

Предисловие

Учебное пособие «Основы лабораторного дела» предназначено для оказания учебно-методической помощи студентам в изучении основных разделов дисциплины «Основы лабораторного дела». В пособии представлены организационные аспекты деятельности испытательных лабораторий Роспотребнадзора, теоретический и методический материал по отбору и подготовке проб объектов окружающей среды и современные методики их лабораторного исследования.

В пособии приведены основные законодательные, нормативно-регламентирующие документы, основные методы лабораторно-гигиенических исследований объектов окружающей среды.

Для лучшего освоения материала учебное пособие снабжено материалом по каждой изучаемой теме, списками основной и дополнительной литературы.

Авторы надеются, что учебное пособие будет хорошим подспорьем не только для студентов при изучении дисциплины «Основы лабораторного дела», но и окажет существенную помощь специалистам гигиенического профиля.

Раздел 1. Методы физико-химических исследований

Общая характеристика физико-химических методов анализа

По мнению Митрохина О. В. [1], все методы анализа основаны на использовании зависимости физико-химического свойства вещества, называемого *аналитическим сигналом* или просто *сигналом*, от природы вещества и его содержания в анализируемой пробе.

В классических методах химического анализа качестве такого свойства используются или масса осадка (гравиметрический метод), или объем реактива, израсходованный на реакцию (титриметрический анализ). Однако химические методы анализа не в состоянии были удовлетворить многообразные запросы практики, особенно возросшие как результат научно-технического прогресса и развития новых отраслей науки и техники. Развитие этих и других отраслей поставило перед аналитической химией задачу снизить *предел обнаружения* до 10^5 – 10^{10} %. Определение столь малых содержаний гравиметрическим или титриметрическим методом практически невозможно, и только применение физико-химических методов анализа, обладающих гораздо более низким пределом обнаружения, позволяет решать аналитические задачи такого рода.

Другой важной особенностью физико-химических методов анализа является их *экспрессность*, высокий темп получения результатов. Многие приборы, используемые в физико-химических методах анализа, позволяют автоматизировать сам процесс анализа или некоторые его стадии. Анализ с помощью некоторых физико-химических методов может быть выполнен без деструкции, то есть без разрушения анализируемого образца, что имеет большое значение для некоторых отраслей промышленности, а также для криминалистики, медицины и т. д. Недеструктивный анализ может быть выполнен рентгенофлуоресцентным, радиоактивационным и некоторыми другими методами.

Часто практический интерес представляет не общее содержание какого-либо элемента в пробе, а его распределение по поверхности образца — так называемый *локальный анализ* — определение элемента в данной «точке» образца. Этот анализ имеет значение в металловедении и других областях, где состав отдельных включений определяет качество материала, а также в минералогии, петрографии, криминалистике, археологии и т. д. Выполняется локальный анализ рентгеноспектральным методом. Электроны собирают в очень тонкий пучок диаметром 1 мкм и меньше (электронный зонд) и направляют его в интересующую точку образца. По характеристикам возникающего рентгеновского излучения судят о содержании элементов в «точке». Для целей локального анализа используется также техника лазерной микроспектроскопии.

Использование компьютеров в аналитической химии очень ценно не только для расчета результатов анализа и статистической обработки, но и для решения других аналитических задач. С помощью компьютеров можно более надежно выделять аналитический сигнал, проводить более четкое разрешение перекрывающихся сигналов и т. д. Компьютеры, встроенные в спектрофотометр

и в другие аналитические приборы, значительно расширяют возможности этих приборов. Погрешность анализа физико-химическими методами составляет в среднем 2–5 %, что превышает погрешность классических методов анализа. Однако такое сравнение погрешностей не вполне корректно, так как относится к разным концентрационным областям. При небольшом содержании определяемого компонента (порядка 10^{-3} % и менее) классические химические методы анализа вообще непригодны, при больших концентрациях физико-химические методы успешно соперничают с химическими, а такие методы анализа, как кулонометрия, даже превышают их по точности.

Следует отметить также, что погрешность анализа физико-химическими методами имеет тенденцию снижаться за счет конструирования прецизионных аналитических приборов и разработки более совершенных аналитических методик. Однако химические методы анализа своего значения не потеряли. Они незаменимы там, где при высоком содержании требуется высокая точность и нет серьезных ограничений по времени (например, анализ готовой продукции, арбитражный анализ, изготовление эталонов). Существенным недостатком большинства физико-химических методов является то, что для их практического применения требуются эталоны, стандартные растворы и градуировочные графики.

Основные приемы, используемые в физико-химических методах анализа

Почти во всех физико-химических методах анализа применяются два основных методических приема: *метод прямых измерений* и *метод титрования (метод косвенных измерений)*.

Прямые методы. В этих методах используется зависимость аналитического сигнала от природы анализируемого вещества и его концентрации. Свойством, зависящим от природы вещества, является, например, длина волны спектральной линии, потенциал полуволны, а количественной характеристикой служит интенсивность сигнала. Таким образом, аналитический сигнал — это величина, функционально связанная с содержанием определяемого компонента. Зависимость аналитического сигнала или его преобразованной величины от содержания определяемого компонента называют градуированной характеристикой. Она может быть представлена в виде графика, формулы или таблицы. Значение первой производной градуировочной функции при данном содержании называют коэффициентом чувствительности или просто чувствительностью и обозначают буквой S .

Область значений определяемых содержаний, предусмотренная данной методикой, составляет диапазон определяемых содержаний. *Наименьшее значение определяемого содержания называют нижней границей определяемых концентраций или нижним пределом C_n . Наибольшее значение верхней границей или верхним пределом C_v . Наименьшее содержание, при котором по данной методике можно обнаружить присутствие определяемого компонента с заданной доверительной вероятностью P (обычно $P = 0,95$), называют пределом обнаружения и обозначают $C_{min, p}$ (например, $C_{min, p} = 0,95$).*

Предел обнаружения находят по величине минимально обнаруживаемого аналитического сигнала. Связь интенсивности аналитического сигнала I

с концентрацией вещества имеет различный характер. Часто эта зависимость выражается простым линейным соотношением $I = AC$; где A — константа; C — концентрация.

В аналитической практике наибольшее распространение получили следующие методы прямого количественного определения с помощью физико-химических измерений:

- 1) метод градуировочного графика;
- 2) метод молярного свойства;
- 3) метод добавок.

Все они основаны на использовании стандартных образцов или стандартных растворов.

Основные физико-химические методы анализа

В группе физико-химических методов анализа иногда выделяют физические методы. Однако достаточно строгого и однозначного критерия для этого нет, поэтому выделение физических методов принципиального значения не имеет. Общее число физико-химических методов анализа довольно велико — оно составляет несколько десятков. Наибольшее практическое значение среди них имеют следующие группы:

- 1) спектральные и другие оптические методы;
- 2) электрохимические методы;
- 3) хроматографические методы анализа.

Среди указанных трех групп наиболее обширной по числу методов и важной по практическому значению является группа спектральных и других оптических методов анализа. Она включает методы эмиссионной атомной спектроскопии, атомно-абсорбционной спектроскопии, инфракрасной спектроскопии, спектрофотометрии, люминесценции и другие методы, основанные на измерении различных эффектов, возникающих при взаимодействии вещества и электромагнитного излучения.

Тема 1.1. Методы атомной спектроскопии

Цель занятия: изучить методы атомной спектроскопии, научиться применять методы атомной спектроскопии в практической деятельности.

Теоретические вопросы:

1. Атомная спектроскопия.
2. Методы и виды атомной спектроскопии.
3. Плазменная атомно-абсорбционная спектроскопия.
4. Атомно-абсорбционная спектроскопия.
5. Атомно-эмиссионная спектроскопия.
6. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой.

Практические навыки и умения:

- проводить санитарно-гигиенические исследования с применением методов атомной спектроскопии;
- применять методы атомной спектроскопии в практической деятельности.

Содержание практической части:

Студенты на занятии изучают методические подходы и оборудование для проведения атомной спектроскопии. Под руководством преподавателя получают практические навыки применения атомной спектроскопии.

Теоретические основы при изучении темы

Атомная спектроскопия

Атомная спектроскопия — это метод определения элементного состава вещества по его электромагнитному или изотопному спектру. Существуют разные аналитические методы, и выбор наиболее подходящего метода является ключом к получению правильных, надежных и объективных результатов, считает Митрохин О. В. [1].

Для правильного выбора метода требуется понимание основных принципов каждого метода, его возможностей и ограничений, а также знание требований, предъявляемых вашей лабораторией: необходимая чувствительность определений элементов, рабочий диапазон определяемых концентраций элементов, количество анализируемых образцов и качество получаемых данных.

Основные области. Во многих областях науки и промышленности требуется определение различных элементов в широком круге образцов.

Ключевыми областями являются:

- Окружающая среда
- Химическая промышленность
- Геохимия и горнодобывающая промышленность
- Биомониторинг
- Продукты питания
- Сельское хозяйство
- Нефтехимическая промышленность
- Полупроводниковая промышленность
- Атомная промышленность
- Возобновляемые источники энергии
- Фармацевтическая промышленность

Методы и виды атомной спектрометрии

Существует три широко применяемых спектрально-аналитических метода: атомно-абсорбционный, атомно-эмиссионный и масс-спектральный. Эти методы и будут находиться в фокусе нашего обсуждения, что позволит нам проникнуть глубже в суть наиболее распространенных аналитических техник на сегодняшний день:

- Пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия (FAAS, AAC)
- Атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией в графитовой кювете (GFAAS, ЭТААС)
- Оптическая (атомно-) эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES, ИСП-ОЭС = ИСП-АЭС)
- Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ICPMS, ИСП-МС)

Пламенная атомно-абсорбционная спектроскопия

Атомная абсорбция (АА) — это процесс, происходящий, когда атом, находящийся в невозбужденном (основном) состоянии поглощает энергию в виде света с определенной длиной волны и переходит в возбужденное состояние. Количество световой энергии, поглощенной при данной длине волны, пропорционально увеличивается с увеличением количества атомов данного элемента в световом пути.

Отношение между количеством поглощенного света и концентрацией атомов анализируемого элемента в стандартном растворе известного содержания может быть использовано для определения концентраций этого элемента в растворе с неизвестной концентрацией путем измерения количества поглощенной им энергии.

Основное оборудование для анализа атомной абсорбции включает в себя первичный световой источник, атомизатор — источник атомов, монохроматор для выделения длины волны, на которой проводится измерение, детектор для точного измерения световой энергии, устройство управления сигналом данных и дисплей или система оповещения для отображения результатов. В качестве первичного источника света обычно используется либо лампа полого катода (HCL), либо безэлектродная лампа (EDL). Вообще, для разных определяемых элементов используются разные лампы, хотя в некоторых случаях возможно сочетание нескольких элементов в одной многоэлементной лампе. Раньше, в качестве детектора использовались фотоэлектронные умножители.

Теперь в самых новейших приборах используются твердотельные полупроводниковые детекторы. Для определения ртути применяются специальные простые в обращении атомно-абсорбционные спектрометры с проточно-инжекционными системами для ртути (Flow Injection Mercury Systems, FIMS). В этих приборах реализована высокочувствительная однолучевая оптическая схема с ртутной лампой низкого давления и ультрафиолетовым детектором, обеспечивающим наилучшие характеристики.

Какова бы ни была система, используемый в ней атомизатор должен переводить образец в свободные атомы элементов. Для получения свободных атомов используется тепловая энергия, наиболее часто в виде воздушно-ацетиленового пламени или пламени закись азота — ацетилен. Образец вводится в пламя в виде аэрозоля при помощи системы ввода, состоящей из распылителя и распылительной камеры. Сопло горелки расположено таким образом, чтобы пучок света от лампы поглощался, проходя через пламя.

Главным ограничением пламенного ААС метода является то, что система горелка-распылитель является весьма неэффективным инструментом пробоотбора. Лишь малая доля образца достигает пламени и атомизированный образец при этом быстро проходит через световой путь спектрометра. При более эффективной системе пробоотбора образец следовало бы атомизировать полностью и удерживать в этом состоянии в световом пути в течение длительного времени, что позволило бы улучшить чувствительность определения. Эти качества обеспечивает электротермическая атомизация, применяемая в графитовой печи.

Атомно-абсорбционная спектрометрия

Атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС) является одним из наиболее распространенных аналитических методов исследования элементного состава вещества. Благодаря ряду преимуществ, подтвержденных результатами применения метода в различных областях науки и отраслях хозяйства, метод ААС находит все более широкое применение для количественного определения малых концентраций элементов, прежде всего металлов, при санитарно-гигиенических исследованиях воды, воздуха, пищевых продуктов, почвы и других объектов среды обитания.

Метод атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) основан на явлении резонансного поглощения излучения свободными невозбужденными атомами. В результате резонансного поглощения интенсивность излучения, прошедшего через объем свободных невозбужденных атомов (атомный пар), ослабевает тем больше, чем выше концентрация атомов. При соблюдении условий резонансного поглощения и неизменной толщине поглощающего слоя величина атомной абсорбции (оптическая площадь поглощающей среды) линейно зависит от концентрации атомов определяемого элемента в соответствии с законом Бугера — Ламберта — Бера. Это позволяет путем измерения атомной абсорбции определять концентрацию элементов в анализируемом веществе, используя предварительно полученную зависимость (или график) величины атомной абсорбции от концентрации определяемого элемента.

Для проведения анализа вещества методом ААС анализируемую пробу, в которой определяемые элементы обычно находятся в виде соединений, необходимо перевести в элементное состояние — атомный пар, состоящий из свободных невозбужденных атомов. Этот процесс, называемый атомизацией, осуществляется путем нагрева пробы до высокой температуры, порядка 2000–3000 °С. Высокая температура предпочтительна в связи со снижением влияния матрицы, однако верхний ее предел ограничен ионизацией атомов и ее отрицательным влиянием на результаты анализа. Наибольшее распространение в настоящее время нашли два метода атомизации: пламенный (в пламени горелки) и электротермический (в графитовой печи).

Основным достоинством ААС является высокая селективность вследствие малой ширины абсорбционных линий и небольшого их числа, что в большинстве случаев исключает возможность наложения резонансных линий различных элементов. Важным преимуществом метода являются простота и экспрессность проведения анализа, особенно в пламенном варианте. Применение компьютера в сочетании с автоматической подачей образца в атомизатор позволяет полностью автоматизировать процесс анализа жидких проб. Метод ААС позволяет определять большое количество элементов таблицы Менделеева, причем для большинства из них достигаются низкие пределы обнаружения, особенно для непламенного варианта с электротермической атомизацией в графитовой печи.

Комбинация двух вариантов ААС (пламенного и электротермического) позволяет проводить анализ в весьма широком диапазоне концентраций при высокой чувствительности. Это особенно важно при большом объеме анализов и необходимости определения нескольких элементов в сложных матрицах.

Недостатками метода ААС являются:

- необходимость мер предосторожности при работе с горючими газами, большой расход газов и, в связи с этим, относительно высокая стоимость проведения серийных анализов;

- потеря экспрессности при серийных анализах из-за смены ламп, особенно при определении нескольких элементов в одной пробе;

- необходимость специальной пробоподготовки при анализе пищевых продуктов, почвы, любых твердых проб.

В связи с зависимостью чувствительности метода от длины поглощающего слоя пламени требуются специальные горелки и применение мер стабилизации пламени. Метод ААС не пригоден для определения ряда элементов,

резонансные линии которых лежат за пределами спектрального диапазона 190–900 нм (галогены, инертные газы, кислород, сера и другие).

Электротермический вариант ААС по сравнению с методом пламенной ААС имеет гораздо меньшее число *недостатков*:

- наличие химических помех;
- необходимость специальной пробоподготовки для твердых проб;
- невозможность определения галогенов, инертных газов, кислорода, серы и некоторых других элементов.

Преимущества непламенного варианта ААС по сравнению с пламенным:

- значительно более высокая чувствительность;
- м — меньшее количество необходимого для анализа вещества;
- отсутствие необходимости в горючих газах, а также неудобств, связанных с их применением.

Атомно-эмиссионная спектроскопия

Метод атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС) в современном виде является одним из высокопроизводительных, чувствительных и точных методов элементного анализа. Достоинством этого метода является возможность многоэлементного анализа. В основе метода АЭС лежит явление ионизации свободных атомов определяемого элемента высокотемпературным нагревом. Последующий переход атомов обратно из возбужденного состояния в нормальное (рекомбинация ионов) сопровождается излучением света определенных длин волн. Спектр излучения для атомов каждого элемента строго индивидуален, а интенсивность излучения характеристической длины волны зависит от концентрации элемента. Это позволяет идентифицировать атомы, имея библиотеку спектров, а по интенсивности излучения и предварительно полученным (с помощью стандартных растворов) калибровочным зависимостям проводить количественное определение содержания элементов в пробе веществ.

В отличие от метода атомно-абсорбционной спектроскопии, основанного на изучении спектров поглощения света свободными невозбужденными атомами определяемого элемента, в методе атомно-эмиссионной спектроскопии обычно требуется нагрев при более высокой температуре 3500–8000 °С. Это связано с тем, что помимо энергии, необходимой для перевода вещества в атомное состояние, в данном методе для перевода атома в возбужденное (ионизированное) состояние требуется дополнительная энергия (энергия ионизации). Поэтому в качестве источников энергии для возбуждения атомов в данном методе используется, кроме высокотемпературного пламени, дуга, искра, высокочастотно-индуцированная плазма.

Существенное развитие метод атомно-эмиссионной спектроскопии получил в результате создания надежных источников плазмы, разработки и применения новых регистрирующих устройств, детекторов различного образца, мощного программного компьютерного обеспечения. Так, в результате разработки высокостабильных источников плазмы, в которых для получения плазмы используется энергия высококачественного переменного тока, передаваемая посредством магнитной индукции атомам инертного газа (аргона), возник метод индуктивно-связанной плазмы (ИСП). Благодаря более высокой

температуре (5000–10 000 °С) и существенному повышению стабильности плазмы аналитические возможности АЭС метода значительно расширились (возможность определения атомов с большой энергией ионизации) улучшились показатели метода: чувствительность, точность, воспроизводимость результатов. Применение новых регистрирующих устройств на основе полупроводниковых приборов (фотодиодные матрицы, многоэлементные фотоприемники с зарядной связью) в сочетании с программным компьютерным управлением работой спектрометра (регулирование режима плазмы, оптимизация направления обзора плазмы, учет влияния спектрального фона, управление вспомогательными системами для ввода проб, фиксация результатов измерений) позволили добиться полной автоматизации и экспрессности испытаний, расширить аналитические возможности атомно-эмиссионного метода до определения малых концентраций элементов со сложными спектрами, состоящими из тысяч длин волн (уран, железо и др.), достичь очень высокого разрешения и чувствительности при определении большинства элементов таблицы Менделеева.

Наиболее совершенной является конструкция атомно-эмиссионного спектрометра, в которой в качестве источника возбуждения атомов анализируемого вещества используется индуктивно-связанная плазма, возбуждаемая в аргоне с помощью энергии высокочастотного переменного тока, передаваемой посредством магнитной индукции. Метод АЭС-ИСП превосходит по пределам обнаружения метод пламенной абсорбции, однако он уступает методу беспламенной атомной абсорбции с электротермической атомизацией в графитовой кювете. Точность методов ИСП и ААС близка. К числу недостатков ИСП-спектрометрии следует отнести сравнительно высокие эксплуатационные расходы, связанные с большим расходом аргона высокой чистоты, используемого для обдува плазмы, необходимость поддержания постоянных условий проведения испытаний, а также высокую стоимость оборудования. Преимуществами метода АЭС являются: высокая чувствительность и разрешающая способность, возможность анализа при малых количествах вещества, возможность многоэлементного анализа, высокая производительность.

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

В масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) источник ИСП используется для получения однозарядных ионов из матриц элементов в пробе, которые затем направляются в масс-спектрометр и разделяются по соотношению массы к заряду. Ионы с определенным отношением массы к заряду направляются на детектор, определяющий их количество. В классических приборах используется квадрупольный масс-спектрометр из-за его простоты использования, надежности и быстродействия. Благодаря сходству способа ввода образца и обработки данных работа на ИСП-МС приборе очень похожа на работу на ИСП-ОЭС приборе.

Метод ИСП-МС сочетает возможности одновременного многоэлементного анализа плазменных методов и исключительные пределы обнаружения, которые соизмеримы или чаще ниже пределов метода ЭТААС. ИСП-МС — один из немногих методов анализа, который позволяет определять следовые содержания и соотношения изотопов элементов, а также выполнять точные

определения различных форм нахождения элементов, будучи объединенным с хроматографическим методом разделения (ВЭЖХ или ГХ). Эта особенность дает пользователю возможность определять точные формы нахождения элементов в образце, а не только их общие концентрации. Однако вследствие того, что вещество образца непосредственно контактирует с детектором, есть некоторые ограничения на то, какое количество матрицы, присутствующей в анализируемом образце, может быть введено в ИСП-МС прибор.

Кроме того, стоимость обслуживания, требуемого для ИСП-МС прибора выше стоимости обслуживания ИСП-ОЭС систем. В общем случае, для ИСП-МС содержание сухого остатка в исследуемых растворах не должно превышать 0,2 % при долговременной работе и максимальной стабильности измерений. Между горелкой ИСП и самим масс-спектрометром находится несколько узлов, таких как конусы интерфейса и ионная оптика, которые нуждаются в периодической чистке для поддержания стабильной работы прибора. Последние исследования в ИСП-МС привели к созданию новых технологий, позволяющих устранять наиболее сложные помехи (помехи, вызванные газами плазмы или возникающие при анализе моноизотопных элементов) не ограничивая при этом детектирующих возможностей метода. Системы с динамической реакционной ячейкой (DRC™) позволяют удалять большинство помех до их попадания в масс-спектрометр при помощи управляемых химических реакций, протекающих в газовой фазе в эффективно замкнутой ячейке, содержащей дополнительный квадрупольный масс-фильтр. Это приводит к кардинальному улучшению пределов обнаружения для большинства элементов.

Тема 1.2. Основы флуориметрического метода анализа

Цель занятия: изучить методические основы флуоресцентного анализа, научиться работать на аппаратуре для флуориметрии.

Теоретические вопросы:

1. Флуоресцентный анализ (флуориметрия).
2. Флуоресценция.
3. Характеристика флуоресценции.
4. Методические основы флуориметрии.

Практические знания и умения:

- изучить количественный флуоресцентный анализ;
- изучить качественный флуоресцентный анализ;
- научиться работе флуориметра.

Содержание практической части:

Студенты на занятии изучают методические основы количественного и качественного флуоресцентного анализа, учатся работе на флуориметре.

Теоретические основы при изучении темы

Флуоресцентный анализ (флуориметрия)

Флуориметрия — метод фотометрического анализа, основанный на измерении интенсивности вторичного излучения, возникающего в результате взаимодействия лучистой энергии с определяемым веществом.

Независимость спектра люминесценции от длины волны возбуждающего света. Это объясняется тем, что возбужденные молекулы, поглотившие кванты различной величины, попадают на уровни разных возбужденных электронно-колебательных состояний. После такого перераспределения избыточной энергии происходит излучательный переход с одних и тех же электронных уровней, поэтому спектр люминесценции не изменяется.

Закон Стокса-Ломмеля. Стоксом было сформулировано правило, согласно которому спектр флуоресценции вещества всегда имеет большую длину волны, чем спектр поглощения. Ломмель уточнил правило Стокса, предложив для него следующую формулировку: «Спектр излучения в целом и его максимум всегда сдвинуты по сравнению со спектром поглощения и его максимумом в сторону длинных волн». Закон строго выполняется для широкого круга флуоресцирующих веществ.

Правило зеркальной симметрии спектров поглощения и излучения. Это правило характеризует взаимное расположение спектров поглощения и излучения веществ, обладающих люминесценцией, и может быть сформулировано следующим образом: «Нормированные (приведенные к одному максимуму) спектры поглощения и излучения, изображенные в функции частот, зеркально симметричны относительно прямой, проходящей перпендикулярно к оси частот через точку пересечения обоих спектров». Это правило весьма полезно при выполнении люминесцентного анализа, а также при расшифровке спектров и установлении энергетических уровней исследуемых молекул.

У веществ, подчиняющихся правилу зеркальной симметрии, можно по одному из спектров (поглощения или люминесценции) без их измерений установить форму другого спектра и выбрать подходящие для данного вида анализа светофильтры. Вещества-люминофоры определяют по их собственной флуоресценции. Если определяемые вещества не являются люминофорами, то для их определения используют люминесцентные реакции. Последние должны сопровождаться возникновением или ослаблением флуоресценции раствора. Как и каждая реакция, применяемая в анализе, люминесцентная реакция должна протекать быстро, количественно, быть воспроизводимой и по возможности избирательной. Для определения анионов часто используют косвенный флуориметрический метод, основанный на тушении люминесценции. Примером такого метода может служить определение иодид-ионов по тушению флуоресценции флуоресцеина.

На чувствительность флуориметрических определений существенное влияние оказывает присутствие посторонних веществ. Посторонние вещества могут снижать выход люминесценции либо уменьшать интенсивность свечения люминофора за счет эффекта внутреннего фильтра, понижая тем самым чувствительность определений. Для достижения максимальной чувствительности определения из двух реагентов выбирают тот, который приводит к образованию люминофора, характеризующегося минимальным перекрытием спектров поглощения и излучения. Пределы обнаружения веществ флуориметрическим методом составляют от 10^{-8} до 10^{-4} %.

Флуоресценция (вариант: *флюоресценция*) — физический процесс, разновидность люминесценции. Флуоресценцией обычно называют излучательный переход возбужденного состояния с самого нижнего синглетного колебательного

уровня S_1 в основное состояние S_0 . В общем случае флуоресценцией называют разрешенный по спину излучательный переход между двумя состояниями одинаковой мультиплетности: между синглетными уровнями $S_1 \rightarrow S_0$ или триплетными $T_1 \rightarrow T_0$. Типичное время жизни такого возбужденного состояния составляет 10^{-11} – 10^{-6} с. Физический эффект флуоресценции заключается в том, что молекула исследуемого вещества поглощает квант света возбуждения и при этом переходит в новое, энергетически более богатое состояние, через некоторый микропромежуток времени она излучает избыточную энергию в виде квантасвета флуоресценции (эмиссии).

Характеристики флуоресценции

1. *Спектр флуоресценции* — распределение интенсивности излучения флуоресценции по длинам волн или частотам.

$$I_{lm} = f(\nu); I_{lm} = \varphi(\nu)$$

2. *Энергетический выход φ_e флуоресценции* — это отношение энергии E_{lm} , излучаемой флуоресцирующим веществом, к энергии E_{abc} поглощенного света:

$$\varphi_e = \frac{E_{lm}}{E_{abc}}$$

Энергетический выход флуоресценции характеризует эффективность преобразования поглощенной световой энергии в энергию флуоресцентного излучения.

3. *Квантовый выход φ флуоресценции* — это отношение числа излученных квантов люминесценции (флуоресценции) N_{lm} к числу квантов N_{abc} поглощенного возбуждающего излучения:

$$\varphi_e = \frac{N_{lm}}{N_{abc}}$$

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

Квантовый выход флуоресценции зависит от:

- длины волны возбуждающего света;
- природы растворимого флуоресцирующего вещества и растворителя;
- концентрации раствора;
- температуры;
- присутствия примесей в растворе.

Виды флуоресценции:

1. Фосфоресценция.
2. Сономалинисценция.
3. Биомалинисценция.
4. Хемомалинисценция.

Методические основы флуориметрии

Флуориметрия — метод анализа, основанный на измерении интенсивности веществом, относительно флуоресценции, излучаемой испытуемым флуоресценции, излучаемой стандартным образцом. Испытуемое вещество

растворяют в растворителе или смеси растворителей, указанных в частной фармакопейной статье. Полученный раствор помещают в кювету или камеру флуориметра и облучают возбуждающим светом, имеющим как можно большую монохроматичность, при длине волны, указанной в частной фармакопейной статье.

Измеряют интенсивность испускаемого света под углом 90° относительно возбуждающего света после прохождения сквозь фильтр, избирательно пропускающий свет с длиной волны максимальной флуоресценции. Могут быть использованы и другие типы приборов при условии получения аналогичных результатов. При проведении количественных определений в прибор помещают растворитель или смесь растворителей, используемые для растворения испытуемого вещества, и устанавливают регистрирующее устройство прибора на нулевое значение. Затем помещают стандартный раствор и устанавливают чувствительность прибора таким образом, чтобы отклик показаний был больше 50. Если другое регулирование было проведено с изменением ширины щели, повторно устанавливают регистрирующее устройство прибора на нулевое значение и снова измеряют интенсивность флуоресценции стандартного раствора. Затем в прибор помещают испытуемый раствор с неизвестной концентрацией и регистрируют показания прибора. Концентрацию (c_x) испытуемого вещества в растворе рассчитывают по формуле:

$$c_x = \frac{l_x c_s}{l_s}$$

где c_x — концентрация испытуемого раствора;

c_s — концентрация стандартного раствора;

l_x — интенсивность флуоресценции испытуемого раствора;

l_s — интенсивность флуоресценции стандартного раствора.

Если значения интенсивности флуоресценции не строго пропорциональны значениям концентрации растворов, измерения могут проводиться с использованием калибровочного графика.

В некоторых случаях измерения могут проводиться с использованием фиксированного стандарта (например, флуоресцирующего стекла или раствора флуоресцирующей жидкости). В таких случаях концентрация испытуемого вещества может определяться с использованием калибровочного графика, построенного в тех же условиях. Принцип измерения состоит в облучении пробы излучением УФ-области и измерении полученного спектра с помощью фотодетектора. Флуориметрический метод анализа реализован в анализаторе жидкости Флюорат-02-5М, выпускаемым отечественным производителем. На этом приборе имеется дополнительная возможность выполнения анализа в фотометрическом, а также хемилюминесцентном режиме измерения массовой концентрации органических и неорганических веществ в области спектра 200–650 нм.

В пользовательское меню анализатора вносят названия выполняемых методик, способ обработки результата и калибровочные коэффициенты. Во время работы оператор выбирает из меню необходимую методику, и, установив после измерения фонового сигнала кювету с пробой, запускает процесс измерения. Концентрация определяемого компонента отображается на встроенном дисплее.

Флуориметр Флюорат-02-5М эффективно используется в Лаборатории санитарно-эпидемиологического и радиационного контроля ГБУ «ЦЭИИС» для выполнения анализа воды на содержание таких веществ как нефтепродукты, алюминий, поверхностно-активные вещества, бор, фенол (фенольный индекс) и цианиды. Метод флуориметрии является высокочувствительным, поэтому пригоден для измерения очень малых концентраций веществ, что очень важно для загрязнений, обладающих токсикологическим действием, к которым относятся вышеуказанные загрязнители.

Тема 1.3. Весовой анализ в исследованиях воды и почвы

Цель занятия: научить студентов основам метода весового анализа в исследованиях воды и почвы.

Теоретические вопросы:

1. Понятие весовой (гравиметрический) метод.
2. Применение сравнительного анализа.
3. Классификация методов гравиметрического анализа.
4. Основные операции гравиметрического анализа.
5. Требования к осаждаемой и гравиметрической формам осадка.

Практические навыки и умения:

- составлять санитарные характеристики метода весового анализа в исследованиях воды и почвы;
- на основании санитарной характеристики уметь выделять различные типы и виды весового анализа;
- составлять программу для определения и регистрации различных видов весового анализа;
- оценивать полноту и правильность проведения метода весового анализа в исследованиях воды и почвы.

Содержание практической части:

Студенты на занятии получают ситуационные задачи по санитарно-гигиеническим методам исследования почвы и воды с применением весового анализа.

Теоретические основы при изучении темы

Определение понятия «гравиметрия»

Гравиметрический анализ — это метод количественного химического анализа, основанный на точном измерении массы определяемого вещества или его составных частей, выделяемых в химически чистом состоянии или в виде соответствующих соединений точно известного постоянного состава.

При выполнении весовых определений определяемый компонент смеси, или составную часть (элемент, ион) вещества количественно связывают в такое химическое соединение, в виде которого она может быть выделена и взвешена (так называемая гравиметрическая форма, ранее она именовалась «весовая форма»). Состав этого соединения должен быть строго определенным, то есть точно выражаться химической формулой, и оно не должно содержать каких-либо посторонних примесей.

В гравиметрии используются различные неорганические и органические химические соединения. Так, например, 1,2,3-бензотриазол применяется для гравиметрического определения металлов: меди, серебра, цинка и др.

Вершины своего развития весовой анализ достиг в 1950-е годы, когда еще не было широкого применения спектральных и хроматографических методов.

В настоящее время он остается своеобразным эталоном, методической базой при разработке и аттестации других методов.

Гравиметрические методы применяют редко. Основное их достоинство — исключается построение калибровочных графиков (построение графика при анализе многокомпонентных смесей затруднительно, из-за невозможности приготовления стандартной смеси, точно моделирующей пробу, не зная заранее состава пробы). Гравиметрические методы применяют в качестве арбитражных при определении магния, натрия, кремнекислоты, сульфат-ионов, суммарного содержания нефтепродуктов, жиров.

Применение гравиметрического анализа:

- определение гигроскопической влаги в почве;
- содержание сухого вещества в плодах и овощах;
- кристаллизационную воду в солях;
- зольность топлива;
- содержание элементов в веществах;
- установление формулы вещества.

Например, в хлебопекарной промышленности анализируют на этот показатель муку, практически все дополнительное сырье (сухое коровье молоко, сгущенное молоко с сахаром, сливочное масло, маргарин, яичный порошок и т. д.), а также готовые хлебобулочные изделия.

Классификация методов гравиметрического анализа

Все многочисленные гравиметрические определения можно разделить на три большие группы: методы выделения, методы отгонки и методы осаждения.

В методах выделения определяемый компонент выделяют в свободном состоянии из анализируемого образца и взвешивают на аналитических весах. Так, например, определяют массовую долю золы в пищевых продуктах (в частности, уже упоминавшуюся выше зольность муки) или массовую долю сухих веществ (сухого остатка). В методах отгонки г.а. определяемый компонент количественно отгоняют в виде летучего соединения путем нагревания анализируемого образца или действием соответствующих реагентов.

Методы отгонки бывают прямыми и косвенными. В прямых методах отгонки определяемый летучий компонент поглощают специфическим поглотителем и по увеличению его массы вычисляют содержание определяемого компонента, или определяемое вещество отгоняют из смеси и образовавшийся отгон взвешивают.

В косвенных методах отгонки определяемое вещество отгоняют из точной навески анализируемого образца. После окончания отгонки образец снова взвешивают. Массу определяемого вещества находят по разности масс образца до и после отгона О.В. В пищевой промышленности таким образом определяют массовую долю влаги в различных видах сырья и готовых изделиях.

Наиболее разнообразное применение из гравиметрических методов получили методы осаждения. Напомним, что они основаны на том, что определяемый компонент количественно осаждают химическими способами (т. е. при взаимодействии с подходящим реактивом-осадителем) в виде малорастворимого соединения.

Основные операции гравиметрического анализа

Осаждаемая и гравиметрическая формы осадка методом осаждения проводят в следующей последовательности:

- 1) отбирают среднюю пробу анализируемого образца;
- 2) взвешивают навеску для анализа;
- 3) растворяют навеску;
- 4) осаждают определяемый компонент;
- 5) отделяют осадок фильтрованием;
- 6) промывают осадок;
- 7) высушивают осадок;
- 8) промывают осадок;
- 9) взвешивают осадок;
- 10) вычисляют результат анализа;

Требования к осаждаемой и гравиметрической формам осадка

Требования к осаждаемой форме:

1. Осадок должен быть практически нерастворим.
2. Желательно, чтобы структура осадка давала возможность с достаточной скоростью выполнить операции фильтрования и промывания осадка.
3. Необходимо, чтобы осаждаемая форма достаточно легко и полностью превращалась в гравиметрическую форму.

Требования к гравиметрической форме:

1. Состав гравиметрической формы должен соответствовать определенной химической форме.
2. Гравиметрическая форма должна обладать достаточной химической устойчивостью.
3. Гравиметрическая форма, получаемая путем прокаливания, должна обладать устойчивостью при высоких температурах (термоустойчивостью).
4. Молекулярная масса гравиметрической формы должна быть по возможности большей.

Тема 1.4. Использование объемного анализа для исследования воды, почвы, пищевых продуктов

Цель занятия: освоить принципы и методы объемного анализа, научиться использовать методы объемного анализа для исследования проб вод, почвы и продуктов питания.

Теоретические вопросы:

1. Объемный анализ. Определение. Принцип метода.
2. Методы объемного анализа. Титрование (определение, виды). Газовый анализ.

Конец ознакомительного фрагмента.

Приобрести книгу можно

в интернет-магазине

«Электронный универс»

e-Univers.ru