

**НИУ «Ташкентский институт инженеров ирригации и
механизации сельского хозяйства»
дисциплина «Инструментальные методы анализа»**

ТЕМА.

**Спектроскопия в видимом и
ультрафиолетовом диапазонах излучения.**

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедева М.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа: учеб. Пособие. Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2005. 216с.
2. Saloxiddinov A.T., Nishonov B.E., Razikova I.R., Yo‘ldosheva CH.A. "Ekologiya" fanidan laboratoriya ishlarini o‘tkazish bo‘yicha uslubiy qo‘llanma. TIQXMMI, Toshkent, 2016. 33b.
3. Инструментальные методы анализа: лаборатор. практикум: [учеб.-метод. пособие] / [В. И. Кочеров, И. С. Алямовская, Н. Е. Дариенко, С. Ю. Сараева Т. С. Свалова, А. И. Матерн]; под общ. ред. С. Ю. Сараевой; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал, федер. ун-т. - Екатеринбург : Изд-во Урал, ун-та, 2015. - 96 с. ISBN 978-5-7996-1385.
4. Химические и инструментальные методы анализа : учеб. пособие / С. Ю. Сараева, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, А. И. Матерн ; под общ. ред. В. И. Кочерова ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. унт. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2021. — 216 с.

ПЛАН

Молекулярная спектроскопия

- Общие положения
- Оптическая спектроскопия в УФ- и видимой области
 - Принцип работы
 - Источник излучения
 - Дисперсионные устройства
 - Детекторы
 - Система
 - Качественный и количественный анализ

Классификации

Спектроскопия представляет собой широкую область с многочисленными направлениями исследований, классифицируемыми по типам исследуемых объектов. Данная презентация посвящена **молекулярной спектроскопии**.

АТОМЫ

Атомная спектроскопия

- Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС)
- Атомно-эмиссионная спектроскопия с микроволновой плазмой (МП-АЭС)
- Оптико-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-ОЭС)
- Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС)

МОЛЕКУЛЫ

Молекулярная спектроскопия

- Спектроскопия в УФ- и видимой области
- Спектроскопия в УФ-, видимой и ближней ИК-области
- ИК-спектроскопия с Фурье-преобразованием
- Флуоресцентная спектроскопия

КРИСТАЛЛЫ

- Рентгеновская кристаллография

ЯДРА

- Ядерный магнитный резонанс

Молекулярная спектроскопия

Общие положения

Объединение атомов в молекулы создает уникальные энергетические состояния и, как следствие, уникальные спектры переходов между состояниями.

Молекулярные спектры могут быть связаны с различными:

- Спиновыми состояниями электронов
- Вращательными состояниями молекул
- Колебательными состояниями молекул
- Электронными состояниями

Молекулярная спектроскопия	
	Применение
Спектроскопия в УФ- и видимой области	Изучает взаимодействия между веществом и энергией электромагнитного излучения в ультрафиолетовом, видимом и ближнем ИК-диапазоне
ИК-спектроскопия с Фурье-преобразованием	Изучает взаимодействия между веществом и энергией электромагнитного излучения в инфракрасном диапазоне
Флуоресцентная спектроскопия	Изучает излучение электромагнитной энергии после взаимодействия между веществом и энергией электромагнитного излучения, как правило, в ультрафиолетовом и видимом диапазоне

Хронология ранних этапов развития



Спектроскопия в УФ- и видимой области

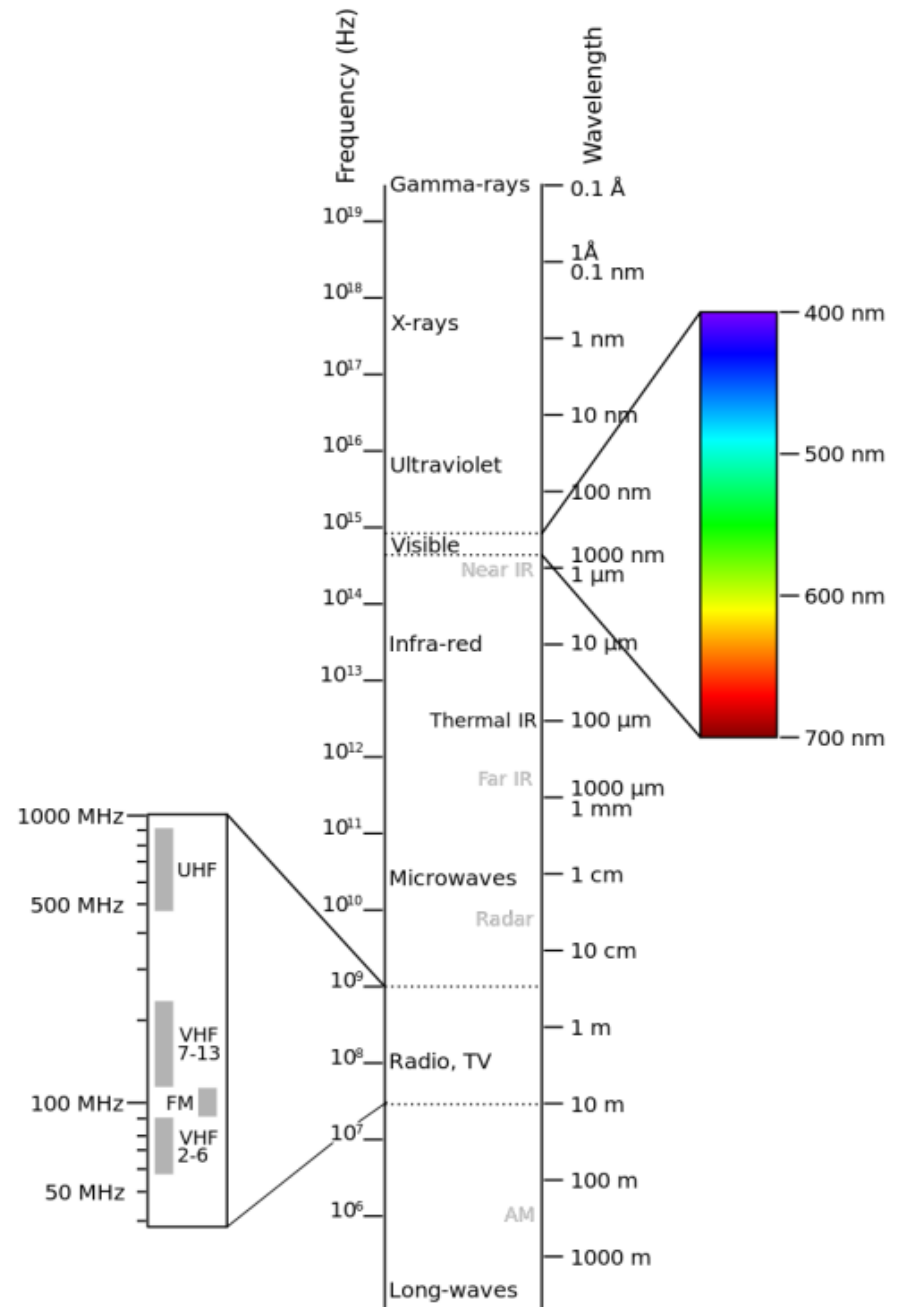
Общие положения

Электромагнитный спектр включает широкий диапазон порядков величин частоты и длины волны.

Видимый свет занимает только очень небольшую часть электромагнитного спектра.

- Ультрафиолетовая область: от 190 до 400 нм
- Видимая область: от 400 до 800 нм
- Инфракрасная область: от 800 до 100 000 нм

"Электромагнитный спектр",
автор Виктор Брайкус



Спектроскопия в видимом и УФ диапазонах

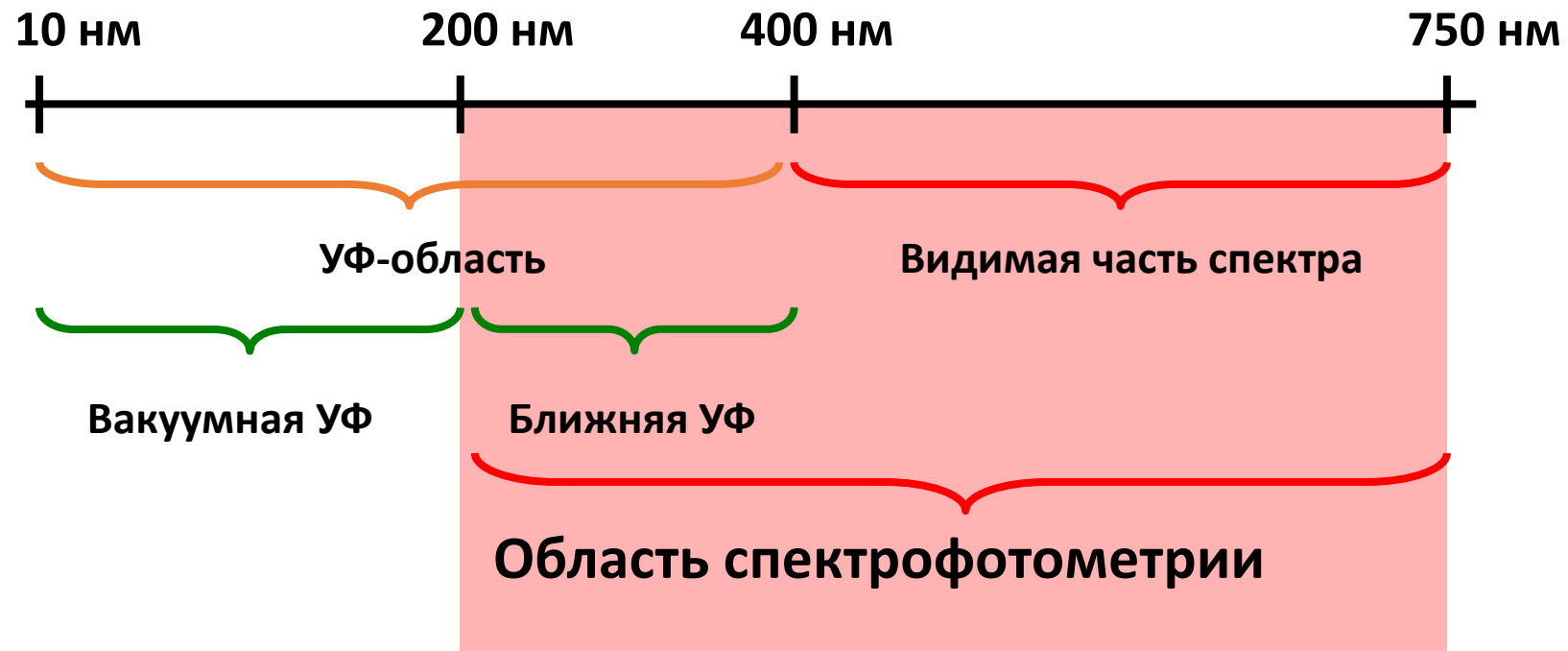
Длины волн λ видимого излучения	
Длина волны λ , нм	Видимый цвет
400-435	Фиолетовый
435-480	Голубой
480-490	Зелено-голубой
490-500	Голубой с зеленым
500-560	Зеленый
560-580	Желто-зеленый
580-595	Желтый
595-610	Оранжевый
610-750	Красный

Если вещество отражает весь диапазон длин волн $\lambda = 400\text{-}800\text{ нм}$ (абсорбция ~ 0), то наблюдатель видит предмет белого цвета.

Если весь диапазон длин волн поглощается, то тело имеет черный цвет.

Диапазон длин волн от 10 до 400 нм соответствует УФ-излучению, недоступному для восприятия человеческого глаза.

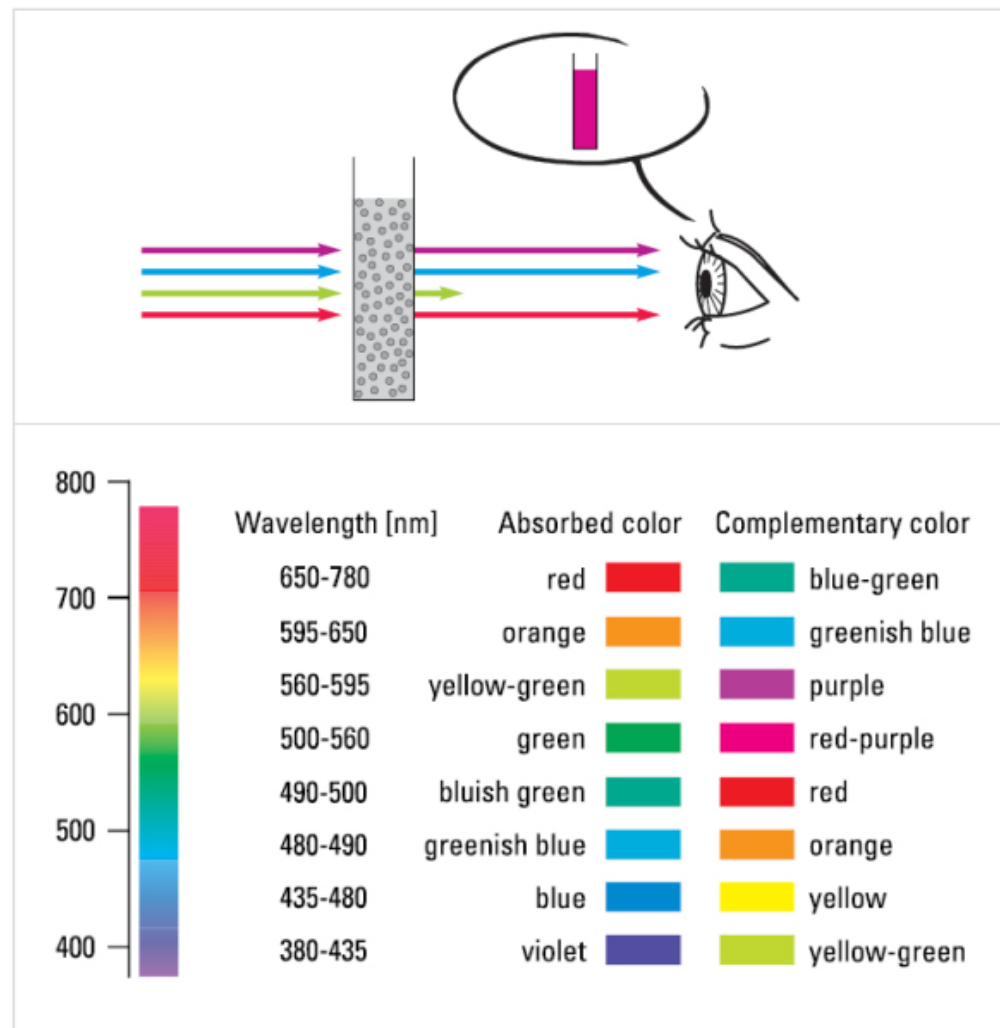
Однако в УФ-спектроскопии используется только часть УФ-диапазона от приблизительно **180 до 400 нм**.



Спектроскопия в УФ- и видимой области

Качественный и количественный анализ

Цвет является важным свойством вещества. Цвет вещества связан с его поглощающими или отражающими свойствами. Человеческий глаз видит цвет, дополнительный к поглощенному.



*Светопропускание и цвет
(вверху)
Поглощение и дополнительные
цвета (внизу)*

Спектроскопия в УФ- и видимой области

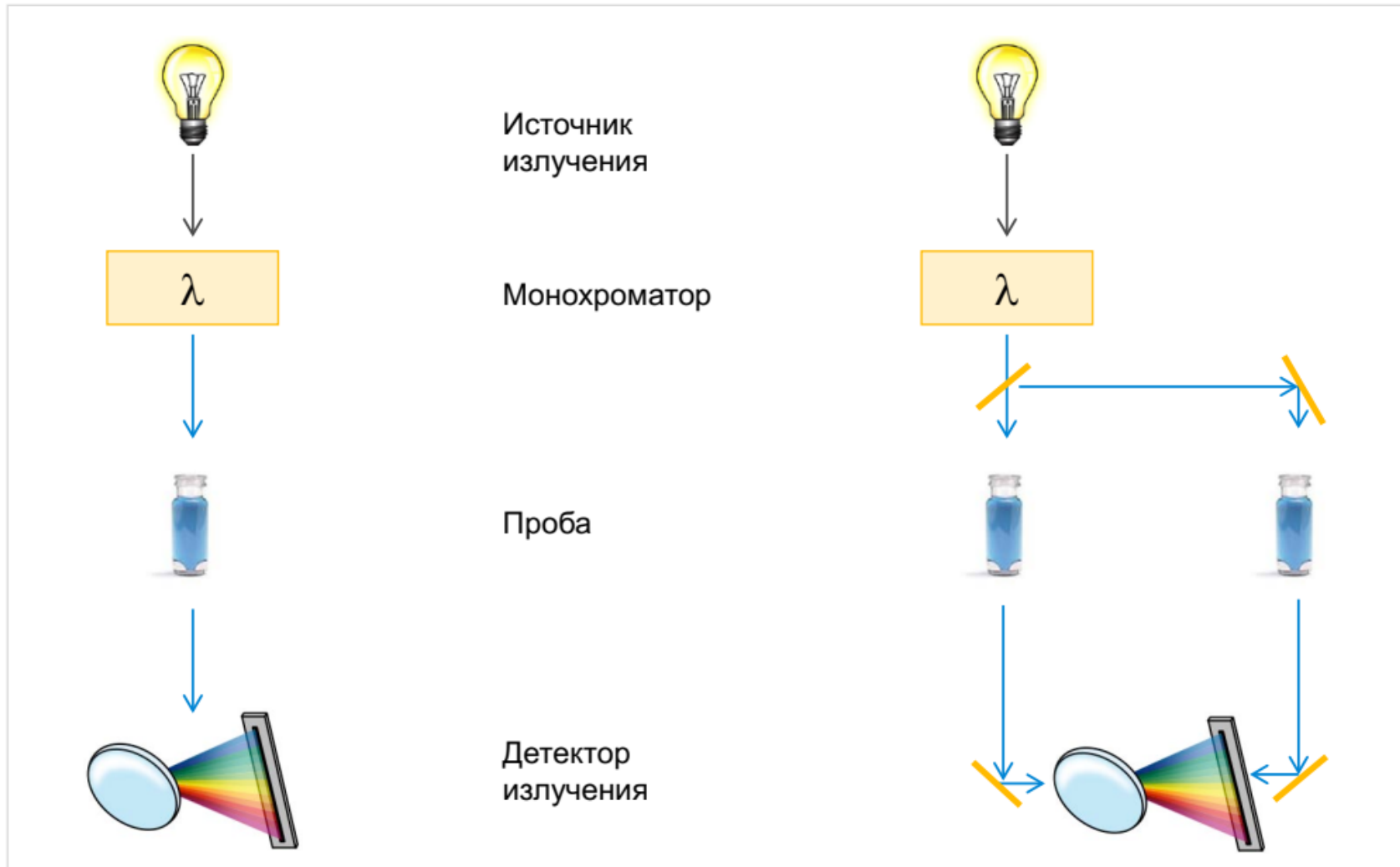
Принцип работы



- Лампа (источник) излучает свет в рабочем диапазоне длин волн
- Монохроматор (дисперсионное устройство) служит для выбора длины волны
- Аналит (область пробы) поглощает излучение
- Пропущенное излучение измеряют с помощью детектора
- Концентрацию определяют посредством сравнения со стандартными пробами

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Принцип работы: Однолучевой и двухлучевой спектрометры



Двухлучевой подход позволяет вносить поправку на изменения в интенсивности излучения.

- ✚ Кюветное отделение
 - ✚ Стеклянные кюветы ($\lambda > 350 \text{ нм}$)
 - ✚ Кварцевые кюветы



- ✚ Приемники излучения
 - ✚ Фотоэлементы и фотодиоды



Спектроскопия в УФ- и видимой области

Источник излучения

Идеальный источник излучения обеспечивает постоянную интенсивность излучения во всем диапазоне длин волн с низким уровнем шума и долговременной стабильностью.

В спектрофотометрах для УФ- и видимой области обычно используются следующие источники:

- **Дейтериевая дуговая лампа** → — хорошая рабочая интенсивность в ультрафиолетовой области
- **Вольфрам-галогенная лампа** → — хорошая интенсивность в части ультрафиолетового и во всем видимом диапазоне
- **Ксеноновая лампа** → — хороший непрерывный спектр во всем УФ- и видимом диапазоне



Дейтериевый источник (вверху) и вольфрам-галогенная лампа (внизу), используемые с ультрафиолетовыми системами

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Дисперсионные устройства

Дисперсионные устройства рассеивают излучение с различными длинами волн под различными углами. В сочетании с соответствующей выходной щелью эти приборы могут использоваться для выбора определенной длины волны (или, точнее, узкой спектральной полосы) излучения от источника с непрерывным спектром.

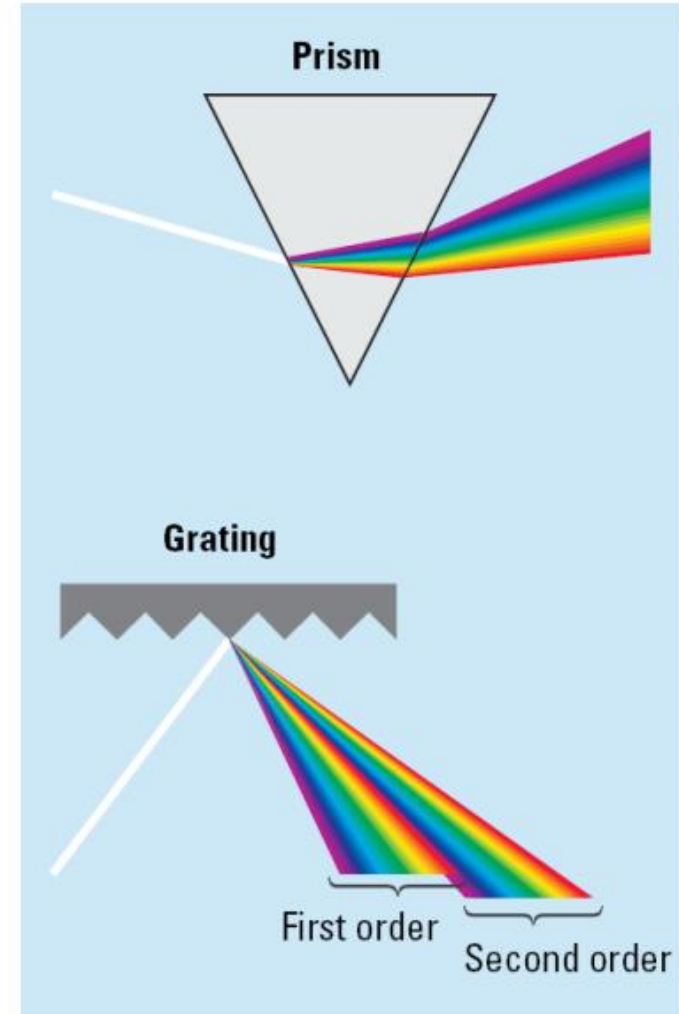
Существуют два вида устройств:

- **Призмы**

Они разлагают белый свет в радугу; их недостатком является то, что преломляющий угол чувствителен к изменению температуры

- **Голографические дифракционные решетки**

Они чувствительны к изменению температуры; свет, падающий на решетку, отражается под различными углами в зависимости от длины волны.



Схематическое изображение дисперсионных устройств. В большинстве современных спектрометров используется дисперсия излучения с помощью дифракционных решеток.

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Детекторы

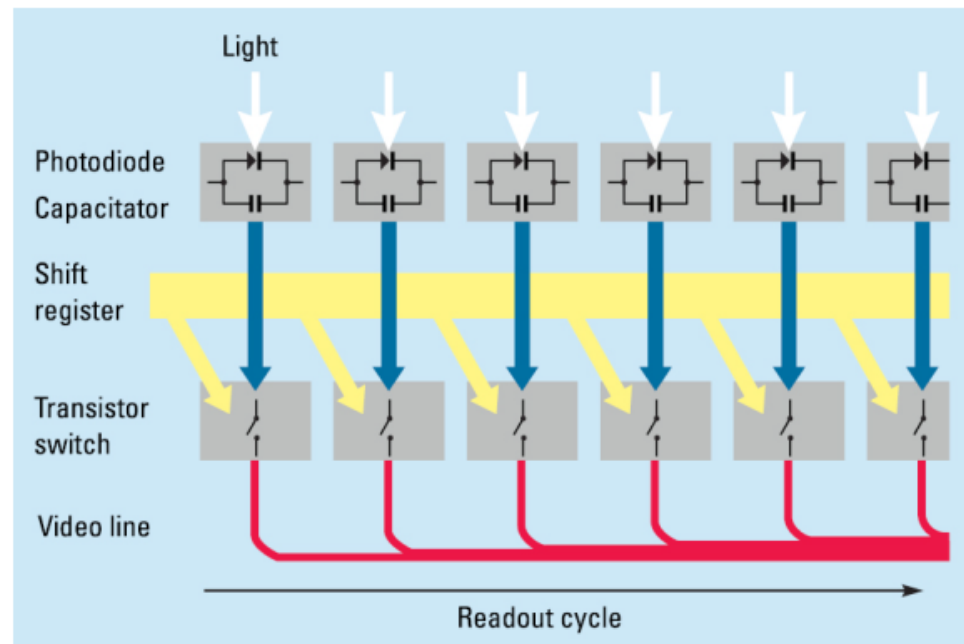
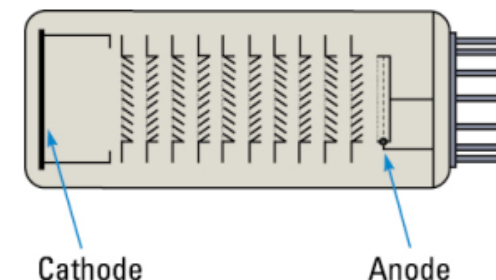
Детектор преобразует световой сигнал в электрический сигнал. В идеальном варианте он должен давать линейный отклик в широком диапазоне длин волн при низком уровне шума и высокой чувствительности.

Детектор с фотоумножителем

Сочетает преобразование сигнала с несколькими ступенями усиления внутри одной лампы; выполняется сканирование вдоль всего диапазона длин волн.

Фотодиодный детектор

Свет, падающий на полупроводниковый материал, возбуждает электроны, позволяя им двигаться в полупроводнике, в результате чего стекающий заряд частично разряжает конденсатор, подсоединенный к разным сторонам полупроводника. Заряд, необходимый для перезарядки конденсатора, пропорционален интенсивности излучения; сигнал во всем диапазоне длин волн может быть измерен за один цикл считывания.

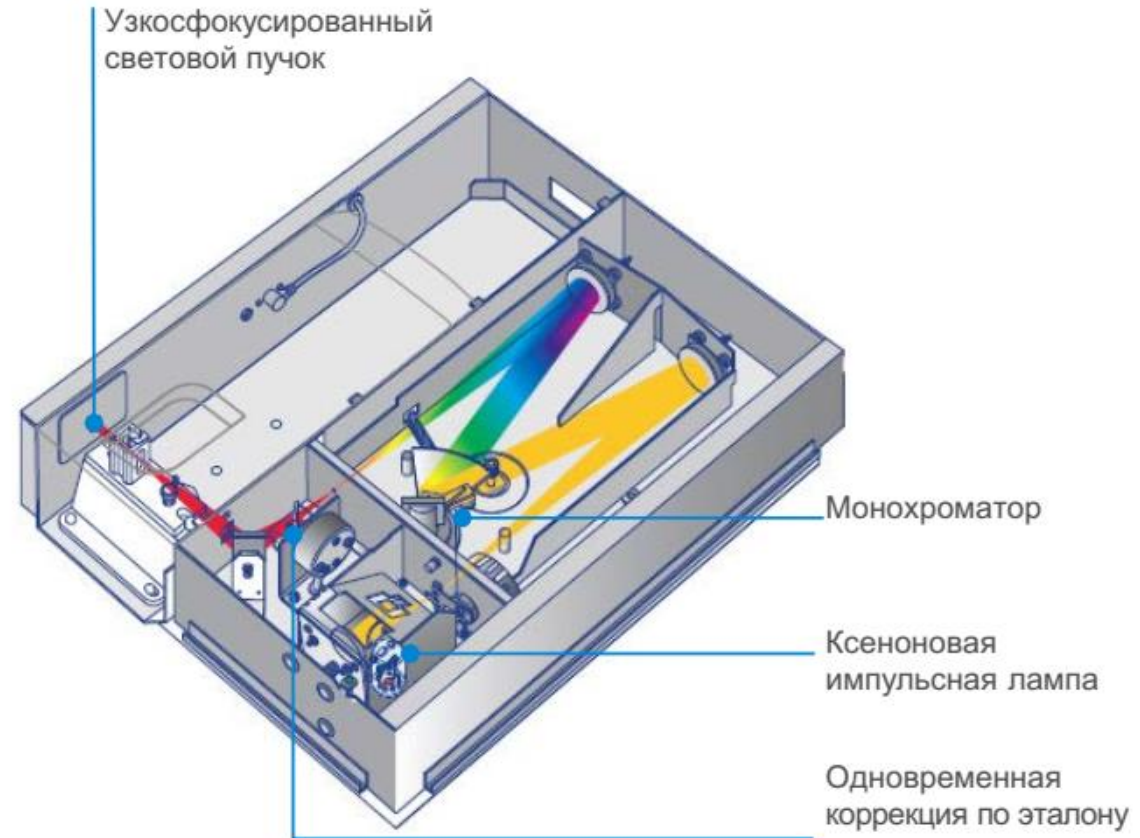


Схематическое изображение детектора с фотоумножителем (вверху) и диодно-матричного детектора (внизу).

Спектроскопия в УФ- и видимой области Система

Ключевые области применения

- Кинетические исследования
- Характеристика неизвестных или вновь синтезированных соединений
- Определение чистоты ДНК
- Количественный анализ ДНК и белков
- Анализ питательных веществ в водных пищевых продуктах и сельскохозяйственной продукции



Спектроскопия в УФ- и видимой области

Качественный и количественный анализ

В оптическом спектре в УФ- и видимой области обычно присутствуют только несколько широких полос поглощения. По большей части поглощение органическими соединениями связано с присутствием *p*-связей, т. е. ненасыщенных связей.

Хромофор — это молекулярная группа, обычно содержащая *p*-связь. При введении его в

насыщенный углеводород, не поглощающий в УФ- и видимой области, образуется соединение, которое поглощает в области между 185 и 1000 нм.

Некоторые хромофоры и их максимумы оптической плотности			
Хромофор	Формула	Пример	λ_{\max} (нм)
Карбонильная группа (кетон)	$RR'C=O$	Ацетон	271
Карбонильная группа (альдегид)	$RHC=O$	Ацетальдегид	293
Карбоксильная группа	$RCOOH$	Уксусная кислота	204
Амиды	$RCONH_2$	Ацетамид	208
Нитрогруппа	RNO_2	Нитрометан	271

Количественное определение содержания веществ методом спектроскопии видимого и ультрафиолетового диапазонов

Спектроскопия видимого и УФ-диапазонов позволяет осуществлять определение содержания большого количества компонентов жидких проб.

В основе количественной оценки лежит уравнение Ламберта — Бера

$$E = \varepsilon(\lambda)c.d.$$

В простейшем случае при определении концентрации **C** целевого компонента в пробе известны значение молярного коэффициента экстинкции **ε** и толщина поглощающего слоя **d** кюветы (чаще всего равная 1 см); при этом величину оптической плотности **E** необходимо определить экспериментальным путем. Затем с помощью закона Ламберта — Бера можно рассчитать концентрацию пробы **C**:

$$c = \frac{E}{\varepsilon(\lambda)d}$$

(3.19)

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Варианты применения

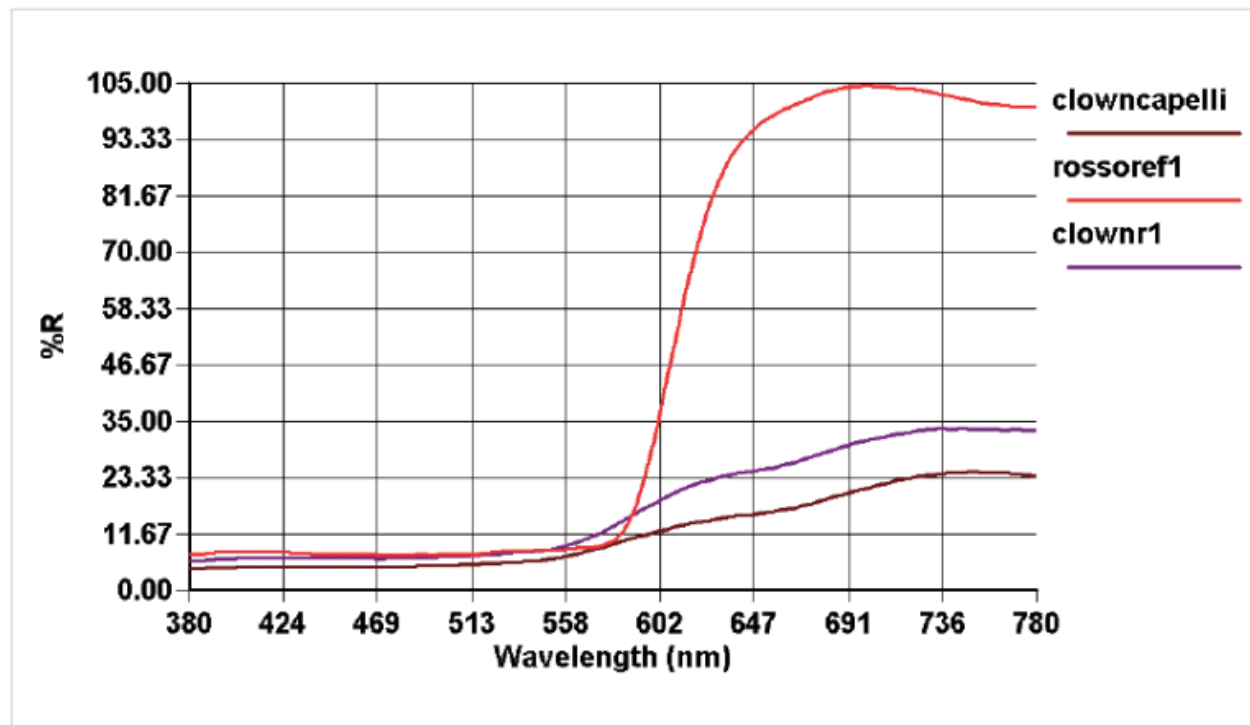
РЫНОК	ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
Индустрия материалов	<ul style="list-style-type: none">• Исходные материалы для следующих областей• Оптические компоненты: фильтры, линзы, зеркала, делители пучка, поляризаторы, стекло• Тонкие пленки, оптические и противоотражающие покрытия, нанокompозитные материалы, краски, фотоэлементы• Защитные очки• Целлюлозная масса и бумага• Маскировочные материалы• Солнцезащитные очки• Ткани/текстиль
Химическая индустрия	<ul style="list-style-type: none">• Контроль качества сырья и готовых продуктов на производстве• Идентификация химических веществ или исследования химических процессов: лабораторный химический синтез, фотохимические исследования, характеристика наночастиц, исследования поверхностных явлений• Аналитическая химия• Колориметрия: краски и текстиль (цветовое согласование, контроль качества тканей, измерения солнцезащитного фактора)
Биотехнология и фармацевтика	<ul style="list-style-type: none">• Анализ связывания лекарственных веществ• Ферментативные реакции• Анализ непрозрачных биологических проб, тканей, клеточных гомогенатов• Измерение концентраций внутриклеточных ионов• Определение нуклеиновых кислот (РНК/ДНК) и белков• Измерения денатурации/ренатурации ДНК и белков

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Определение цвета краски на холсте



Спектры, показывающие, что пробы *clownnr1* и *clowncapelli* изготовлены из аналогичных материалов.



Источник: [Measuring the color of a paint on canvas directly with external diffuse reflectance using the Agilent Cary 60 UV-Vis spectrophotometer \(Непосредственное измерение цвета краски на холсте с использованием внешнего диффузного отражения с помощью спектрофотометра УФ- и видимой области Agilent Cary 60\)](#)

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Возможности

Простая линейная зависимость между оптической плотностью и концентрацией и относительная простота измерения излучения в УФ- и видимой области позволяют создавать тысячи количественных аналитических методик на основе спектроскопии в УФ- и видимой области.

Спектроскопия в УФ- и видимой области

Преимущества

- Широкое применение в качественном и количественном анализе
- Может применяться для многих видов органических и неорганических молекул и ионов
- Простота в эксплуатации
- Экспрессность
- Сниженная потребность в техобслуживании
- Неразрушающее измерение

Недостатки

- Более высокие (худшие) пределы обнаружения по сравнению с флуоресценцией
- Перекрывание полос поглощения может затруднять анализ
- Могут возникать сложности при работе со светочувствительными соединениями при использовании дейтериевых и галогеновых источников (но не в случае ксенонового источника)