, ракообразные и в особенности

насекомые (светлячки). Для многих из них характерны ферментативные окислительно-восстановительные реакции, при которых изменение свободной энергии используется для возбуждения молекул состояния с повышенной энергией. Последующее возвращение молекул в основное состояние сопровождается излучением в видимой области спектра, которое называется биолюминесценцией.

Рассмотрим возможности метода для микробиологического контроля в области экологии, медицины, гигиены, контроля ряда продуктов.

Медицина. Показана эффективность применения метода АТФ/БЛ на восприимчивость антибиотика и на бактериальное обсеменение в ранах и тканях.

Экология. Подтверждена эффективность метода АТФ/БЛ для определения бактериальной зараженности природной и питьевой воды, для контроля ила и в процессе очистки сточных вод.

Технология и биотехнология. Экспресс-анализ на биорезистентность к действию грибков и контроль токсичности полимеров, смазок, топлива, для оценки качества золы, используемой для производства фармацевтических препаратов.

Контроль качества продовольствия. Метод АТФ/БЛ с успехом применяется для оценки бактериального заражения молочных изделий, мясопродуктов, соков и пищевого оборудования.

Микробиологический контроль парфюмерно-косметической продукции. Успешно применяется для оценки зараженности парфюмерного сырья.

Методически метод АТФ/БЛ микробиологического контроля требует реагенты и люменометры. Основными реагентами метода являются следующие компоненты:

- 1) бульоны с низким содержанием АТФ;
- 2) биолюминесцентные наборы;
- 3) стандарты АТФ.

В качестве примера приборного оформления люминесцентного метода измерения рассмотрим люменометр фирмы "Bio-Orbit-Oy" модели 1251. Этот прибор предназначен для измерения количества микроорганизмов в продуктах личной гигиены (шампуни, косметические кремы, лосьоны для душа, зубные пасты, жидкости для мытья посуды), а также в необходимых для их производства сырьевых материалах. Область применения

люменометра – аналитические лаборатории научно-исследовательских институтов и промышленных предприятий. Люменометр модели 1251 работает в УФ-области и основан на явлении биолюминесценции. Метод АТФ-биолюминесценции представляет собой методику, которая применяется для контроля микробиологического качества детергентов и продукции личного пользования, а также необходимых для производства сырьевых материалов.

Образцы подвергаются инкубации в питательном бульоне в течение по меньшей мере 18 ч. Микроорганизмы, растущие в бульоне, провоцируют аденозинтрифосфат (АТФ); его наличие может быть выявлено в ходе ферментативной реакции, которая дает свечение. Оценка количества микроорганизмов осуществляется относительно установленного порогового значения, равного 1,40, что соответствует количеству микроорганизмов, равному 300.

В качестве стандарта используется люциферин – люциферазная система американского светлячка, цвет хемилюминесценции которой желто-зеленый с длиной волны 565 нм.

Управление работой люменометра осуществляется с помощью встроенного микропроцессора.

Основные технические характеристики:

спектральный диапазон – 190...680 нм;

рабочая длина волны – 565 нм;

пределы допускаемой относительной погрешности на $\lambda = 565$ нм составляет 10 %;

порог срабатывания для количества колоний микроорганизмов, равного 300 (1,40 условные единицы).

8. АКУСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Акустические методы основаны на взаимодействии акустических волн с анализируемым веществом.

К этой группе относятся методы, основанные на зависимости характеристик акустических колебаний (скорости и поглощения звука) от определяемого параметра. С помощью акустических методов определяют расход, уровень, влажность, температуру и другие характеристики.

Для измерения скорости звука применяют следующие методы:

– импульсный – данный метод является прямым методом измерений. Скорость звука определяется расстоянием, которое проходит звуковая волна от пьезокварца до отражателя, и временем прохождения звуковой волной этого расстояния;

– интерференционный – этот метод является косвенным, применяется для измерений в слабо поглощающих жидкостях с низким затуханием волн. Длина волны определяется как двойное расстояние между двумя ближайшими минимумами (максимумами) звукового давления в точках стоячей волны в столбе жидкости, определяемом с помощью пьезочувствительного датчика интерферометра.

Кроме скорости звука применяется также другая характеристика акустических колебаний – поглощение звука. Основные методы измерения поглощения звука:

– метод измерения переменного звукового давления – этот метод заключается в измерении пьезоэлектрического звукового давления в двух точках;

– интерференционный метод – это метод, основанный на измерении интенсивности стоячей волны в двух различных точках, которое производится по обратному воздействию звуковых волн на излучатель или на отдельный звуковой приемник.

С помощью этого метода определены характеристики костной ткани, динамический модуль сдвига и динамический коэффициент Пуассона; проведены акустические исследования мяса и мясопродуктов в целях экспрессного определения их характеристик; исследована зависимость амплитуды отражаемого УЗ-импульса от кислотности молока; показана возможность контроля кислотности молока ультразвуковым методом.

Звуковые и ультразвуковые методы и средства измерения основаны на изменении скорости распространения звуковых волн или степени затухания их интенсивности в зависимости от состава и концентрации анализируемой среды. На рис. 8.1 показана упрощенная структурная схема акустического (ультразвукового) анализатора жидкости. Его принцип действия основан на измерении частоты прохождения импульсов, возникающих в синхронизированном кольце, состоящем из измерительной ячейки с излучателем $Пр_2$ и приемником $Пр_1$, генератора ИГ, формирующего каскада ФК и усилителя У.

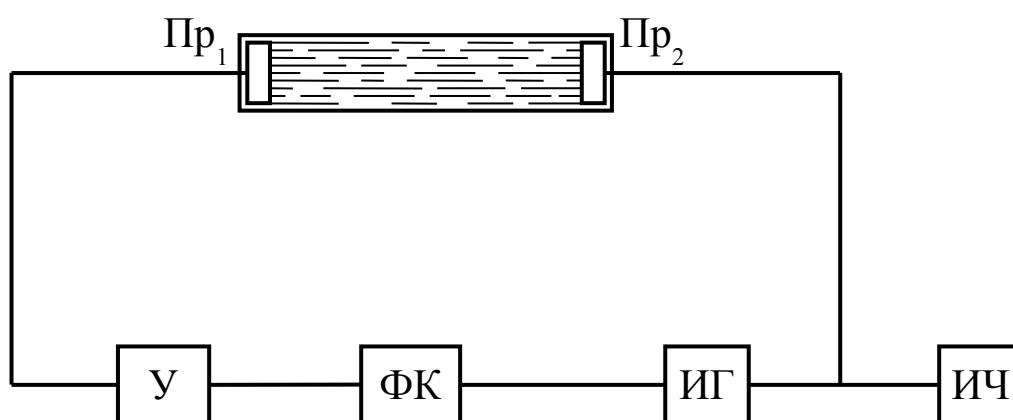


Рис. 8.1. Ультразвуковой анализатор:
 $Пр_1$ – приемник; $Пр_2$ – излучатель измерительной ячейки;
 ИГ – генератор; ФК – формирующий каскад; У – усилитель;
 ИЧ – измеритель частоты

Скорость прохождения ультразвука на базе между излучателем и приемником излучения при постоянных значениях элементов цепи зависит от состояния жидкости, заполняющей ячейку, и, в частности, от ее состава. Скорость же прохождения ультразвука в измерительной ячейке связана прямо пропорционально с частотой следования импульсов, которая измеряется измерителем частоты (ИЧ). Подобные приборы обеспечивают измерение скорости в диапазоне от 800 до 2000 м/с, погрешность измерения составляет не более ± 1 м/с.

На основе акустического метода измерения разработан анализатор состава молока «Лактан 1-4». Он предназначен для одновременного измерения температуры, массовой доли белка, жира, добавленной воды, СОМО и плотности в пробе цельного свежего, консервированного, пастеризованного, нормализованного, обезжиренного и восстановленного молока. Анализатор имеет выход, позволяющий подключать его к компьютеру. Встроенное программное обеспечение дает возможность накапливать данные измерений в режиме On-line.

СОДЕРЖАНИЕ

МЕТОДЫ И СРЕДСТВА АНАЛИТИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ	3
Учебное пособие.....	3
1. КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ АНАЛИЗА.....	4
2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЙ.....	10
2.1. Анализ на основе химических реакций.....	10
2.2. Анализ на основе электрохимических реакций.....	11
2.3. Анализ на основе термических процессов.....	12
2.4. Анализ на основе взаимодействия с электромагнитным или корпускулярным излучением.....	12
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ.....	17
3.1. Аналитические методы.....	17
3.2. Методы разделения.....	17
4. ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ.....	32
4.1. Термофизические методы для анализа состава вещества.....	32
4.2. Теплофизические методы для измерения влажности вещества.....	33
5. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ.....	35
5.1. Кондуктометрический метод.....	37
5.2. Диэлькометрический метод.....	38
5.3. Полярографический метод.....	40
5.4. Потенциометрический метод.....	41
5.5. Измерение pH жидкостей.....	46
5.6. Ионметрия.....	53
5.7. Основы капиллярного электрофореза.....	54
6. МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ВЕЩЕСТВА И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.....	64
6.1. Методы спектрального анализа. Спектроскопия.....	64
6.2. Оптические методы.....	67
6.3. Фотометрический метод.....	74
6.4. Фурье-спектрометры.....	86
6.5. Оптические датчики.....	93
6.6. Радиометрические методы.....	95
7. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ.....	115
7.1. Биосенсоры.....	115
7.2. Биоэлементы.....	116
7.3. Преобразователи.....	117
7.4. Люминесцентный метод.....	119
8. АКУСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ.....	126



В 2009 году Университет стал победителем многоэтапного конкурса, в результате которого определены 12 ведущих университетов России, которым присвоена категория «Национальный исследовательский университет». Министерством образования и науки Российской Федерации была утверждена программа его развития на 2009–2018 годы. В 2011 году Университет получил наименование «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики».

ИНСТИТУТ ХОЛОДА И БИОТЕХНОЛОГИЙ



Институт холода и биотехнологий является преемником Санкт-Петербургского государственного университета низкотемпературных и пищевых технологий (СПбГУНиПТ), который в ходе реорганизации (приказ Министерства образования и науки Российской Федерации № 2209 от 17 августа 2011 г.) в январе 2012 года был присоединен к Санкт-Петербургскому национальному исследовательскому университету информационных технологий, механики и оптики.

Созданный 31 мая 1931 года институт стал крупнейшим образовательным и научным центром, одним из ведущих вузов страны в области холодильной, криогенной техники, технологий и в экономике пищевых производств.

В институте обучается более 6500 студентов и аспирантов. Коллектив преподавателей и сотрудников составляет около 900 человек, из них 82 доктора наук, профессора; реализуется более 40 образовательных программ.

Действуют 6 факультетов:

- холодильной техники;
- пищевой инженерии и автоматизации;
- пищевых технологий;

- криогенной техники и кондиционирования;
- экономики и экологического менеджмента;
- заочного обучения.

За годы существования вуза сформировались известные во всем мире научные и педагогические школы. В настоящее время фундаментальные и прикладные исследования проводятся по 20 основным научным направлениям: научные основы холодильных машин и термотрансформаторов; повышение эффективности холодильных установок; газодинамика и компрессоростроение; совершенствование процессов, машин и аппаратов криогенной техники; теплофизика; теплофизическое приборостроение; машины, аппараты и системы кондиционирования; хладостойкие стали; проблемы прочности при низких температурах; твердотельные преобразователи энергии; холодильная обработка и хранение пищевых продуктов; тепломассоперенос в пищевой промышленности; технология молока и молочных продуктов; физико-химические, биохимические и микробиологические основы переработки пищевого сырья; пищевая технология продуктов из растительного сырья; физико-химическая механика и тепло- и массообмен; методы управления технологическими процессами; техника пищевых производств и торговли; промышленная экология; от экологической теории к практике инновационного управления предприятием.

В институте создан информационно-технологический комплекс, включающий в себя технопарк, инжиниринговый центр, проектно-конструкторское бюро, центр компетенции «Холодильщик», научно-образовательную лабораторию инновационных технологий. На предприятиях холодильной, пищевых отраслей реализовано около тысячи крупных проектов, разработанных учеными и преподавателями института.

Ежегодно проводятся международные научные конференции, семинары, конференции научно-технического творчества молодежи.

Издаются журнал «Вестник Международной академии холода» и электронные научные журналы «Холодильная техника и кондиционирование», «Процессы и аппараты пищевых производств», «Экономика и экологический менеджмент».

В вузе ведется подготовка кадров высшей квалификации в аспирантуре и докторантуре по 11 специальностям.

Действуют два диссертационных совета, которые принимают к защите докторские и кандидатские диссертации.

Вуз является активным участником мирового рынка образовательных и научных услуг.

www.ihbt.edu.ru

www.gunipt.edu.ru

Бегунов Александр Андреевич

Коваль Александр Александрович

**МЕТОДЫ И СРЕДСТВА
АНАЛИТИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ**

Учебное пособие

Ответственный редактор

Т.Г. Смирнова

Редактор

Е.О. Трусова

Корректор

Н.И. Михайлова

Компьютерная верстка

Н.В. Гуральник

Дизайн обложки

Н.А. Потехина

Подписано в печать 5.09.2012. Формат 60×84 1/16

Усл. печ. л. 7,44. Печ. л. 8,0. Уч.-изд. л. 7,75

Тираж 100 экз. Заказ № С 15

НИУ ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49
ИИК ИХиБТ. 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9