УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Т.Н. Носенко, В.Е. Ситникова, И.Е. Стрельникова, М.И. Фокина

ПРАКТИКУМ ПО КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ



Санкт-Петербург 2021

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Т.Н. Носенко, В.Е. Ситникова, И.Е. Стрельникова, М.И. Фокина

ПРАКТИКУМ ПО КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ ИТМО по направлению подготовки 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии», 18.04.02 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии» в качестве учебного пособия для реализации основных профессиональных образовательных программ высшего образования магистратуры

ЭНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Санкт-Петербург 2021 Ситникова, В. Е., Практикум по колебательной спектроскопии: Учебное пособие / Т.Н. Носенко, В.Е. Ситникова, И.Е. Стрельникова, М.И. Фокина– СПб: Университет ИТМО, 2021. – 173 с.

Рецензент: Михайлов Иван Викторович, научный сотрудник, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник лаборатории теории и моделирования полимеров Института высокомолекулярных соединений Российской академии наук

Пособие адресовано студентам, обучающимся по направлениям 12.04.04 Биотехнические системы и технологии, 18.04.02 Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии. В данном учебном пособии рассмотрены различные области применения ИК спектроскопии и методики исследования различных образцов, таких как органические, неорганические материалы, полимеры и биологические материалы. Знакомство с данной информацией предложено осуществить при выполнении лабораторных и практических работ.

Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Университет ИТМО, 2021 ©Носенко Т.Н., 2021 © Ситникова В.Е., 2021 © Стрельникова И.Е., 2021 © Фокина М.И., 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ
1 Краткая теория инфракрасной спектроскопии5
2. Принципы работы ИК спектрометра15
3. Лабораторные и практические работы 36
3.1 Применение ИК спеткроскопии к анализу молекул
3.1.1 Определение равновесного межъядерного расстояния в молекуле
двухатомного газа
3.1.2 Определение волнового числа основной полосы поглощения
двухатомной молекулы газа 39
3.1.3 Идентификация органических соединений методом
ИК спектроскопии
3.1.4 Количественное определение лекарстенных веществ в таблетке 48
3.1.4 Исследование неорганических соединений методом
ИК спектроскопии
3.1.5 Характеристика координационного комплекса с помощью
инфракрасной спектроскопии
3.2 Применение ИК спектроскопии к характристике материалов71
3.2.1 Определение толщины тонких пленок методом ИК спектроскопии 71
3.2.2 Измерение толщины тонкого полимерного слоя с помощью
инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего
отражения75
3.2.4 Определение размеров пор в пористых полимерных матрицах 79
3.3 Применение ИК спектроскопии при исследеовании полимеров
3.3.1 Идентификация полимерных материалов
3.3.2 Качественный структурно-групповой анализ мономера и полимера. 90
3.3.3 Определение состава сополимера этилена с пропиленом
3.3.4 Расчет степени молекулярной ориентации полиэтилена95
3.3.5 Количественное определение карбонильных групп в полиэтилене
методом ИК спектроскопии
3.3.6 Кинетика УФ полимеризации полимерных композитов 103
3.3.7 Исследование поверхности многослойных полимерных
материалов 107
3.4 Применение ИК спектроскопии в геологии 109
3.4.1 Исследование связанной воды в минералах109
3.4.2 Анализ минералов методом ИК спектроскопии 114
3.4.3 Исследование спектральных свойств нефтей и определение
структурно-группового состава
3.5 Применение ИК спектроскопии к анализу биологических
материалов
3.5.1 Исследование биологических материалов методом
ИК спектроскопии

3.5.2 Определение вторичной структуры белков 135							
3.5.3 Применение ИК спектроскопии для определения степени перекисного							
окисления липидов146							
3.6 ИК спектроскопия и многомерный анализ154							
3.6.1 Применение метода главных компонент для решения задач							
классификации на основе ИК спеткральных данных 154							
3.6.2 Обработка данных ИК спектроскопии с помощью Метода Проекций на							
Латентные Структуры164							

введение

Инфракрасная спектроскопия, безусловно, является одним из наиболее важных аналитических методов, доступных современным ученым. Одно из больших преимуществ инфракрасной спектроскопии заключается в том, что можно исследовать практически любой образец практически в любом состоянии. Жидкости, растворы, пасты, порошки, пленки, волокна, газы и поверхности можно исследовать с помощью разумного выбора техники отбора проб.

В данном учебном пособии рассмотрены различные области применения ИК спектроскопии и методики исследования различных образцов, таких как органические, неорганические вещества, полимеры и биологические материалы. Знакомство с представленной информацией предложено осуществить при выполнении лабораторных и практических работ.

Пособие адресовано студентам, обучающимся по программам магистратуры на направлениях подготовки 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии» (образовательная программа «Биоинженерия и биотехнические системы»), 18.04.02 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии» (образовательная программа «Биоэкономика и управление ресурсами»), предназначено для ознакомления студентов с основными теориями и методами интерпретации данных инфракрасной спектроскопии, а также как руководство по выполнению лабораторных и курсоваых работ по курсу «Современные методы исследования материалов», и обучающимся, научно-исследовательские работы выполняющим по тематикам, включающим исследование термических характеристик исследуемых объектов.

Авторы также считают, что этот материал будет полезен в качестве вводного курса как для выпускников, так и для студентов непрофильных специальностей.

1. Краткая теория инфракрасной спектроскопии

Инфракрасные спектрометры коммерчески доступны с 1940-х годов. В то время приборы полагались на призмы в качестве дисперсионных элементов, но к середине 1950-х годов в дисперсионные приборы были введены дифракционные решетки. Однако наиболее существенные достижения в области инфракрасной спектроскопии стали результатом внедрения спектрометров с Фурье-преобразованием. Этот тип прибора использует интерферометр и хорошо известный математический процесс преобразования Фурье. Инфракрасная спектроскопия с Фурьепреобразованием значительно улучшила качество инфракрасных спектров

5

и минимизировала время, необходимое для получения данных. Кроме того, благодаря постоянному совершенствованию компьютеров инфракрасная спектроскопия добилась еще больших успехов.

Инфракрасная спектроскопия - это метод, основанный на колебаниях атомов молекул. Инфракрасный спектр обычно получают путем пропускания инфракрасного излучения через образец и определения того, какая часть падающего излучения поглощается при определенной энергии. Энергия, при которой появляется любой пик в спектре поглощения, соответствует частоте колебания связи в молекуле образца.

Электромагнитный спектр

Видимая часть электромагнитного спектра по определению является излучением, видимым человеческим глазом. Другие системы обнаружения выявляют излучение за пределами видимых областей спектра, и они классифицируются как радиоволны, микроволновые, инфракрасные, ультрафиолетовые, рентгеновские и γ-лучи. Эти области показаны на рисунке 1.1. Каждое из представленных излучений может рассматриваться как волна или частица, движущаяся со скоростью света. Эти волны отличаются друг от друга длиной и частотой.



Рисунок 1.1 – Электромагнитный спектр [1]

Частота v - это число волновых циклов, которые проходят через точку за одну секунду. Измеряется в Гц, где 1 Гц = 1 цикл / сек. Длина волны λ - это длина одного полного волнового цикла. Часто измеряется в сантиметрах. Длина волны и частота обратно пропорциональны:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \ \text{i} \ \lambda = \frac{c}{\nu'},\tag{1}$$

где c – скорость света, $3 \cdot 10^{10}$ см/с.

Энергия связана с длиной волны и частотой по следующим формулам:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda},\tag{2}$$

где *h* – постоянная Планка, 6,6·10⁻³⁴ Дж·с. Энергия прямо пропорциональна частоте и обратно пропорциональна длине волны.

Область ИК разделена на три области: ближний, средний и дальний ИК (см. рисунок 1.2). Средняя ИК область имеет наибольшее практическое применение для исследований в химии. Это область длин волн от $3 \cdot 10^{-4}$ до $3 \cdot 10^{-3}$ см.



Рисунок 1.2 - ИК диапазон электромагнитного спектра [1]

Волновое число является обратной величиной длины волны в см:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}.$$
(3)

где ν измеряется в единицах [см⁻¹], λ измеряется в единицах [см], а значит:

$$E = hc\bar{\nu}.\tag{4}$$

В волновых числах средний ИК диапазон составляет 4000–400 см⁻¹. Увеличение волнового числа соответствует увеличению энергии.

Инфракрасное излучение поглощается органическими молекулами и преобразуется в энергию молекулярного колебания. В ИК спектроскопии органическая молекула подвергается воздействию инфракрасного излучения. Когда энергия излучения соответствует энергии определенного молекулярного колебания, происходит поглощение. Типичный ИК спектр показан ниже (рис. 1.3). Волновое число, нанесенное на ось *X*, пропорционально энергии; следовательно, самые высокие энергетические колебания находятся слева. Процент пропускания (% T) нанесен на ось *Y*. Интенсивность полос также может быть выражена как поглощение (A). Поглощение – это десятичный логарифм обратной величины коэффициента пропускания:

$$A = \log_{10} (1/T).$$
(5)

На рисунке 1.3 показано, как выглядит один и тот же ИК спектр, полученный в единицах пропускания Т и в единицах поглощения А.

Волновые числа (иногда называемые частотами), при которых органическая молекула поглощает излучение, дают информацию о функциональных группах, присутствующих в молекуле. Определенные группы атомов поглощают энергию и, следовательно, создают полосы поглощения примерно с одинаковыми частотами. В химическом анализе анализируются спектры с помощью таблиц, которые соотносят частоты с функциональными группами.



Рисунок 1.3 - ИК спектр изопропанола, отображаемый как пропускание (слева) и поглощение (справа)

Молекулярные колебания

Существует два типа молекулярных колебаний: валентные колебания и деформационные колебания. Валентные колебания сопровождаются изменением длины связи вдоль ее оси, при этом различают симметричные и асимметричные колебания (рисунок 1.4). Деформационные колебания сопровождаются изменением угла между связями. То есть, длины связей и углы представляют средние позиции, вокруг которых колеблются атомы.



Рисунок 1.4 – Валентные и деформационные колебательния H₂O

Молекула, состоящая из *n* атомов, имеет в общей сложности **3***n* степеней свободы, соответствующих декартовым координатам каждого атома в молекуле. В нелинейной молекуле три из этих степеней являются вращательными, три - поступательными, а остальные соответствуют фундаментальным колебаниям; в линейной молекуле две степени являются вращательными, а три - поступательными. Таким образом, чистое число фундаментальных колебаний для нелинейных и линейных молекул составляет:

молекула	степень свободы
линейная	3n-6
нелинейная	3n-5

Расчет показывает, что простая молекула, такая как пропан, C₃H₈, имеет 27 фундаментальных колебаний, и, следовательно, можно предсказать 27 полос в ИК спектре (фактическое число иногда отличается). Основные колебания для воды, H₂O, приведены на рисунке 1.4. Нелинейная молекула воды имеет три основных колебания.

Углекислый газ, CO₂, является линейным и, следовательно, имеет четыре основных колебания (рисунок 1.5). Несимметричное растяжение CO₂ дает сильную полосу в ИК при 2350 см⁻¹. Два вида ножничных или деформационных колебания эквивалентны и, следовательно, имеют одинаковую частоту и, как говорят, являются вырожденными, появляющимися в ИК спектре при 666 см⁻¹.





Симметричное растяжение CO_2 в ИК неактивно, потому что это колебание не вызывает изменения дипольного момента молекулы. Чтобы быть ИК активным, колебания должны вызывать изменение дипольного момента молекулы. Из следующих линейных молекул монооксид углерода и хлорид йода поглощают ИК излучение, а водород, азот и хлор - нет. В общем, чем больше изменение диполя, тем сильнее интенсивность полосы в ИК спектре.





Для углекислого газа видны только две ИК полосы (2350 и 666 см⁻¹) вместо четырех, соответствующих четырем основным колебаниям.

Углекислый газ является примером того, почему не всегда можно увидеть столько полос, сколько следует из нашего простого расчета. В случае CO₂ две полосы вырождены, и одно колебание не вызывает изменения дипольного момента. Другие причины, по которым видно меньшее, чем теоретическое количество ИК полос поглощений, включают: 1) поглощение не находится в диапазоне 4000–400 см⁻¹; 2) поглощение слишком слабое, чтобы его можно было наблюдать; 3) поглощения слишком близко друг к другу, чтобы их можно было разрешить на приборе. Наблюдаются дополнительные слабые полосы, которые являются обертонами или комбинациями фундаментальных колебаний.

Валентные и деформационные колебания для важной органической группы - CH_2 показаны на рисунке 1.6. (Правило 3n-6 не применяется, поскольку группа – CH_2 представляет собой только часть молекулы). Деформационные колебания происходят на более низких частотах, чем соответствующие валентные колебания.

Как валентные, так и деформационные колебания молекулы, как показано на приведенных выше рисунках, могут быть предсказаны математически, по крайней мере, до полезного приближения.

Частота растяжения связи атомов может быть аппроксимирована законом Гука. В этом приближении два атома и связь между ними рассматриваются как простой гармонический осциллятор, состоящий из двух масс (атомов), соединенных пружиной. Энергетическая кривая для простого гармонического осциллятора показана на рисунке 1.7. Согласно закону Гука частота колебания пружины связана с массой и силовой константой пружины k следующей формулой:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m'}} \tag{6}$$

где k - постоянная силы, m – масса, v - частота колебания.

В классическом гармоническом генераторе $E = 1/2 kx^2 = hv$, где x смещение пружины. Таким образом, энергия или частота зависят от того, насколько сильно растягивается или сжимается пружина, что может быть любым значением. Если бы эта простая модель была верной, молекула могла бы поглощать энергию любой длины волны. Колебательное движение молекулы квантуется: оно должно следовать правилам квантовой механики, и единственные допустимые переходы соответствуют следующей формуле:

$$E = (n + 1/2)hv,$$
 (7)

где v - частота колебания, n – квантовое число (0, 1, 2, 3, ...).



Рисунок 1.7 - Кривая энергии колеблющейся пружины (слева) и энергия, ограниченная квантово-механической моделью (справа)

Самый низкий уровень энергии $E_0 = 1/2 hv$, следующий самый высокий уровень $E_1 = 3/2 hv$. Согласно правилу отбора, разрешены только переходы на следующий уровень энергии; поэтому молекулы будут поглощать количество энергии, равное 3/2 - 1/2 hv или hv. Это правило не является жестким, и иногда наблюдаются переходы 2hv, 3hv или выше. Они соответствуют полосам, называемым обертонами в ИК спектре. Они имеют меньшую интенсивность, чем основные полосы колебания.



Рисунок 1.8 - Энергетическая кривая для ангармонического осциллятора (показывающая колебательные уровни для колеблющейся связи)

Конечно, молекула - это не просто два атома, соединенных на пружине. Молекула на самом деле является ангармоническим осциллятором. По мере увеличения межатомного расстояния энергия достигает максимума, как показано на рисунке 1.8. Энергетические уровни становятся более близко расположенными с увеличением межатомного расстояния в ангармоническом осцилляторе. Разрешенные переходы *hv* становятся меньше по энергии. Следовательно, обертоны по энергии могут быть ниже, чем предсказывает теория гармонических осцилляторов.

Следующая формула была получена из закона Гука. Для случая двухатомной молекулы (ν было заменено на $\bar{\nu}$, напомним, что $\nu = c\bar{\nu}$ из уравнений 1 и 3):

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{f(m_1 + m_2)}{m_1 m_2}},\tag{8}$$

где $\bar{\nu}$ - частота колебаний (см⁻¹), m_1 и m_2 - масса атомов 1 и 2 соответственно (г); c - скорость света (см/с); f - силовая постоянная связи (дин/см).

Уравнение (8) показывает отношение силы связи и атомной массы к волновому числу, при котором молекула будет поглощать ИК излучение. При увеличении силовой постоянной частота колебаний (волновое число) также увеличивается. Силовые постоянные для связей:

одинарная связь	двойная связь	тройная связь
5×10^5 дин/см	$10 imes 10^5$ дин/см	15 × 10 ⁵ дин/см

По мере увеличения массы атомов частота колебаний уменьшается. Используя следующие значения массы:

С, углерод	Н, водород
$12/6.02 \times 10^{23}$	$1/6.02 \times 10^{23}$

v для связи С – Н рассчитывается как 3032 см⁻¹. Фактический диапазон поглощения С – Н составляет 2850–3000 см⁻¹. Область ИК спектра, в которой видны валентные колебания связей, зависит, главным образом, от того, являются ли эти связи одинарными, двойными или тройными, или связаны с водородом. На рисунке 1.9 показано, где в ИК спектре наблюдается поглощение одинарными, двойными и тройными связями.

Как показано на рисунке 1.9, в ИК спектрах органических соединений можно выделить три основные области:

1 **4000-2500 см**⁻¹ - область валентных колебаний простых связей Х– H: O– H, N–H, C–H, S–H.

- 2 **2500-1500 см⁻¹** область валентных колебаний кратных связей X=Y, X≡Y: C=C, C=O, C=N, C≡C, C≡N.
- 3 1500-500 см⁻¹ область валентных колебаний простых связей Х– Y: С–С, С–N, С–О и деформационных колебаний простых связей Х–H: С–H, О–H, N–H. Эта область также называется "областью отпечатков пальцев", так как положение и интенсивность полос поглощения в этом диапазоне сугубо индивидуальны для каждого конкретного органического соединения. Только по полному совпадению частот и интенсивностей линий в этой области ИК спектра можно говорить об идентичности сравниваемых объектов.



Длина волны, нм

Рисунок 1.9 – Основные положения поглощения одинарных, двойных и тройных связей органических соединений

При интерпретации ИК спектров наиболее информативными являются области 2500-1500 см⁻¹ и 4000-2500 см⁻¹. Анализ первой из них позволяет определить в структуре соединения непредельные фрагменты: C=C, C=C, C=O, C=N, C=N, ароматические и гетероароматические ядра. Полосы поглощения в области 4000-2500 см⁻¹ позволяют однозначно идентифицировать такие функциональные группы, как О-Н, N-H, S-H, а также различные типы связей углерод-водород С_{sp3}-H, C_{sp2}-H, C_{sp}-H, (O=)C-H (альдегид). Поэтому рекомендуется начинать рассмотрение ИК спектров именно с этих двух областей. При обнаружении в них характеристичных полос валентных колебаний определенных типов связей найти полосы рекомендуется дополнительно соответствующих деформационных колебаний в области 1500-500 см⁻¹, например, в случае связей О–Н, N–Н, С–Н.

Коэффициент мольной экстинции в ИК спектроскопии принимает значение от 0 до 200. Его величина пропорциональна квадрату изменения дипольного момента молекулы, вызываемого данным колебанием. Наиболее интенсивными в ИК спектре являются пики, отвечающие валентным колебаниям.

Из всех свойств органических соединений ИК спектр дает наибольшую информацию о структуре соединения. Как и масс-спектр, инфракрасный спектр характерен для данного органического соединения и используется для установления идентичности двух соединений, определения строения неизвестного соединениия. Исследуя колебательные установить пространственное строение спектры, можно молекул, охарактеризовать природу связи (полярность, поляризуемость, кратность).

2. Принципы работы ИК спектрометра

В основе действия Фурье-спектрометров лежит явление интерференции электромагнитного излучения. Для изготовления этих приборов используют интерферометры нескольких типов. Наибольшее распространение получил интерферометр Майкельсона. В этом приборе инфракрасного излучения ОТ источника преобразуется поток параллельный пучок и затем разделяется на два луча с помощью светоделителя. Один луч попадает на подвижное зеркало, второй - на неподвижное. Отраженные от зеркал лучи возвращаются тем же оптическим путем на светоделитель. Эти лучи интерферируют благодаря приобретенной разности хода, а следовательно, и разности фаз, создаваемой подвижным зеркалом. В результате интерференции получается сложная интерференционная картина, являющаяся наложением интерферограмм, которые отвечают определенной разности хода и длине волны излучения. Объединенный световой поток проходит через образец и попадает на приемник излучения. Усиленный сигнал поступает на вход компьютера, осуществляет Фурье-преобразование который интерферограммы получение спектра поглощения исследуемого образца.

Фурье-преобразование является сложной вычислительной процедурой, однако интенсивное развитие вычислительной техники привело к созданию небольших по размерам быстродействующих компьютеров, встроенных в спектрометр, которые позволяют за короткое время получить спектр и провести его обработку

В Фурье-спектроскопии используются в основном три типа интерферометров: Фабри-Перо, Майкельсона и ламеллярный интерферометр.

Регистрируемая *интерферограмма* представляет зависимость сигнала от разности хода пучков и является функцией энергии источника, видоизмененной поглощением образца. Фурье-преобразование полученной интерферограммы, проводимое по заданной программе мини-ЭВМ, входящей в комплект современных Фурье-спектрометров, дает результирующий спектр поглощения исследуемого образца. Спектральный интервал, который доступен для изучения, определяется используемым светоделителем. Чтобы охватить всю ИК область, необходимо несколько сменных светоделителей, которые выполнены в виде металлических сеток, пленок или диэлектрических покрытий на подложках.

Фурье-спектроскопия имеет ряд существенных достоинств. Два главных преимущества интерферометров перед обычными спектрометрами заключаются в следующем. Во-первых, это выигрыш в энергии за счет того, что при сканировании в каждый момент времени на приемник попадает излучение всего исследуемого спектрального диапазона длин волн, а не узкий его участок, определяемый в монохроматоре обычного прибора диспергирующей системой и щелями. Иными словами, в интерферометре в течение всего времени сканирования получается информация одновременно обо всем исследуемом спектральном диапазоне, а в обычном спектрометре в разные моменты времени получается информация только об узких спектральных полосах исследуемого диапазона. Данное преимущество интерферометров особенно важно в длинноволновой области, где интенсивность излучения источника мала и отношение сигнала к шуму является лимитирующим фактором. Во-вторых, большой выигрыш дает повышения разрешающей силы интерферометра возможность без уменьшения потока лучистой энергии. Разрешающая способность Фурьеспектрометра пропорциональна максимальной разности хода пучков, и чтобы повысить, например, вдвое разрешение спектра, нужно просто длину перемещения а соответственно, и время удвоить зеркала, регистрации.

В интерферометрах проще, чем в дифракционных спектрометрах, осуществляется фильтрация излучения нужного спектрального диапазона, т. е. значительно упрощается проблема устранения паразитного, или рассеянного света.

Указанные преимущества обеспечивают такие достоинства Фурьеспектроскопии, как: очень высокая чувствительность и точность измерений интенсивности, особенно при многократном сканировании и накоплении сигнала; очень высокое разрешение (до 10^{-2} см⁻¹) и высокая точность определения волновых чисел; быстродействие, т. е. возможность быстрого исследования широкой спектральной области (время сканирования для интервала в несколько сотен см⁻¹ составляет < 1 с).

Источники ИК излучения

В качестве *источников непрерывного ИК излучения* используются обычно силитовый стержень— *«глобар»* (штифт из карбида кремния) или *штифт Нернста* (из оксидов редкоземельных элементов). Кривая интенсивности излучения этих источников, нагреваемых током до высоких температур, имеет вид кривой излучения абсолютно черного тела. Так, например, у глобара при температуре ~ 1300 °C максимум интенсивности излучения приходится на область ~ 5000 см⁻¹ (~ 2 мкм), а в области ~ 600 см⁻¹ (16,7 мкм) интенсивность падает примерно в 600 раз.



Рисунок 2.1 - Основные компоненты Фурье-ИК спектрометра Tensor 37: А – детектор, В - QuickLock механизм для приставок, С – картридж с осушителем, D- лазер, Е – индикатор влажности картриджа с осушителем, F – ящик для хранения светоделителя, G – источник инфракрасного излучения (положение хранения), Н – источник инфракрасного излучения (рабочее положение), I – держатель образца, J светоделитель, К – картридж с осушителем

Приемники ИК излучения

В качестве приемников излучения в спектрометрах для средней ИК области используются чувствительные термопары («термостолбики») или болометры, построенные по принципу термометров сопротивления.

К тепловым приемникам относится также пневматический или оптико-акустический приемник (ячейка Голея), в котором под действием излучения происходит тепловое расширение газа. Газ помещается в зачерненной камере с гибкой стенкой, имеющей зеркальное внешнее покрытие. Движение отраженного зеркалом светового луча регистрируется фотоэлементом. Этот приемник изготовляется обычно для длинноволновой ИК области, где используется также другая группа приемников - квантовые или фотонные.

Фурье-ИК спектрометр Tensor 37 Bruker является универсальным инструментом исследовательского класса, способным измерять в средней и ближней ИК области спектра. Прибор в основном сконфигурирован для нормальных "самостоятельных" измерений, но может быть также парофазного анализа использован ДЛЯ компонентов с помощью прилагаемой системы TGA-IRNetzsch.

Образцы и кюветы сравнения помещают последовательно в кюветный отсека по мере необходимости. Вы можете использовать различные держатели образцов, находящихся в лаборатории, если они подходят для измерения.



Рисунок 2.2 - Основные компоненты Фурье-ИК спектрометра Tensor 37: А – детектор, В – QuickLock механизм для приставок, С - лазер, D - источник излучения, Е – колесо апертуры , F - фильтр, G – держатель образца , Н - интерферометр, I – картридж с осушителем

Фурье-ИК спектрометр использует "однолучевые" измерения в любом режиме измерения (пропускание или отражение) для получения спектров пропускания или отражения. Самое простое измерение требует только две однолучевых кривые, одну для сравнения (фон) и одну для образца. В этом случае окончательный спектр пропускания будет просто отношением (деление) файла образца к фоновому файлу. Так как абсорбция (поглощение) - это отрицательный логарифм пропускания, спектры, изначально рассматриваемые как Tr, можно преобразовать к виду Ab (и наоборот) без необходимости повторной записи и фона.



Рисунок 2.3 - Кюветный отсек ИК спектрометра

Измерительные техники

При взаимодействии с образцом падающий свет с интенсивностью I_0 может частично отражаться на оптических границах раздела (I_R), он может рассеиваться (I_S) и поглощаться в образце (I_A), оставшаяся часть будет пропускаться (I_T), см. рис. 2.4.

Согласно закону сохранения энергии, баланс энергии падающего света можно записать как

$$I_0 = I_A + I_T + I_R + I_S. \tag{9}$$

Интенсивность света I_0 , I_T , I_R и I_s можно легко измерить, поместив детектор в соответствующее положение. Вся химическая информация об образце передается в I_A , но это значение нельзя измерить напрямую. Доступ к I_A можно получить, только оценив уравнение (9). Во всех коммерческих спектрометрах только один детектор используется для измерения определенной пары значений интенсивности (I_0 и I_T , I_R или I_S , см. Таблицу 2.1). Цель подготовки образца - довести остаточную интенсивность до нуля (или, по крайней мере, очень близко к нему). Пренебрежение этими основными соображениями приведет к ошибкам измерения, которые невозможно устранить последующей обработкой цифровых данных.



Рисунок 2.4 - Энергетический баланс падающего света при взаимодействии с образцом [2]

Измеренные	Цель подготовки образца	Оценка	Экспериментальная техника		
I_0, I_T	$I_R = I_S = 0$	$I_A = I_0 - I_T$	Измерение пропускания		
I_0, I_R	$I_T = I_S = 0$	$I_A = I_0 - I_R$	Измерение отражения		
L. L.	I = I = 0		Измерения диффузного		
$1_0, 1_S$	$I_{\rm T} \equiv I_{\rm R} \equiv 0$	$I_{\rm A} = I_0 - I_{\rm S}$	отражения		

Таблица 2.1 - Измеряемый вклад излучения.

Измерение пропускания

Спектроскопия пропускания - наиболее широко используемый метод измерения. Он прост и может применяться для определения характеристик газов, жидкостей и твердых тел. Количественные оценки основаны на законе Бера-Ламберта. Типичные ячейки для проб для газов и жидкостей показаны на рисунке 2.5. В данных измерительных ячейках используются прозрачные полированные окна на пути излучения, в то время как другие стенки ячейки могут быть непрозрачными. Полированные окна нельзя трогать или даже царапать. Чтобы минимизировать отражение, требуется нормальное падение падающего света.



Рисунок 2.5 - Ячейки для измерения пропускания: (а) жидкостная ячейка УФ, (б) проточная ячейка для газов и жидкостей; (с) съемная жидкостная ИК ячейка [2]

Диапазон использования той или иной ячейки зависит от материала окна. Наиболее распространенные материалы для оптических окон или оптических волокон приведены в Таблице 2.2. Показатель преломления материала окна должен быть очень близок к показателю преломления образца, чтобы избежать отражения или рассеяния.

Материал	Диапазон пропускания, мкм	Показатель преломления (~20 °C)	Использовани е	Растворимость
Оптическое стекло (SiO ₂) Кварц	0.2-2.2	1.6 ~ 0.2 мкм 1.5 ~ 2 мкм	окна, волокна	высокая устойчивость к кислотам (кроме плавиковой кислоты)
Плавленый кремнезем	0.2-2.5	1.55 ~ 0.2 мкм 1.44 ~2 мкм		
Сапфир (моно- кристалл Al ₂ O ₃)	0.2-4.5	1.73 ~vis, 1.65 ~4мкм	волокна, НПВО кристалл	высокая стойкость к кислотам и щелочам при температуре до 1000 °С очень твердый
KBr	0.25-25	1.5	Окна, гранулы	растворим в воде (53 г / 100 мл H ₂ O) и спирте
KRS-5 (TlBr/TlI)	0.3-40	2.4	окна	мало растворим в воде (0,02 г / 100 мл H ₂ O), уязвим для органических растворителей, токсичен
CsI	0.3-60		окна	растворим в воде (44 г / 100 мл H ₂ O) и спирте
NaCl	0.3-16	1.55	окна	растворим в воде (36 г / 100 мл H ₂ O), мало растворим в спирте
CaF ₂	0.2-10	1.4	окна	растворим в растворах солей аммония
Кремний (Si)	1.5-10	3.5 ~1.5мм 3.4 ~ 10 мм	НПВО кристалл	твердый
Германий (Ge)	2.0-15	4.1 ~2мм 3.9 ~15мм	НПВО кристалл	растворим в смесях HCl и HNO ₃ и H ₂ O ₂
Селенид цинка (ZnSe, Irtran- 4)	0.6-15	2.5 ~0.6мм 2.3 ~15мм	НПВО кристалл, окна	растворим в кислотах, растворимость в воде при 296 К: 0,001 г / 100 мл H ₂ O

Таблица 2.2 - Материал окна или волокна для оптической спектроскопии

Продолжение таблицы 2.2

сульфид цинка (ZnS, Irtran-2)	0.5-18	2.3 ~0,5мм 2,0 ~18мм	НПВО кристалл, окна	растворим в кислотах, мало растворим в воде
Селенид цинка (ZnSe, Irtran- 4)	0.6-15	2.5 ~0.6мм 2.3 ~15мм	НПВО кристалл, окна	растворим в кислотах, растворимость в воде при 296 К: 0,001 г / 100 мл H ₂ O
сульфид цинка (ZnS, Irtran-2)	0.5-18	2.3 ~0,5мм 2,0 ~18мм	НПВО кристалл, окна	растворим в кислотах, мало растворим в воде
$\begin{array}{c} \text{AMTIR-1} \\ (\text{Ge}_{33}\text{As}_{12}\text{Se}_{55}) \end{array}$	1-14	2.5 -2.6	НПВО кристалл, окна	высокая однородность, не растворяется в воде
полиэтилен	до 1000	1.5	окна	не растворяется в воде, органических растворителях и кислотах, используется в дальней инфракрасной области
Галогениды серебра	1-15	1,6	Волокно, окна	растворим в NH3, чувствителен к УФ и видимому свету
Халькогениды (As ₂ S ₃ , As ₄₀ Se ₃₅ S ₂₅)	0.8-10	1,56	волокна	чувствителен к воде
Алмаз(С)	0.2-20	2.4	НПВО кристалл, окна	чрезвычайно твердая, высокая стойкость к кислотам и щелочам при температуре до 120С

Измерение отражения

Измерения отражения на оптически плоских интерфейсах могут выполняться в двух основных конфигурациях: внешнее и внутреннее отражение. В случае внешнего отражения (также называемого зеркальным отражением) свет распространяется в оптически менее плотной среде (например, в воздухе), тогда как в случае внутреннего отражения (обычно применяемого как нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО)) свет распространяется в оптически плотной среде (рис. 2.6).



Рисунок 2.6 - Измерение внешнего отражения, отражения, поглощения и внутреннего отражения. Отражение и пропускание света на плоской оптической границе с *n*₂/*n*₁ (α - угол падения; β - угол преломления). Параллельно поляризованный свет имеет электрический вектор, параллельный плоскости фигуры [2]

Внешнее отражение

Распределение интенсивности между отраженным и проходящим светом на плоских оптических границах раздела основано на теории Максвелла и уравнениях Френеля. Коэффициент отражения R связывает интенсивность I_R отраженного света с интенсивностью I_0 падающего света:

$$R = |r|^2 = \frac{I_R}{I_0},\tag{10}$$

где r обозначает амплитудный коэффициент. Измеренная отражательная способность R зависит от поляризации, амплитудные коэффициенты для параллельной поляризации r_{\parallel} и перпендикулярной поляризации r_{\perp} равны

$$r_{\parallel} = \frac{n_2 \cos \alpha - n_1 \cos \beta}{n_2 \cos \beta + n_1 \cos \alpha'},$$

$$r_{\perp} = \frac{n_1 \cos \alpha - n_2 \cos \beta}{n_2 \cos \beta + n_1 \cos \alpha}.$$
(11)

Под углом Брюстера или углом поляризации $a_{\rm B}$ параллельный поляризованный свет не отражается ($r_{\parallel} = 0$). За пределами критического угла $a_{\rm C}$ падающий свет полностью отражается на границе раздела:

$$a_C = \arcsin\left(\frac{n_1}{n_2}\right). \tag{12}$$

Чтобы вычислить интенсивность пропускания T = (1-R) поверхности таким же образом, как в формуле (10), необходимо учитывать интенсивность в различных средах:

$$I_T = (1 - R)I_0. (13)$$

В обычном случае поглощающих сред показатель преломления *n* должен быть заменен его сложной формой:

$$n^* = n(1 - i\kappa), \tag{14}$$

где *k* обозначает показатель поглощения, который связан с коэффициентом поглощения *a* [см⁻¹] и десятичной молярной поглощающей способностью є $[\pi \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}]$ в законе Бера-Ламберта A = єсd:

$$a = \frac{4\pi\kappa}{\lambda} = \frac{\epsilon c}{\ln 10}.$$
(15)

В области поглощения действительная часть *n* комплексного показателя преломления *n*^{*} демонстрирует аномалию, как схематично показано на рис. 2.7.





преломления в области поглощения [2]

Этот эффект особенно проявляется в инфракрасном диапазоне, поскольку более узкие полосы поглощения вызывают более сильную аномалию *n*. Как следствие, ИК спектры отражения сильно отличаются от соответствующих спектров пропускания. Соотношение Крамерса-Кронига можно использовать для анализа спектров отражения и соотнесения их с данными о пропускании.

Поглощение отражения

Измерения поглощения отражения выполняются путем помещения на отражающую анализируемого вещества подложку (рис. 2.6). Отражающая подложка может быть либо оптически плоской, либо диффузно отражающей. Падающий свет дважды проходит через аналит, и получается своего рода спектр пропускания (иногда называемый спектром трансфекции). Чем больше угол падения, тем больше эффективная длина пути в аналите. Этот метод известен под аббревиатурами IRRAS (инфракрасная спектроскопия поглощения отражения) RAIRS И (инфракрасная спектроскопия поглощения отражения). Крайний случай это так называемая техника скользящего падения, при которой площадь, освещаемая падающим лучом, максимальна (максимальное количество молекул в луче). Эксперименты по поглощению отражения на образцах с толщиной, превышающей используемую длину волны, дают значения поглощения, соответствующие увеличенной эффективной длине пути, описанной выше. В случае толщины образца порядка длины волны или даже меньше закон Бера-Ламберта больше не действует, поскольку амплитуда поля стоячей волны, возникающей при отражении, регулярно изменяется. В случае очень тонкого слоя образца его пропускание зависит не только от его оптических свойств, но и от регулярных изменений поля в окрестности отражающей поверхности. Могут возникнуть дополнительные факторы усиления, которые могут обеспечить чувствительность субмонослоя. Поскольку свет различной поляризации ведет себя по-разному при отражении, возникает очень сложная ситуация. В частности, в случае могут наблюдаться скользящего падения только поглощения С перехода, нормальными к компонентами моментов отражающей Основные области применения поверхности. это поверхностные покрытия, очень тонкие пленки и клеи на отражающих поверхностях, а также исследования молекулярной ориентации.

Нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО)

Луч, распространяющийся в оптически плотной среде с показателем преломления n_2 , подвергается полному отражению на границе раздела с оптически менее плотной средой (n_1) , когда угол падения превышает критический угол a_C (см. уравнение (13)). При полном отражении электромагнитная волна распространяется через оптический интерфейс и создает затухающее поле, которое проникает в менее плотную среду (рис. 2.6). Затухающее поле представляет собой непересекающую волну вдоль оптической поверхности, амплитуда которой может быть выражена как экспоненциальная функция вдоль оси z в разреженной среде:

$$E_{z} = E_{0}e^{-z\frac{2\pi n_{2}}{\lambda_{0}}\sqrt{\sin^{2}a - \left(\frac{n_{1}}{n_{2}}\right)^{2}}},$$
(16)

где E_z - амплитуда затухающего поля на расстоянии z, l_0 - длина вакуумной волны используемого света. Глубина проникновения z_p определяется как расстояние, на котором показатель степени равен единице:

$$z_{p} = \frac{\lambda_{0}}{2\pi n_{2} \sqrt{\sin^{2} a - \left(\frac{n_{1}}{n_{2}}\right)^{2}}}$$
(17)

Если среда 1 поглощает затухающее поле, в спектре наблюдается меньшая интенсивность (нарушенное полное внутреннее отражение (НПВО)). Спектр НПВО аналогичен обычному спектру поглощения, за исключением интенсивностей полос на более длинных волнах. На более длинных волнах затухающее поле проникает все глубже в образец, что эквивалентно увеличению толщины образца. Иногда применяется так называемая эмпирическая коррекция НПВО, чтобы компенсировать по спектру линейное увеличение длины волны в формуле (17):

$$R_{corr} \sim R \frac{1}{\lambda} \tag{18}$$

Другие различия могут возникать из-за поверхностных эффектов между образцом и оптическим кристаллом или из-за изменений поглощения образца. Для реализации данного метода могут использоваться кристаллы с однократным или многократным отражением. Измеренная отражательная способность зависит от количества отражений, а также от эффективности образцом и поверхностью между подложки. контакта Важным преимуществом метода НПВО является его применимость к мутным растворам, включая водные. Взвешенные частицы окружены тонкой жидкой пленкой (гидратирующей оболочкой). Эта оболочка также образует фазовую границу с поверхностью кристалла НПВО, так что затухающее поле не будет рассеиваться частицей. Кристаллы НПВО для УФ, видимого и ближнего ИК диапазонов обычно изготавливаются из кварцевого стекла. Сапфир используется для специальных УФ-и БИК приложений, он является одним из самых твердых из всех оптических материалов, поэтому поверхность более устойчива к царапинам. В среднем ИК диапазоне используются селенид цинка, кремний, германий и алмаз. Селенид цинка в настоящее время является самым популярным материалом для кристаллов НПВО. Его наиболее важным преимуществом является низкое поглощение на длинах волн более 10 мм, но селенид цинка царапается легче, чем германий и кремний, и он токсичен.

Диффузное отражение

Свет, падающий на оптически рассеивающие границы раздела (неоднородные образцы, такие как порошки) с шероховатостью вплоть до диапазона длин волн, может частично отражаться, частично рассеиваться диффузно и частично поглощаться подложкой. Последняя часть может поглощаться частицами, подвергаться дифракции на границах зерен, повторно выходить на поверхность образца и смешиваться с отраженными частями. Измеренная отражательная способность включает вклады всех описанных механизмов, см. Рис. 2.8.



Рисунок 2.8 - Схематическое изображение траекторий света в рассеивающем образце [2]

Для количественной оценки спектров диффузного отражения требуются «толстые» образцы, практически не пропускающие излучение $(I_{\rm T}=0)$. Коэффициент отражения $R_{\rm T}$ такого образца (в ИК диапазоне его толщина обычно не превышает нескольких миллиметров) составляет

$$R_{\infty} = \frac{R_{\infty[sample]}}{R_{\infty[reference]}}.$$
(19)

 R_{∞} преобразуется эмпирическим соотношением Кубелки-Мунка в коэффициент пропорциональности поглощения $f(R_{\infty})$:

$$f(R_{\infty}) = \frac{1 - R_{\infty}}{2R_{\infty}} = \frac{k}{s'},\tag{20}$$

где k описывает поглощающие свойства, а s - рассеивающие свойства. Параметры k и s зависят от размера частиц и плотности упаковки. Предполагается, что s не зависит от длины волны и образец слабо поглощает. Первое предположение должно быть обеспечено правильной подготовкой образца, второе - разбавлением сильных поглотителей непоглощающим порошком подложки. В случае $R_{\infty} < 0,01$ преобразование часто выполняется более простой функцией -log R_{∞} или просто $1/R_{\infty}$. Такие небольшие значения R_{∞} обычно встречаются в ближней инфракрасной области.

Измерение спектров диффузного отражения в УФ/видимом диапазоне имеет гораздо более давнюю традицию, чем в ИК, потому что (i) рассеяние намного эффективнее на более коротких длинах волн и (ii) в среднем ИК диапазоне отсутствует идеальная непоглощающая рассеивающая подложка.

Пробоподготовка

Качество инфракрасного спектра в значительной степени зависит от подготовки образца. Есть много возможных способов подготовить образец. Этот выбор необходимо сделать на основе характера образца и задачи исследования, которая решается путем получения инфракрасных спектров.



Рисунок 2.9 - Различные держатели образцов

Солевые окна и ИК карты

Один из самых простых способов приготовления образцов является растворение твердого образца в растворителе (кроме воды или ДМСО!). Две капли капают на соляную пластину из КВг. При испарении растворителя на соляной пластине образуется тонкая пленка исследуемого образца. Если образец является вязкой жидкостью или пастой, его можно намазать на пластину и зажать сверху второй пластиной, образовав таким образом тонкий равномерный слой исследуемого образца.

ИК карты состоят из тонкого пластика, установленного в картонной или металлической раме. В качестве пластика, как правило, используют тефлон или полиэтилен. Каплю раствора (или жидкости) помещают непосредственно на пластик. Недостатком такого способа записи спектра является наличие собственных полос поглощения полимеров (колебания CH_2 и CF_2 групп), что создает спектральную мертвую зону в этих областях.



Рисунок 2.10 - ИК карты и солевые окна

Таблетки KBr

Прессование таблеток с галогенидами щелочных металлов - основной и наиболее универсальный способ пробоподготовки. Он заключается в тщательном перемешивании в агатовой ступке тонкоизмельченного образца с порошком KBr (смесь 1% образца и 99% KBr) и последующем прессовании смеси в пресс-форме (рис. 2.11), в результате чего получается прозрачная или полупрозрачная таблетка. Для получения качественных спектров степень диспергирования вещества должна достигать размера частиц 2-7 мкм (сопоставимо с длиной волны ИК излучения). Наилучшие результаты получаются при вакуумировании пресс-формы, что позволяет избавиться от включений воздуха в таблетки. Для таблеток можно использовать бромид калия для спектроскопии или квалификации не ниже химически чистого, но предварительно высушенный от воды. Сушку бромида калия следует проводить при t ~= 150 °C в течение не менее 12 ч и хранить его в эксикаторе с осушителем. Проводить такую тщательную подготовку необходимо, так как в противном случае получаемый спектр будет иметь широкие полосы адсорбированной воды в областях 3450 и 1630 см⁻¹.



Рисунок 2.11 - Агатовая ступка, пресс-форма и ручной пресс для изготовления таблеток из бромида калия

Жидкостные и газовые кюветы

Анализ веществ проводится соответственно в жидкостных и газовых кюветах, имеющих два окошка из оптического материала, которые помещаются на пути луча спектрометра и между которыми находится исследуемое вещество.

Жидкостные кюветы входят в комплект ИК Фурье спектрометра и представляют собой разборные кюветы с переменной толщиной поглощающего слоя. В таких кюветах можно исследовать летучие и нелетучие жидкости, а также растворы веществ.

Данный способ пробоподготовки отличается высокой воспроизводимостью спектров. В случае исследования растворов твердых веществ устраняются явления полиморфизма, которые могут оказывать серьезное влияние на спектр. При использовании кюветы с известной толщиной поглощающего слоя можно выполнять полуколичественный и количественный анализ. При проведении количественных исследований необходимо стандартизовать условия анализа и выбрать такую полосу поглощения в спектре пробы, для которой выполнялась бы линейная зависимость оптической плотности от концентрации вещества.

Исследование растворов веществ связано прежде всего с выбором подходящего растворителя, который должен быть химически инертен по отношению к пробе и не поглощать в исследуемой области спектра, а также не содержать влаги (особенно, если используются растворимые в воде оптические материалы - KBr или NaCl). При проведении идентификации веществ поглощение растворителя можно компенсировать либо с помощью кюветы сравнения, либо при вычитании из спектра раствора спектра растворителя, что позволяет выполнить программное обеспечение любого ИК Фурье спектрометра.

Техника пробоподготовки и измерение спектров НПВО

Техника нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) позволяет исключить необходимость использования кювет и окон КВr при спектроскопии жидких и твердых образцов. НПВО хорошо работает на образцах, недостаточно прозрачных для снятия спектров пропускания (толстые образцы или сильно поглощающие материалы). По спектру НПВО можно судить о состоянии поверхности образца, а также проводить как качественный, так и количественный анализы.

Подготовка проб и измерение

Согласно закону Бера-Ламберта, решающее значение имеют плотность аналита (или его концентрация в случае смесей или растворов) и длина пути ИК излучения в образце. Эти параметры должны быть выбраны таким образом, чтобы получить хорошие измеряемые оптические сигналы в современных спектрометрах между 20 и 60% T для максимумов полосы. Чтобы минимизировать фон в спектре, следует обращать внимание на однородность образца, уровень примесей и абсорбцию в растворителе. Качество полученных спектральных данных во многом зависит от выбранной техники отбора проб. Краткое изложение общих методов отбора проб представлено на рисунке 2.12.



Рисунок 2.12 - Обзор распространенных методов ИК анализа

Основные функции программного обеспечения OPUS

Начало измерения

-Программное обеспечение ИК Фурье спектрометра фирмы Bruker называется "OPUS". Дважды щелкните значок OPUS, расположенный на рабочем столе. Это вызовет окно OPUS Login.

OPUS Login		
User ID:	Administrator	ADMINISTRATOR
Password:	••••	
Assigned workspaces:	C:\0PUS_7.2.139.1294\MIB_Rout	ine.ows
Login	Exit fro	om OPUS

Пароля для входа не требуется.

В открытой программе OPUS будет отображаться панель инструментов.



Рутинные измерения в среднем ИК диапазоне и обработка могут быть выполнены, используя иконки на панели инструментов. Функция каждого значка может отображается при наведении курсора на кнопку.

Получение данных

Используйте кнопку <Measure> Для получения новых данных. При этом откроется окно Измерения с несколькими вкладками. Нужно работать только с вкладки Основные, но вы можете также изменить некоторые элементы на вкладке Дополнительно. *Не изменять никакие* элементы на любой из остальных шести вкладок!

N	leasureme	ent										×
Γ	E Basic	Advanced	Optic Acquis	ion FT	Display	Background	Check Signal					
		Experi	ment: Load	MIR_T	R.XPM							
	Operator name: Administrator											
	Sample description: sxw-											
	Sample form: Instrument type and / or accessory Auto											
	Path: C:\OPUS_7.2.139.1294\MEAS											
		File r	name: sxw-1218	14								

При смене приставок для записи спектров необходимо загрузить соответствующий шаблон (набор параметров записи спектра). Для этого нажмите на кнопку *Load* и выберите необходимый шаблон (MIR_TR.xpm или MIR_ATR.xpm), затем нажмите <u>Open</u>.

🔿 Select Measure	ment Parameters: C:\OPUS_7.2.139.1294\XPM*.*		
Look in:	🕌 XPM 👻	G 🤌 📂 🛄 -	
(Ha	Name	Date modified	Туре
	MIR_TR.XPM	1/5/2013 11:36 AM	XPM File
Recent Places	TGA.XPM	8/4/2014 2:55 PM	XPM File
	TGA1.XPM	10/24/2014 3:21 PM	XPM File

- На вкладке <Basic> в строке Sample description задайте имя образца. В строке Operator name впишите свое имя.
- На вкладке <Advanced> повторите имя файла и задайте путь сохранения спектров Meas/ATR/StudentsLab. На данной вкладке также есть возможность выбора режима записи спектров (Transmittance, Absorbance, ATRspectra), диапазон записи спектра, количество сканов.
- Для получения данных в меню "Измерение» на вкладке «Basic" после размещения эталонного образца в кюветном отсеке, нажмите Background Single Channel для получения эталонного файла (фона). прогресс Процесс записи отображается на панели задач.
- Затем поместите образец в кюветный отсек и используйте кнопку Sample Single Channel для записи спектра образец. После того как файл будет получен, спектр отображается в окне спектра и окне обзора дисплея.

Обработка данных

После завершения записи спектра, он должен отображаться в окнах Spectrum и Обзор. Вы также можете получить ранее полученные данные, хранящиеся на жестком диске с помощью кнопки <Load>.

1. Настройка дисплея

Пределы спектрального дисплея могут быть скорректированы либо из окна Обзор или окна Spectrum. В окне Обзор используйте левую кнопку мыши для увеличения X или Y направления, захватывая края дисплея.



Четыре кнопки на панели инструментов могут использоваться для перемещения между различными функциями дисплея:

	⊷ ‡⊷	L	 1	Ŧ
_				

Показать весь диапазон, расширить по ординате, расположить спектры стопкой и увеличить.

2. Коррекция базовой линии

Наклонная базовая линия спектра, как правило, вызвана плохой подготовкой образца. Базовая линия должна быть скорректирована, прежде чем пытаться расставить пики (положение полос поглощения). Нажмите на , чтобы войти в меню BaselineCorrection. На вкладке Выбор файлов, выберите нужный файл. Если отображается неправильный файл, его можно удалить и с помощью мыши перетащить нужный спектр из панели браузера.

На вкладке Выбор метода убедитесь, что выбрана коррекция "Scattering" с использованием 64 базовых точек. Нажмите <Correct>, чтобы выполнить коррекцию. Вы можете также использовать "Интерактивный режим". Обратитесь за помощью для обсуждения интерактивного режима.

Baseline Correction				
Select Files Select Method				
- File(s) to Correct	-			
AAAa "C:\OPUS\DATA\Hexan1a.0" 1				
		25	ET-IR Tutorial	
Start interactive mode	1			
Start interactive mode			Help Topics	
Start interactive mode			Help Topics Online Docs	

3. Расстановка пиков (PeakPicking)

Дважды щелкните на чтобы расставить пики автоматически и обозначить существенные пики в отображаемом спектре. Чтобы изменить используемые параметры, одним кликом щелкните по иконке, чтобы войти в окно PeakPicking. Чтобы найти большее количество пиков, смените порог чувствительности на меньший.



4. Сохранение данных

Все данные мгновенно сохраняются в каталог C: \ Opus_7.2.139.1294 \ Meas\ATR\StudentsLab с заданным вами именем. Если вы измените файл (коррекция базовой линии, поиск пиков, и т.д.) вам будет предложен выбор при выходе из OPUS сохранить или отменить изменения. Если вы хотите сохранить измененные файлы или сохранять файлы в формате не OPUS для

обработки в другом месте, используйте значок "Сохранить как" измените путь, расширение и переименуйте их, например, polyAAc_baseline.0.
Save File As		- ×	Save File As		×
Select File Mode	Data Point Table / XML		Select File Mode Data	a Point Table / XML	
File to save (Data point table)			Output		
			 Opus format Data point table 	JCAMP DX Galactic	XML MATLAB 4
Save as			Pirouette .dat	© ENVI	MATLAB 5
File name:	sxw-121714.0.dpt		Options		
rout.	C. \0F03_7.2.133.1234 \Weas		Save all	Move	
Change P	Path Overwrite		Remove all copies		

3. Лабораторные и практические работы

3.1 Применение ИК спектроскопии к анализу молекул

3.1.1 Определение равновесного межъядерного расстояния в молекуле двухатомного газа

Цель работы: ознакомление с методикой расчета структурных молекулярных характеристик вещества (двухатомного газа) по его колебательно-вращательному спектру.

Приборы и реактивы:

1. ИК спектрометр Tensor 37

2. Газовая кювета или колба, заполненная двухатомным газом (HCl или CO)

Краткая теория

Молекулы могут иметь три режима движения: колебание, вращение и переход. Колебательное и вращательное движение молекул имеет важное значение при изучении инфракрасной спектроскопии, которая измеряет поглощение света молекулой. Поглощение инфракрасного света происходит только тогда, когда частота волны равна частоте колебаний молекулы. Двухатомные молекулы имеют только одну колебательную моду, описанную гармоническим осциллятором,

$$E(v) = hv\left(v + \frac{1}{2}\right),\tag{1}$$

где E - энергия, v - квантовое число колебаний, v - частота, а h - постоянная Планка. Вращение атомов важно в инфракрасном исследовании молекул, потому что изменения в вращательном состоянии влияют на тонкую

структуру колебаний молекул. Вращение двухатомной молекулы в ее простейшей форме описывается жестким ротором,

$$E(J) = \frac{h^2}{8\pi^2 I} J(J+1),$$
(2)

где J - квантовое число вращения, I - момент инерции, а h - постоянная Планка.

Молекулы подвергаются вибрации и вращению одновременно, так что уравнения (1) и (2) объединены, чтобы описать движение молекулы, также учитывая ангармоничность и взаимодействие вибрации и вращения,

$$E(\nu,J) = \tilde{\nu}_e \left(\nu + \frac{1}{2}\right) - \tilde{\nu}_e \tilde{x}_e \left(\nu + \frac{1}{2}\right)^2 + B_e J(J+1) - D_e J(J+1)^2 - \alpha_e \left(\nu + \frac{1}{2}\right) J(J+1),$$
(3)

где $\tilde{v}_e \tilde{x}_e$ - ангармоническая частотная коррекция колебаний, B_e - постоянная вращения, D_e учитывает центробежное растяжение, а α_e - поправка ангармонизма к вращению. Молекулы квантованы так, что и *J*, и *v* являются целыми числами (± 0, 1, 2...). При комнатной температуре обычно населяется только основное состояние v = 0 и $\Delta v = +1$ при возбуждении. Вращательные состояния имеют меньшие энергетические различия, чем колебательные состояния, поэтому $\Delta J = \pm 1, 2, 3 \dots$



Рисунок 3.1 - Возможные колебательные и вращательные переходы

Полосы поглощения изменяют местоположение и интенсивность из-за колебательно-вращательного взаимодействия. Спектр можно разделить на

три диапазона: *P*, *Q* и *R*. Ветвь *R* представляет совокупную энергию колебательных и вращательных переходов, а ветвь *P* - разницу,

$$\Delta J = +1 \quad \tilde{\nu}_R = \tilde{\nu}_0 + (2B_e + 3\alpha_e) + (2B_e - 4\alpha_e)J'' - \alpha_e J''^2 \tag{4}$$

$$\Delta J = -1 \quad \tilde{\nu}_P = \tilde{\nu}_0 - (2B_e - 2\alpha_e)J^{\prime\prime} - \alpha_e J^{\prime\prime 2} \tag{5}$$

Ветвь Q обычно не наблюдается, потому что она представляет чисто колебательную моду, где вращение составляет $\Delta J = 0$ в возбужденном состоянии. Объединение формул (4) и (5),

$$\tilde{\nu}(m) = \tilde{\nu}_0 + (2B_e - 2\alpha_e)m - \alpha_e m^2 - 4D_e m^3,$$
 (6)

приводит к возможности использовать инфракрасный спектр для расчета констант \tilde{v}_0 , B_e , α_e , и D_e двухатомной молекулы. Момент инерции I_e , межъядерное расстояние, r_e , постоянная силы, k, ангармоничность, $v_e x_e$ и равновесная частота v_e , можно затем определить, предполагая, что молекула ведет себя как гармонический осциллятор и жесткий ротор.

Колебание и вращение зависят от связывающих молекул. Изотопное замещение изменяет приведенную массу μ , что влияет на постоянную вращения, B_e и частоту колебаний, $\tilde{\nu}$

$$B_e = \frac{h}{8\pi^2 I_e c'},\tag{7}$$

$$I = \mu r^2, \tag{8}$$

$$\tilde{v} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}.$$
(9)

Изменение μ приводит к различному спектру для каждого изотопомера. На константу силы k и длину равновесной связи r_e не влияют, поскольку они зависят от характера химической связи.

Порядок выполнения работы:

Записать колебательно-вращательный спектр поглощения (пропускания) газа. Обозначить на спектрограмме *P*-и *R*-ветви. Определить по шкале волновых чисел волновые числа линий, соответствующие переходам $0 \leftarrow 1$ и $j' \leftarrow j''$. Определить среднюю разность волновых чисел соседних линий Δv в *P*-ветви.

j	V	Δv
1	v_l	$v_1 - v_2$
2	v_2	$v_2 - v_3$
3	v_3	V3- V4
4	\mathcal{V}_4	
5		4
		ΔV_{cp}

Рассчитать вращательную постоянную *B* по уравнению (1), момент инерции *I* и межъядерное расстояние r_e^2 по уравнению (2):

$$\Delta v_{cp} = 2B' = h/4\pi^2 Ic,\tag{8}$$

$$I = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} r_e^2 = \mu r_e^2, \qquad (9)$$

где h - постоянная Планка, μ - приведенная масса молекулы, c - скорость света. Приведенная масса молекулы может быть рассчитанапо атомным массам A_1 и A_2 :

$$\mu = \frac{A_1 A_2}{A_1 + A_2} \cdot \frac{m_c}{12},\tag{10}$$

где m_c - масса атома углерода, $m_c/12 = 1,66*10^{-27}$ кг.

Контрольные вопросы

1) Сколько степеней свободы имеет двухатомная молекула?

2) Что такое Р и R ветви колебательно-враательного спектра?

3.1.2 Определение волнового числа основной полосы поглощения двухатомной молекулы газа

Цель работы: ознакомление с методикой расчета структурных молекулярных характеристик вещества (двухатомного газа) по его колебательно-вращательному спектру.

Приборы и реактивы:

1. ИК спектрометр Tensor 37

2. Газовая кювета или колба, заполненная двухатомным газом (HCl или CO)

Порядок выполнения работы:

Записать колебательно-вращательный спектр поглощения (пропускания) газа. Обозначить на спектрограмме *P*- и *R*-ветви. В колебательно-вращательном спектре отсутствует полоса, соответствующая $\Delta j=0$. Однако по волновым числам линий вращательной структуры колебательно-вращательного спектра можно определить значение $\omega_{e^*}(1-2x_e)$. Определить значения волновых чисел в *P*- и *R*-ветвях и взять среднее арифметическое значение. По формулам (1) и (2) рассчитать $\omega_{e^*}(1-2x_e)$. Результаты записать в таблицу по образцу:

<i>j</i> "	\tilde{v}_{R} , CM^{-l}	\mathcal{V}_{P} , \mathcal{CM}^{-l}	$\Delta \tilde{\mathcal{V}}_{P}$	$\omega(1-2x_e)_p$	$\omega(1-2x_e)_R$

Формулы:

$$\tilde{\nu}_R = \omega_e (1 - 2x_e) + 2B(j'' + 1), \tag{1}$$

$$\tilde{\nu}_P = \omega_e (1 - 2x_e) + 2Bj'',\tag{2}$$

j" – уровень вращательной энергии исходного состояния,

j'- уровень вращательной энергии точечного состояния.

Примечание: для расчета вращательной постоянной В в формулах (3) и (2) воспользоваться формулой (1) в работе №1.

$$\Delta v = 2B' = h/4\pi 2Ic, \tag{3}$$

где *h* - постоянная Планка, *c* - скорость света. Приведенная масса молекулы может быть рассчитана по атомным массам газа A₁ и A₂:

$$\mu = \frac{A_1 A_2}{A_1 + A_2} \cdot \frac{m_c}{12}.$$
 (4)

Из трех-четырех значений $\omega_e(1-2x_e)$ взять среднее арифметическое и вычислить относительную и абсолютную погрешности.

Контрольные вопросы

- 1) Что такое *Q* ветвь колебательно-вращательного спектра?
- 2) Почему волновое число основной полосы рассчитывается, а не определяется по спектру?

3.1.3 Идентификация органических соединений методом ИК спектроскопии

Цель работы: ознакомление с методикой идентификации строения органических веществ по их ИК спектру.

Приборы и реактивы:

-Фурье-ИК спектрометр Tensor 37 фирмы Bruker;

- набор веществ для идентификации.

Задачи

- 1. Изучить различные функциональные группы, встречающиеся в органической химии.
- 2. Узнать о важной роли инфракрасной спектроскопии в исследовании структуры органических соединений.
- 3. Развивать навыки распознавания характерных полос поглощения.
- 4 Идентифицировать соединение путем исследования его инфракрасного спектра.

Краткая теория

В органической химии часто используют инфракрасную (ИК) функциональных групп, спектроскопию идентификации для присутствующих в молекуле. Каждый из классов органических соединений отличается наличием характерной функциональной группы в молекуле. гидроксильную группу Например, спирты содержат O-H. все sp³-гибридизованному присоединенную к атому углерода. Алкены содержат углерод-углеродную двойную связь (С = С), а кетоны содержат углерод-кислородную двойную связь (карбонильная группа C = O).

Фактически ИК спектроскопию можно рассматривать как детектор функциональных групп органических соединений. Т.е. самый быстрый и простой способ определить наличие одной из этих функциональных групп это записать ИК спектр соединения. Техника проста и часто может дать окончательный ответ менее чем за одну минуту.

При интерпретации ИК спектра вы можете использовать диаграммы, подобные той, которая показана на рисунке 3.2, чтобы выбрать полосы поглощения, соответствующие различным функциональным группам в молекуле. Кроме того, отсутствие ИК поглощения в определенной области дает вам важную информацию, указывающую на отсутствие определенных функциональных групп.



Рисунок 3.2 - Некоторые общие ИК диапазоны

Некоторые важные поглощения для различных классов органических соединений представлены ниже [3-8].

1) Валентные колебания гидроксильной группы О-Н и аминовой группы N-H

Структрная единица	Волновое число, см ⁻¹	Особенности
	3600-3200	
		R ₂ N-H = одна полоса
$N-H \rightarrow N$	3500-3300	поглощения
// H	5500 5500	$RNH_2 =$ две полосы
		поглощения

Полоса поглощения гидроксильной группы О-Н обычно широкая и интенсивная и находится в диапазоне от 3200 до 3600 см⁻¹. В случае карбоновой кислоты полоса поглощения О-Н обычно очень широкая и находится в диапазоне 2500-3300 см⁻¹, часто перекрывая полосы поглощения связи С-Н. Карбоновая кислота также будет иметь колебание С = О в диапазоне 1700-1735 см⁻¹.

Валентные колебания аминов N-H обычно появляются в диапазоне 3300-3500 см⁻¹ и являются гораздо более узкими и менее интенсивными, чем колебания –OH. Первичные амины имеют два атомных водорода и два участка N-H. Вторичные амины имеют только один аминный водород и демонстрируют только одну полосу поглощения N-H. Третичные амины не имеют полос поглощения в этой области, потому что атомы водорода у данного аминового азота отсутствуют. В случае амида колебания NH находятся в том же диапазоне 3300-3500 см⁻¹. Кроме того, обратите внимание на колебания амида C = O в диапазоне 1650–1700 см⁻¹.

2. Валентные колебания карбонильной группы С=О

Карбонильная область 1650-1850 см⁻¹ является одной из наиболее важных областей спектра. В приведенной выше таблице перечислены наиболее распространенные карбонилсодержащие функциональные группы и относительное расположение полосы поглощения C = O в каждой. Используйте эти области в качестве ориентира, но имейте в виду, что эти ограничения не являются строгими, и C = O для одной из этих функциональных групп может лежать за пределами указанного диапазона.

Структрная единица	Волновое число, см-1	Особенности
	1850-1650	Варьируется в зависимости от карбонильной функциональности (см. ниже)
CI	1850-1750	
RO	1750-1700	Также обратите внимание на сильное растяжение C _{sp2} —О между 1200 и 1300 см ⁻¹ .
но	1735-1700	Также обратите внимание на сильное натяжение О—Н между 2500 и 3300 см ⁻¹ .
н	1740-1720	Также обратите внимание на альдегидные С—Н участки на ~2720 и ~2820 см ⁻¹ .
>−o	1750-1680	Обычно около 1720 см ⁻¹ ; Снижается при спряжении
H ₂ N)=O	1700-1650	Также обратите внимание на растяжение N—Н между 3300 и 3500 см ⁻¹ .

Обратите внимание на особенности, перечисленные для каждой из карбонилсодержащих функциональных групп, которые могут быть использованы для подтверждения их идентичности. Например, очень трудно различить отрезок С = О альдегидов и кетонов, однако в случае альдегида также будут два отрезка С-Н альдегидов при ~ 2720 см⁻¹ и ~ 2820 см⁻¹.

Когда карбонильная группа сопряжена с двойной связью или бензольным кольцом, удлинение C = O будет уменьшено на 20-30 см⁻¹ (рисунок 3.3).



Рисунок 3.3 - Влияние сопряжения на частоту колебания карбонильной группы

3. Валентные колебания алкинов и нитрилов

Связи С≡С и С≡N могут быть трудно различимы, потому что оба они появляются около 2150 см⁻¹. Терминальные алкины можно различить по дополнительному валентному колебанию С-Н на ~ 3300 см⁻¹.

Структрная единица	Волновое число, см ⁻¹	Особенности
–¦C≡N;	2300-2200	
- <u>(C≡C</u>)-	2150	Для терминальных алкинов ищите удлинение С-Н на уровне ~ 3300 см ⁻¹ .

4. Валентные колебания алкеновых и рароматическихС=С

Валентное колебание C = C различается по интенсивности, но часто бывает довольно слабым. Обычно колебания связи C = C происходят между 1600 и 1700 см⁻¹, однако, если C=C находится в сопряжении с C=O, частота растяжения C=C будет снижена на 20-30 см⁻¹. Ароматические соединения демонстрируют несколько колебаний C = C в области 1450–1600 см⁻¹. Обычно поглощение наблюдается на ~1600, ~1500 и ~1430 см⁻¹. Иногда можно увидеть только два из этих поглощений.

Структрная единица	Волновое число, см ⁻¹	Особенности
	1700-1600	
	1600-1450	Два или три пика в этой области, как правило, на ~1600, ~1500 и <1500 см ⁻¹ .

Структрная единица	Волновое число, см ⁻¹	Особенности
–≡C-H	~3300	
), ¦С-Н¦ //	2960-2850	Полоса поглощения C_{sp3} -Н находится чуть ниже 3000 см ⁻¹ ; деформационное колебание H-C-H чуть выше 1400 см ⁻¹ ; деформационное колебание -CH ₃ чуть ниже 1400 см ⁻¹
) С-Н //	3100-3000	Полоса поглощения C_{sp2} - Н находится чуть выше 3000 см ⁻¹ .

5. Валентные и деформационные колебания С-Н

Частота колебания С-Н в большой степени зависит от гибридизации углерода, связанного с водородом. В случае концевых алкинов углерод является sp-гибридизированным, и валентное колебание С-Н находится на ~ 3300 см⁻¹. Участок С-Н для sp²-гибридизованных атомов углерода происходит с несколько меньшей частотой (3000 - 3100 см⁻¹). Наконец, полоса поглощения С-Н для sp³-гибридизированных атомов углерода находится в диапазоне 2850-2960 см⁻¹.

3000 см⁻¹ - удобный ориентир. Чуть выше 3000 см⁻¹ находятся участки C_{sp2} -H, а чуть ниже 3000 см⁻¹ - участки C_{sp3} -H. В случае насыщенных углеводородов изгибные колебания С-H могут наблюдаться в диапазоне 1375–1475 см⁻¹. Деформационные колебания метильной группы (-CH₃) наблюдается чуть ниже 1400 см⁻¹, в то время как изгибание метилена (-CH₂-) и метина (R₃C-H) наблюдается чуть выше 1400 см⁻¹.

6. Валентные колебания С-О

Структрная единица	Волновое число, см-1	Особенности
	Csp ³ —O: 1000-1100	Обычен для спиртов
	(m)	и эфиров.
	Csp ³ —O: 1200-1300	Обычен для сложных
	(8)	эфиров.

Несмотря на то, что полоса поглощения находится в области отпечатков пальцев, валентное колебание одинарной связи С-О исключительно полезно. Колебание С-О имеет интенсивность от средней до сильной и проявляется в диапазоне 1300–1000 см⁻¹. Гибридизация углерода,

связанного с кислородом, имеет большое влияние на частоту валентных колебаний С-О. Когда углерод sp³-гибридизован, например, в спиртах и простых алкиловых эфирах, С-О поглощает в диапазоне 1100–1000 см⁻¹. Однако, когда углерод sp²-гибридизован, растяжение С-О поглощает в диапазоне 1200-1300 см⁻¹.

Информация, представленная выше, была краткой и предназначена для краткого обзора ИК спектроскопии. Для получения дополнительных сведений обратитесь к учебникам, данным в конце лабораторной работы в списке литературы.

Анализ спектра

При анализе ИК спектров важно понять общее расположение поглощения основных функциональных групп [8]. Затем, столкнувшись с ИК спектром, таким как показанный ниже, вы сможете быстро изучить его и сразу выделить важные полосы поглощения, соответствующие различным функциональным группам. Эта информация позволит вам как подтвердить ожидаемую органическую структуру, так и помочь выяснить структуру неизвестной молекулы.



Рисунок 3.4 – ИК спектр метил-3-гидроксибутаноата

Порядок выполнения работы

- В данной работе используется Фурье-ИК спектрометр, оснащенный приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).
 Этот тип прибора требует небольшой пробоподготовки и может легко регистрировать ИК спектр твердых тел, жидкостей и масел.
- 2) Ознакомьтесь с инструкцией записи ИК спектров с помощью данной приставки.

- 3) Получите серию образцов для выполнения данной лабораторной работы.
- 4) С помощью пипетки поместите примерно 1 каплю образца безводной жидкости или кристаллического вещества на кристалл приставки НПВО. В случае твердого вещества зажмите образец держателем приставки.
- 5) Запишите ИК спектр исследуемого образца со следующими параметрами эксперимента: спектральный диапазон 4000-600 см⁻¹, спектральное разрешение 2 см⁻¹, количество сканирований 32.
- 6) Для полученного спектра подпишите положение полос поглощения с помощью меню Evaluate → PeackPicking. Сохраните спектр в виде картинки для отчета.
- 7) Запишите и обработайте полученные спектры остальных образцов в серии. Перед началом записи следующего образца кристалл приставки НПВО необходимо промыть ацетоном или изопропиловым спиртом.
- 8) Для каждого спектра органического соединения попробуйте назначить по крайней мере три из наиболее заметных полос в спектре. Соответствуют ли они функциональной группе, которая, по вашему мнению, присутствует в вашем образце? (Обратитесь к таблицам характеристических частот, представленным в тексте данной лабораторной работы или в предложенных учебниках.)
- 9) Подготовьте спектры исследованных соединений и представьте их описание в виде таблицы:

Соединение	Функциональные	Полосы
	группы	поглощения, см ⁻¹
•••		

Контрольные вопросы

1. Как можно использовать ИК спектроскопию, чтобы различить два изомера, указанные ниже?



1-бутин 2-бутин

2. Для каждого соединения, указанного ниже, назовите наиболее важные значения ИК поглощения, которые вы ожидаете увидеть и которые позволят их идентифицировать.



3. Для каждой группы ИК частот, перечисленных ниже, предложите присутствующую функциональную группу.

- a) 1734, 1250, 1080 см⁻¹
- б) 3400 (широкий), 1050 см⁻¹
- в) 3050, 1650 см⁻¹

4. Почему при очистке ИК кристалла между анализами важно убедиться, что очищающий растворитель полностью испарился перед анализом следующей пробы?

5. Почему в большинстве случаев нельзя однозначно установить химическую структуру вещества только на основании данных ИК спектроскопии?

3.1.4 Количественное определение лекарственных веществ в таблетке

Цель работы: ознакомиться с количественным ИК спектральным анализом на примере определения концентрации аспирина, фенацетина и кофеина в препарате «Цитрамон».

Материалы и оборудование: ИК спектрометр, жидкостная кювета с толщиной слоя 0.1 мм, лекарственный препарат «Цитрамон».

Краткая теория

Количественные измерения в ИК спектроскопии основываются на законе Бугера-Ламберта-Бера. Закон Бугера-Ламберта-Бера используется для соотнесения количества света, пропускаемого образцом, с толщиной образца. Оптическая плотность раствора прямо пропорциональна толщине и концентрации образца, а именно:

$$A = \varepsilon c l, \tag{1}$$

где A - оптическая плотность раствора, c - концентрация, l - длина пути образца. Константа пропорциональности обычно обозначается греческим символом эпсилон, ε , и называется молярной поглощающей способностью.

Поглощение равно разнице между логарифмами интенсивности света, попадающего в образец (I_0) , и интенсивности света, пропущенного (I) образцом:

$$A = \log I_0 - \log I = \log(I_0/I), \qquad (2)$$

Таким образом, абсорбция безразмерна. Коэффициент пропускания определяется следующим образом:

$$T = I/I_0, \tag{3}$$

и коэффициент пропускания в процентах - как

$$\% T = 100 \times T.$$
 (4)

Таким образом,

$$A = -\log(I/I_0) = -\log T.$$
(5)

При использовании значений коэффициента пропускания в процентах легко соотносить и понимать числа. Например, коэффициент пропускания 50% означает, что половина света проходит, а половина поглощается, тогда как коэффициент пропускания 75% означает, что три четверти света передаются и одна четверть поглощается.

Закон Бугера-Ламберта-Бера говорит нам, что график зависимости поглощения от концентрации должен быть линейным с градиентом εl и проходить через начало координат. Теоретически для анализа раствора неизвестной концентрации необходимо приготовить растворы с известной концентрацией, выбрать подходящую полосу, измерить оптическую плотность при этом волновом числе и построить калибровочный график. Концентрацию соединения в растворе можно определить по калибровочному графику, если известно его поглощение.

При таком подходе необходимо учитывать несколько факторов. Воприготовление первых, растворов известных концентраций: эти концентрации должны давать разумные значения оптической плотности - не слишком слабые и не слишком интенсивные. Существует также выбор подходящего пика поглощения: этот метод должен быть максимально чувствительным, поэтому следует выбирать интенсивный пик. Однако инфракрасные спектры имеют часто много пиков, иногда перекрывающихся. Должен быть обнаружен изолированный от других пик с высокой молярной поглощающей способностью. Еще одна проблема, которая иногда возникает, особенно в спектрах твердых образцов, - это наличие асимметричных полос. В таких случаях нельзя использовать высоту пика, потому что базовая линия будет варьироваться от образца к образцу, и вместо этого следует использовать измерения площади пика. ИК спектрометры имеют сопутствующее программное обеспечение, которое может выполнять эти расчеты. Количественные измерения необходимо проводить по спектрам поглощения. Таким образом, спектры пропускания необходимо преобразовать в спектры поглощения.

Количественный анализ компонента в растворе может быть успешно проведен при наличии подходящей полосы в спектре представляющего интерес компонента. Полоса, выбранная для анализа, должна иметь высокую молярную поглощающую способность, не перекрываться с пиками других компонентов в смеси или растворителе, быть симметричной и давать линейный калибровочный график зависимости поглощения от концентрации.

В большинстве простых количественных методов инфракрасного анализа используются интенсивности групп С = О, N–H или O–H. Полоса валентных колебаний C=O является наиболее часто используемой, поскольку это сильная полоса в спектральной области, относительно свободной от поглощения другими функциональными группами. Кроме того, карбонильная полоса не так восприимчива к химическим изменениям или водородным связям, как полосы O–H и N–H. Простой количественный анализ можно проиллюстрировать на примере смеси этилового спирта с изопропиловым спиртом.



Рисунок 3.5 – ИК спектры смесей этилового и изопропилового спирта в соотношениях: 0-100 (1), 10-90 (2), 20-80 (3), 40-60 (4), 60-40 (5), 80-20 (6), 100-0 (7)

Подходящими пиками для калибровки в этом примере являютсяполосы поглощения деформационных колебаний группы -OH, наблюдаемые при 880 и 950 см⁻¹, так как это интенсивные пики, находящиеся в области, не перекрывающейся обоими компонентами. А например, полоса поглощения 1050 см⁻¹, видимо, участвует в ассоциации с образованием водородных связей, вследствие чего смещается с 1045 до 1055 см⁻¹. Тем не менее, как видно из рисунка 3.6, наблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации во всех случаях, а значит закон Бугера-Ламберта-Бера выполняется. Следующим этапом анализа является определение количества этанола или изопропанола, присутствующего в смеси неизвестного соотношения. Регистрируют инфракрасный спектр неизвестного образца и измеряют поглощение выбранной полосы и по калибровочному графику определяют концентрацию.



Рисунок 3.6- калибровочные графики этанола в смеси этанолизопропанол для различных полос поглощения

Инфракрасную спектроскопию можно использовать для измерения количества функциональных групп в молекуле, например, количества групп –OH или –NH₂. Было обнаружено, что молярные коэффициенты поглощения полос, соответствующих группе, пропорциональны количеству присутствующих групп, то есть каждая группа имеет свою собственную интенсивность, которая не меняется резко от молекулы к молекуле. Этот подход был использован для измерения длины цепей в углеводородах с использованием деформации С – Н, метиленовой группы при 1467 и 1305 см⁻¹ и количества метильных групп в полиэтилене.

Простые твердые смеси также можно анализировать количественно. Они более подвержены ошибкам из-за рассеяния излучения. Такие анализы обычно проводят с дисками из KBr. Проблема здесь в сложности измерения длины пути. Однако при использовании внутреннего стандарта в этом измерении нет необходимости. При использовании этого подхода ко всем образцам и калибровочным стандартам добавляется постоянное известное количество внутреннего стандарта. Калибровочная кривая затем строится путем построения отношения оптической плотности аналита к оптической плотности внутреннего стандарта в зависимости от концентрации аналита. Поглощение внутреннего стандарта линейно зависит от толщины образца и, таким образом, компенсирует этот параметр. Диски должны быть приготовлены в точно таких же условиях, чтобы избежать изменений интенсивности или сдвигов в положениях полос.



Рисунок 3.7 – ИК спектры о-ксилола (1 об.%) (а), м-ксилола (2 об.%) (б), п-ксилола (2 об.%) (в) и коммерческого ксилола (5 об.%) (г) растворенных в циклогексане.Толщина слоя кюветы *l*=0.1 мм

Стандарт необходимо тщательно выбирать, и в идеале он должен обладать следующими свойствами: иметь простой спектр с очень небольшим количеством полос; быть устойчивым к нагреванию и не впитывать влагу; легко уменьшаться до размера частиц меньше падающего излучения без деформации решетки; быть нетоксичным, давать прозрачные диски за короткое время; быть легко доступным в чистом виде. Некоторые общие стандарты включают карбонат кальция, азид натрия, нафталин и тиоцианат свинца.

Особые проблемы возникают при анализе компонента сложной смеси. В настоящий момент для количественных исследований многокомпонентных составов применяют многомерные математические методы, но в данной лабораторной работе мы рассмотримпростой подход к определению концентраций ряда компонентов в смеси в качестве иллюстрации фундаментальных идей анализа смесей.

Проиллюстрируем количественный анализ многокомпонентной системы для одновременного определения смеси изомеров ксилола. Коммерческий ксилол представляет собой смесь изомеров, то есть 1,2диметилбензол (о-ксилол), 1,3-диметилбензол (м-ксилол) и 1,4диметилбензол (п-ксилол). Все спектры этих трех чистых ксилолов в растворах циклогексана (рис. 3.7, а,б,в) показывают сильные полосы в области 800–600 см⁻¹. Циклогексан имеет очень низкую абсорбцию в этой области и, следовательно, является подходящим растворителем для анализа. Инфракрасный спектр коммерческого образца ксилола представлен на рис. 3.7, г.

Концентрация трех изомеров может быть оценена в коммерческом образце. Во-первых, измеряется оптическая плотность ксилолов при 740, 770 и 800 см⁻¹ от стандартов, показанных на рисунках 3.7 а,б,в, следующим образом:

о-ксилол: 740 см⁻¹ A=0.440-0.012=0.428, *м*-ксилол: 770 см⁻¹A=(0.460-0.015)/2=0.223, *n*-ксилол: 800 см⁻¹A=(0.545-0.015)/2=0.265.

Значения для м-ксилола и п-ксилола делятся на два, так как эти растворы - в два раза более концентрированные. Значения оптической плотности также были скорректированы для ненулевого исходного уровня в регионе. Значения абсорбции пропорциональны молярной абсорбционной способности, и, следовательно, концентрации ксилолов в смеси можно оценить после измерения абсорбции. Из рисунка 3.7,*г* получаем:

740 cm⁻¹A=0.194-0.038=0.156, 770 cm⁻¹A= 0.720-0.034=0.686, 800 cm⁻¹A=0.133-0.030=0.103.

Разделив эти значения оптической плотности на стандартные значения, получим объемные % каждого изомера в смеси:

о-ксилол = 0.156/0.428=0.362 об.%, *м*-ксилол = 0.686/0.223=3.076 об.%, *n*-ксилол = 0.103/0.265=0.389 об.%.

Следует понимать, что в этих значениях есть потенциальные источники ошибок. Ошибка может возникнуть из-за того, что сложно выбрать базовую линию для анализа из-за перекрытия пиков. Кроме того, игнорировалась любая нелинейность графиков закона Бугера-Ламберта-Бера, и для каждого решения использовалось одно значение для определения константы пропорциональности, указанной выше. В качестве альтернативы та же проблема для ксилола может быть определена спектральны, вычитанием. Если имеется образец примеси, смеси исходного материала и продукта можно разделить путем вычитания спектров смеси и примесей. Это достигается путем вычитания ИК спектра *о*-ксилола, затем *м*-ксилола и, наконец, *n*-ксилола из спектра коммерческого ксилола, чтобы «обнулить» соответствующие поглощения.

Порядок выполнения работы

В качестве задачи, которую необходимо решить в данной лабораторной работе, предлагается провести количественный анализ таблеток, содержащих аспирин, фенацетин и кофеин (цитрамон).

- 1) Измельчите таблетку в ступке и растворите навеску точной массы в хлороформе.
- 2) Отфильтруйте нерастворившийся осадок.
- 3) Соберите жидкостную кювету для ИК спектроскопии. Используйте окна из KBr и покладку толщиной 0.1 мм.
- 4) Запишите ИК спектр растворенной части таблетки.
- 5) Для количественного определения аспирина, кофеина и фенацетина демонстрирует (каждый компонентов отчетливые ИЗ этих карбонильные хлороформа) используйте полосы В растворе приведенные ниже данные калибровки, полученные для чистых соединений в хлороформе с использованием кюветы из NaCl толщиной 0,1 мм (Таблицы 3.1-3.3):

Таблица	3.1-	Калибровочные	данные	для	раствора	аспирина	(полоса
поглощен	ия 176	54 см ⁻¹)					

Концентрация (мг/мл)	Поглощение на 1764 см ⁻¹
0	0.000
25	0.158
50	0.285
75	0.398
100	0.501

Таблица 3.2 - Калибровочные данные для раствора кафеина (полоса поглощения 1656 см⁻¹)

Концентрация (мг/мл)	Поглощение на 1656 см ⁻¹
0	0.000
5	0.105
10	0.190
15	0.265
20	0.333

Tof Turo 2	2	Ποτιπτο	100 1115		ποτεοι		010011
таолица э	- 0.	данныс	rainop	ловии	лскар	летвенной	CMCCH

Компонент	Концентрация (мг/мл)	Волновое число С=О колебания (см ⁻¹)	Поглощение
Аспирин	90	1764	0.217
Фенацетин	65	1511	0.185
Кафеин	15	1656	0.123

6) Учитывая, что значения абсорбции для неизвестной таблетки, произведенной в тех же условиях, определены из ИК спектра, оцените концентрации аспирина, фенацетина и кофеина в неизвестной таблетке.

Контрольные вопросы

- 1) На каком законе основана количественная ИК спектроскопия?
- 2) Запишите закон Бугера-Ламберта-Бера в интегральной и дифференциальной форме.
- Какие полосы поглощения лучше использовать для количественного анализа?
- 4) Какие методы применяются для количественного анлиза твердых образцов, исследуемых в виде таблетки из KBr?

3.1.4 Исследование неорганических соединений методом ИК спектроскопии

Цель работы: исследовать ИК спектры неорганических солей различного пространственного строения.

Приборы и реактивы:

- Фурье-ИК спектрометр Tensor 37 фирмы Bruker;
- набор веществ неорганических солей.

Краткая теория

Как и в случае органических соединений, неорганические соединения могут создавать ИК спектр. Как правило, ИК полосы поглощения для неорганических материалов шире, меньше по количеству и появляются при меньших волновых числах, чем наблюдаемые для органических материалов. Если неорганическое соединение образует ковалентные связи внутри иона, оно может давать характерный ИК спектр.

Простые неорганические соединения, такие как NaCl, не производят никаких колебаний в средней ИК области, хотя колебания решетки таких молекул происходят в дальней ИК области. Вот почему некоторые простые неорганические соединения, такие как NaCl, KBr и ZnSe, используются как материалы для ИК окон. Немного более сложный неорганическое соединение, такое как CaCO₃, содержит сложный анион. Эти анионы дают характерные ИК полосы, а в таблице 3.4 приведены основные полосы некоторых распространенных неорганических ионов. Присоединенный катион обычно оказывает лишь небольшое влияние на волновое число комплексного аниона. Причиной этого является кристаллическая структура, образованная такими молекулами. Например, KNO₂ состоит из ионной решетки с ионами К⁺ и ионами NO₂⁻, расположенными в регулярном Кристаллическая структура массиве. состоит ИЗ по существу изолированных ионов К⁺ и NO₂⁻, поэтому ИК полосы катиона и аниона независимы. В этом примере К⁺ является одноатомным и не производит никаких колебаний и, следовательно, ИК полос. Однако более тяжелые катионы действительно вызывают смещение полосы к меньшему волновому числу, и этот эффект более очевиден для деформационных колебаний, наблюдаемых при меньших волновых числах.

Ион	Волновое число (см $^{-1}$)
CO_{3}^{2-}	1450–1410, 880–800
SO_4^{2-}	1130–1080, 680–610
NO_3^-	1410–1340, 860–800
PO ₄ ^{3–}	1100–950
${ m SiO_4}^{2-}$	1100–900
NH_{4}^+	3335-3030, 1485-1390
$\mathrm{MnO_4}^-$	920-890, 850-840

Таблица 3.4 - Основные ИК полосы некоторых распространенных неорганических ионов [9]

Несколько факторов влияют на появление ИК спектров неорганических соединений. Полосы кристаллической решетки проявляются в дальней ИК области, и в спектрах будут наблюдаться изменения кристаллической структуры. Следствием этого является то, что для таких образцов предпочтительны методы неразрушающего отбора проб. Такие технологии, как приготовление таблеток и паст, могут вызывать сдвиги в ИК диапазоне таких материалов, вызванные давлением. Степень гидратации неорганического соединения также является фактором при интерпретации спектров. Молекулы воды, включенные в структуру решетки кристаллического соединения, образуют характерные острые полосы в областях 3800–3200 и 1700–1600 см⁻¹, обусловленные растяжением и изгибом О–Н соответственно.

Окружение решетки молекул воды определяет положение ИК полос воды и то, являются ли они одиночными или расщепленными. Полосы О-Н в диапазоне 3800–3200 см⁻¹ показывают уникальные структуры, которые можно использовать для характеристики композиций гидратированных неорганических соединений.

Двухатомные молекулы имеют одно колебание вдоль химической связи. Одноатомные лиганды, где металлы координируются с атомами, такими как галогены, Н, N или O, производят характерные ИК полосы поглощения. Эти полосы приведены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 - Характеристика ИК полос двухатомных неорганических молекул [9]

Волновое число (см ⁻¹)	Присваивание
2250-1700	М–Нвалентные колебания
800–600	М–Ндеформационные колебания
750–100	М–Хвалентные колебания
1010-850	М=Овалентные колебания
1020-875	М≡Nвалентные колебания





Координационные соединения могут также содержать двухатомные лиганды, состоящие из атома металла, координированного с молекулами, такими как CO, NO, O_2 , N_2 , H_2 , OH^- или CN^- . После комплексообразования значения волновых чисел таких лигандов сдвигаются к более низким частотам. Нормальные моды колебаний линейных и изогнутых молекул XY₂ показаны на рисунке 3.8, а ИК полосы некоторых обычных линейных и изогнутых трехатомных молекул приведены в таблице 3.6.

нсорганических молскул [7].						
Молекула	v_1	v_2	v ₃			
Линейная						
OCO	1388, 1286	667	2349			
HCN	3311	712	2097			
NCS ⁻	2053	486, 471	748			
ClCN	714,784	380	2219			
MgCl ₂	327	249	842			
Изогнутая						
H2O	3657	1595	3756			
O3	1135	716	1089			
SnCl ₂	354	120	334			

Таблица	3.6	-	Характеристические	ИК	полосы	(cm ⁻¹)	трехатомных
неорганич	ески	хN	юлекул [9].				



Рисунок 3.9 - Нормальные режимы колебаний (а) плоских и (б) пирамидальных молекул XY₃ [9]

Отметим, что некоторые молекулы показывают две полосы для v_1 изза резонанса Ферми. В таблице 3.6 также приведены некоторые примеры линейных и изогнутых трехатомных лигандов. Наиболее распространенные формы молекул XY₃ являются плоскими и пирамидальными. Нормальные режимы колебаний плоских и пирамидальных молекул XY₃, которые «ИК активны», показаны на рисунке 3.9. ИК полосы некоторых примеров плоских и пирамидальных четырехатомных молекул показаны в таблице 3.7. Лиганды могут также принимать пирамидальные и плоские структуры, и характер координации также влияет на результирующие ИК полосы этих лигандов.

Молекула	v_2	V ₃	ν_4	
Планарная				
BF ₃	719	1506	481	
CaCO ₃	879	1492-1429	706	
KNO ₃	828	1370	695	
SO ₃	498	1390	530	
Пирамидальная	ν_1	ν_2	v_3	v_4
PF ₃	893	487	858	346
SO_{3}^{2-}	967	620	933	469
ClO_3^-	933	608	977	477
IO ₃ -	796	348	745	306

Таблица 3.7 - Характеристические ИК полосы (см⁻¹) четырехатомных неорганических молекул.

Молекулы и лиганды XY₄ с пятью атомами обычно принимают тетраэдрические и квадратно-плоские формы. Нормальные моды тетраэдрического и квадратно-плоского XY₄ показаны на рисунке 3.10. Тетраэдрические молекулы XY₄ показывают две нормальные моды, которые «инфракрасно активны», в то время как квадратно-плоские молекулы XY₄ показывают три «ИК активные» нормальные моды вибрации.

В таблице 3.8 приведены ИК полосы некоторых распространенных пятиатомных молекул. Молекула XY_5 может принимать тригональную бипирамидальную, тетрагональную пирамидальную или планарно-пятиугольную структуру. Треугольный бипирамидальный, XY_5 (например, SF_5^- или BrF_5), показывает шесть нормальных "ИК активных" колебаний, в то время как планарно-пятиугольные молекулы XY_5 (например, XeF_5^-) показывают три "ИК активных" нормальных колебания. Октаэдрические молекулы XY_6 демонстрируют шесть нормальных мод колебаний, но только две из них являются «ИК активными». Таблица 3.9 суммирует ИК полосы некоторых молекул, которые показывают октаэдрическую структуру.



Рисунок 3.10 - Нормальные моды колебаний (а) тетраэдрических и (б) прямоугольных молекул XY₄ [9]

Таблица	3.8	-	Характеристика	ИК	полос	(cm ⁻¹)	пятиатомных
неорганич	еских	MOJ	текул.				

ттетраэдрическая	ν ₃	ν_4	
CH_4	3019	1306	
$\mathrm{NH_4^+}$	3145	1400	
SnCl ₄	408	126	
PO_{4}^{3-}	1017	567	
CrO ₄ ^{2–}	890	378	
MnO_4^-	902	386	
Плоская			
квадратная	V ₃		V7
XeF4	291	586	161
$D+C1^{2-}$	147	313	165
	150	321	161
$PdCl_4^{2^-}$			

1		
Молекула	ν_3	v_4
$A1F_6^{3-}$	568	387
$\mathrm{SiF_6}^{2-}$	741	483
$\mathrm{VF_6}^{2-}$	646	300
$PtCl_6^{2-}$	343	183

Таблица 3.9 - Характеристические ИК полосы (см⁻¹) октаэдрических неорганических молекул.

Порядок выполнения работы

- Запишите ИК спектры набора неорганических солей (Na₂SO₄, CaSO₄, CaSO₄, CaSO₂*2H₂O, CdSO₄, ZnSO₄, (NH₄)₂SO₄)
- 2) Найдите положения максимумов полос поглощения для каждой соли.
- 3) Запишите в таблицу волновые числа максимумов полос поглощения.

Таблица – Волновые числа максимумов полос поглощения, см-1

Соотнесения	Na ₂ SO ₄	ZnSO ₄ ,	CaSO ₂ *2H ₂ O

- 4) Сделайте отнесения полос в спектре по таблицам 3.3-3.9 для тетраэдрических и трехатомных молекул, т.е. припишите каждой полосе номер колебания определенной молекулы (иона), тип симметрии колебания, символ молекулы (иона), которому принадлежит колебание.
- 5) По характеру расщепления полос вырожденных колебаний (см. таблицу 3.10), сделайте вывод об искажении симметрии тетраэдрических ионов, определите точечную группу симметрии искаженного тетраэдра для каждого из соединений.

Таблица 3.10 – Корреляционная таблица для точечных групп T_d, C_{3v}, C_{2v} [10]

Точечная				
группа	\mathbf{v}_1	\mathbf{v}_2	V 3	V 4
T_d	A_1 (KP)	E (KP)	F ₂ (ИК, КР)	F2 (ИК, КР)
C _{3v}	А ₁ (ИК, КР)	Е (ИК, КР)	$A_1(\text{ИК}, \text{KP}) +$	А ₁ (ИК, КР)
			Е (ИК, КР)	+Е (ИК, КР)
C_{2v}	А ₁ (ИК, КР)	А ₁ (ИК, КР) +А ₂ (КР)	A ₁ (ИК, КР)	А ₁ (ИК, КР)
			$+B_1$ (ИК, КР)	+В ₁ (ИК, КР)
			$+B_2$ (ИК, КР)	+В ₂ (ИК, КР)

Контрольные вопросы

- 1) Какую информацию о неорганических солях можно получить, исследуя их ИК спектр?
- 2) Какой формой могут обладать молекулы типа ХҮ₃?
- 3) Сколько видов колебаний имеют тетраэдрические молекулы XY₄?

3.1.5 Характеристика координационного комплекса с помощью ИК спектроскопии

Цель работы: с достаточной степенью достоверности определить структуру комплекса, используя только ИК спектроскопию.

Приборы и реактивы: ИК спектрометр, оснащенный приставкой НПВО, набор веществ для синтеза комплексных соединений никеля: NiCl₂*6H₂O, этилендиамин, этанол, NH₄OH.

Краткая теория

Металлические комплексы или хелаты имеют в значительной степени ковалентную природу, и в спектрах таких соединений доминирует вклад лиганда и его координационная химия. Лиганды могут быть мелкими разновидностями, такими как молекулы воды или аммония, или крупными сложными разновидностями, такими как порфирины. Аминовые комплексы широко изучены, и на рисунке 3.11 показаны инфракрасные спектры гексаминовых комплексов Co (III), Cr (III) и Ni (II). Спектры показывают, что тип металла в комплексе производит важные различия в ИК диапазонах каждого комплекса. Значительные различия в значениях волновых чисел деформационных каждого комплекса отмечены для маятниковых колебаний NH₃ (900-600 см⁻¹) и деформационных колебаний NH₃ (1400-1100 см⁻¹). Полосы валентных колебаний N-H и деформационных колебанийN-Н также наблюдаются в этих спектрах в областях 3700-2500 и 1750–1500 см $^{-1}$ соответственно.



Рисунок 3.11 - ИК спектры гексаминовых комплексов металлов [1]

Связывание и геометрические изомеры являются важными вопросами в координационной химии, создавая структуры с различными свойствами. Изомерия связи возникает, когда лиганд может координироваться с центральным металлом, используя любой из двух атомов внутри лиганда. Нитрит-ион проявляет этот тип изомерии. Когда нитрит-ион присоединен к центральному иону металла через атом азота, он известен как нитролиганд. Когда один из атомов кислорода является донором, он известен как нитритолиганд. Когда связи NO2⁻ подвергаются связыванию через кислородную связь, одна из связей NO является «почти» двойной связью, а другая одинарной связью. В другой координации обе NO-связи являются промежуточными между одинарными и двойными связями. ИК полоса связи увеличивается с увеличением ее прочности, и поэтому следует ожидать, что волновые числа связей NO в NO₂- увеличиваются в следующем порядке: одинарная связь NO (в О-связи) <NO (в N-связи) <двойная связь NO (в О связи). Наблюдается, что в комплексах, когда NO₂связан через кислород, растяжение N = О появляется в диапазоне 1500–1400 см⁻¹, в то время как растяжение N-O появляется при 1100-1000 см⁻¹. В комплексах, в которых NO₂- связан через азот, инфракрасные полосы появляются при 1340–1300 см⁻¹ и 1430–1360 см⁻¹, что является промежуточным значением по сравнению с комплексом, связанным с кислородом.

Это демонстрирует, что можно использовать ИК спектроскопию, чтобы определить, координирован ли нитрит и координирован ли он через атом азота или кислорода. В таблице 3.11 перечислены основные ИК полосы, наблюдаемые для некоторых распространенных лигандов, способных образовывать изомеры связи.

Лиганды	Волновое число (см ⁻¹)
Нитро-	1430–1360, 1340–1300
Нитрито-	1500–1400, 1100–1000
Тиоцианато- (-S-C≡N)	2140–2100, 720–680
Цианато (–О–С≡N)	2210-2000, 1300-1150
Изотиоцианато (-N=C=S)	2100-2040, 850-800
Изоцианато(-N=C=O)	2250–2150, 1450–1300

Таблица 3.11 - ИК полосы некоторых распространенных лигандов, способных образовывать изомеры связи [1]

Полезной полосой в ИК спектрах карбонильных лигандов в комплексах металлов является полоса, обусловленная растяжением С–О. Она дает очень сильные острые полосы, которые отделены от полос других лигандов, которые могут присутствовать в комплексе. Волновое число валентного колебания для терминального карбонильного лиганда в комплексе коррелирует с «электронным богатством» металла. Положение

полосы определяется связыванием *d*-орбиталей металла с *π** разрыхляющими орбиталямилиганда. Связывание ослабляет связь С–О и снижает значение волнового числа по сравнению со значением в свободном С-О.

ИК спектроскопия может быть легко использована для различения типов связей в карбонилах металлов. Широко изученным случаем является случай карбонильной группы, которая встречается в терминальных (М-СО) и мостиковых (например, М-СО-М) средах. Мостиковые СО-лиганды появляются при более низких значениях волнового числа, чем у концевых лигандов в комплексах с тем же металлом и схожей электронной плотностью. Терминальные полосы СО появляются в широком диапазоне от 2130 до 1700 см⁻¹, тогда как мостиковые полосы СО лиганда появляются в диапазоне 1900-1780 см⁻¹. Однако следует соблюдать осторожность при назначении таких карбонильных полос. Полоса, появляющаяся ниже 1900 см⁻¹, вполне может быть обусловлена концевым лигандом с сильным снижением прочности карбонильной связи посредством связи d → π*. если комплекс также показывает карбонильные полосы Однако, значительно выше 1900 см⁻¹, можно предположить, что такие электронные эффекты отсутствуют и что полосы растяжения СО с меньшим волновым числом можно отнести к мостиковым лигандам.

Металлоорганические соединения содержат лиганды, которые связаны с атомами металла или ионами через углеродные связи. Металлоуглеродные валентные волновые числа металлоорганических соединений наблюдаются в диапазоне 600–400 см⁻¹, причем более легкие металлы имеют полосы при более высоких значениях. Полосы изгиба CH₃, возникающие из групп металл – CH₃, появляются в области 1210–1180 см⁻¹ в соединениях ртути и олова и на 1170–1150 см⁻¹ в соединениях свинца. Ароматические металлоорганические молекулы имеют сильную полосу около 1430 см⁻¹ из-за растяжения бензольного кольца для металлов, непосредственно связанных с бензольным кольцом.

Ниже приведены некоторые виды комплексных соединений чуть подробнее.

Цианидный, цианатный, тиоцианатный и цианокомплексы

Структуру и связь цианид-аниона можно проиллюстрировать двумя ограничивающими структурами на рисунке 3.12, где отрицательный заряд может располагаться на электроотрицательном атоме азота (твердое основание) или на атоме углерода (мягкое основание). Связь С-N может быть можно описать как нечто среднее между двойной и тройной связью. Растягивающее колебание С-N в КСN требует энергии 2080 см⁻¹. Продукты окисления цианид-иона, то есть цианат- и тиоцианат-ионы, демонстрируют колебания С-N при 2168 см и 2049 см⁻¹ соответственно. Это указывает на то, что (по сравнению с цианид-ионом) связь С-N сильнее в цианате и слабее в

тиоцианате, поскольку большое волновое число соответствует более высокой колебательной энергии. Мезомерное равновесие на рисунке 3.12 показывает, что доминирующей резонансной структурой является структура с отрицательным зарядом на атоме кислорода. Поэтому связь С-N в OCN- имеет более тройной, чем двойной характер связывания, и она более прочна по сравнению с CN-. С другой стороны, наиболее важной резонансной структурой SCN- является структура с отрицательным зарядом на атоме азота.



Рисунок 3.12 - Резонансные структуры цианидного, цианатного и тиоцианат-иона [11]

ИК спектроскопическое исследование гексацианоферратных комплексов с цианолигандами, связанными через атом углерода с центрами Fe (II) и Fe (III), позволяет получить дополнительную информацию. Связь CN- и мягкого катиона Fe³⁺ сильнее, чем между CN- и твердым катионом Fe³⁺. Сильная связь C-Fe приводит к более слабой связи CN и, как и ожидалось, валентное колебание CN в желтом гексацианоферрате калия (II) требует меньше энергии (2043 см⁻¹), чем в красном родственнике (2116 см⁻¹). Эти спектроскопические данные можно интерпретировать как свидетельство того, что степень окисления центра железа в берлинской лазурной в среднем составляет 2,5, и помогают объяснить быстрый перенос электронов от Fe (II) к Fe (III) через мостиковый цианидныйлиганд.

Нитрит и нитрокобальтат

В нитрит-анионе порядок связи N-O равен 1,5. Из двух сигналов, наблюдаемых в области растяжения N-O, антисимметричное колебание группы N-O KNO₂ требует энергии 1381 см⁻¹; тогда как для симметричного колебания требуется 1267 см⁻¹. Когда происходит комплексообразование, нитрит-ион может координироваться с металлом через кислород, а также через атом азота, что приводит либо к нитрито-, либо к нитро-комплексу (см. рис. 3.13).





Нитрокомплекс

Нитритокомплекс

Рисунок 3.13 - Изомеры координированного нитрит-иона: нитро- и нитритокомплексы [11]

Гексанитрокобальтат (III) калия можно использовать в качестве примера нитрокомплекса.

 $CoCl_2 + 7 KNO_3 + 2 HAc \rightarrow K_3[Co(NO_2)_6] + NO + H_2O + 2KCl + 2 KAc$

В результате образования комплекса электронная плотность удаляется с атома азота, и, следовательно, связи N-O усиливаются по сравнению с некоординированным нитрит-ионом. Следовательно, валентные колебания N-O в координированном NO₂-лиганде требуют больше энергии (антисимметричный 1421 см⁻¹ и симметричный 1334 см⁻¹).

Дитионат и тиосульфат

Дитионат калия ($K_2S_2O_6$), соединение с одинарной связью S-S, производится путем окисления дисульфита калия диоксидом марганца. Растяжение S-S дает сигнал при 1242 см⁻¹. Тиосульфат натрия (Na₂S₂O3) также готовится из сульфита натрия и серы. Характерной структурной особенностью этого многогранного соединения является частично двусвязное соединение S = S, которое аналогично связи S = O в сульфатионе. Растягивающее колебание S-S обнаруживается при более высокой энергии (1635 см⁻¹).

Щавелевая кислота, оксалат и оксалатные комплексы

Щавелевая кислота также играет значительную роль в неорганической аналитической химии и в координационной химии. Оба оксалатных комплекса содержат пятичленные хелатные кольца, как показано на рисунке 3.14.



Рисунок 3.14 - Строение щавелевой кислоты, оксалатдианиона и двухчленного хелатного кольца в оклатокомплексах [11]

ИК данные этих комплексов сравниваются с данными щавелевой кислоты и оксалата калия. Растяжение двойной связи С-О (2) в щавелевой кислоте (119 пм) требует энергии 1688 см⁻¹. Тот же сигнал в $K_2C_2O_4$ (с четырьмя эквивалентными атомами О) требует гораздо меньше энергии (1591 см⁻¹), что является правдоподобным, поскольку порядок связей СО в этой соли равен 1,5, а все связи С-О значительно длиннее (123 пм). Карбонил-растяжение в хромовом комплексе требует энергии 1681 см⁻¹, что почти идентично величине, обнаруженной в свободной щавелевой кислоте. В медном комплексе такой же колебание требует меньше энергии (1668 см⁻¹). Между кислородом и твердым центром Cr (III) образуется более прочная связь, чем между кислородом и более мягким центром Cu (II). Сильная связь Cr-O (I) приводит к ярко выраженной двойной связи C-O (2) (Рис. 3.15). Более слабая связь Cu-O (I) индуцирует более слабую связь C-O (2) в оксалатном комплексе меди.



Рисунок 3.15 – Резонансные структуры щавелевой кислоты [11]

Подобные закономерности наблюдаются также в металлокомплексах сацетилацетоном. Результаты, полученные с помощью ацетилацетона, согласуются с конъюгированной хелатной структурой, резонирующей между формами I и II (см. рисунок 3.15).

Можно было бы ожидать, что координация с металлом (III) сместит частоту карбонила к более низким значениям; сдвинется поглощение растяжения С-Н на более высокую частоту (новая среда больше похожа на бензол); антисимметричные и симметричные валентные колебания метила должны остаться примерно там, где они находятся в ацетилацетоне; ОН....О абсорбция должна исчезнуть. Все эти ожидания оправдались в ИК спектрах этих соединений.

ИК спектроскопия оказалась полезной для определения места прикрепления металла к лиганду. В координационных соединениях, включающих мочевину и тиомочевину в качестве лигандов, проблема заключается в том, есть ли связь металл-азот или связь металл-кислород в случае мочевины. ИК спектры этих комплексов показали, что мочевина образует связи металл-азот с Pt (II) и Pd (II), а также связи металл-кислород с Cr (III), Fe (III), Zn (II) и Cu- (II). Эти выводы были сделаны путем сравнения спектров комплексов со спектром свободной мочевины. Если координация включает связи М-О, можно ожидать, что спектр комплекса будет незначительно отличаться от такового для мочевины. Поглощение С = О сместится в сторону более низкой частоты (область поглощения С = О при 1700 см⁻¹ пуста в соединениях Cr (III), Fe (III), Zn (II) и Cu (II), тогда как в свободная мочевина - 1683 см⁻¹). Если задействованы связи металл-азот, то спектр значительно отличается от спектра свободной молекулы мочевины. Можно ожидать, что растяжение XH, деформация NH и колебания CN будут сдвигаться в сторону более низких частот, как это действительно происходит в соединениях Pt (II) и Pd (II). Кроме того, поглощение из-за карбонильной группы сдвигается до 1720 см⁻¹ из-за блокировки резонанса между связанным азотом и группой С = О, как и следовало ожидать.

Аналогичное сравнение спектров комплексов металл-тиомочевина со спектром свободной тиомочевины показало, что все связи металлов связаны с серой. Все спектры были подобны спектру тиомочевины, за исключением того, что частота С = S была сдвинута в сторону более низких значений.

ИК спектроскопия оказалась очень полезным инструментом в области координационной химии. Это помогло в решении проблем определения структуры, цис-транс-изомерии, соединения металл-лиганд, например, связывания, а также в определении типов связей в этих сложных молекулах. Ниже в таблице 3.12 представлены некоторые характеристические полосы поглощения многоатомных неорганических ионов.

Таблица 3.12 - Характеристические частоты многоатомных неорганических ионов (300-3600 см⁻¹) [11]



Выполнение работы

- 1) Вариант 1. Получите комплексы Ni(II).
 - а. Получение [Ni(en)₃]Cl₂*2H₂O. Растворите 6,0 г NiCl₂*6H₂O в 3 мл H₂O. Небольшое нагревание улучшает скорость растворения. Раствор охладите на льду, добавляя 5,0 г (5,6 мл) этилендиамина. Медленно добавляйте этилендиамин, потому что реакция довольно экзотермична. Добавьте 15 мл холодного этанола, чтобы начать кристаллизацию. Держите в холоде 10 мин. Соберите продукт на воронке Бюхнера и промойте двумя порциями этанола по 5 мл. Высушите на воздухе.

- b. Получение [Ni(NH₃)₆]Cl₂. Растворите 3,0 г NiCl₂*6H₂O в 5 мл теплой H₂O в колбе Эрленмейера на 125 мл и добавить 5,8 мл концентрированного NH₄OH. Охладите на ледяной бане и наблюдайте за выпадением в осадок крупных кристаллов фиолетового цвета. Добавьте 15 мл холодного этанола, чтобы завершить осаждение. Соберите кристаллы на воронке Бюхнера и промойте двумя порциями этанола по 5 мл. Высушите на воздухе.
- 2) Вариант 2. Получите комплексы оксалатов меди и хрома:
 - а. **К**₂[**Cu**(**C**₂**O**₄(**H**₂**O**)₂]: Горячий водный раствор CuSO₄ (100 мг в 2 мл H₂O) добавьте к раствору 310 мг K₂C₂O₄ *2 H₂O в 5 мл H₂O при температуре 363 К. Смесь кратковременно перемешайте и дайте остыть в холодильнике (277 К) в течение ночи. Светлые кристаллы отфильтруйте, промойте небольшим количеством холодной воды и высушите над кремнеземом.
 - b. К₃[Cr(C₂O₄)₃]: Раствор 200 мг K₂C₂O₄ * 2H₂O и 460 мг H₂C₂O₄ * 2 H₂O в 5 мл H₂O добавляют к раствору 200 мг K₂Cr₂O₇ в 4 мл H₂O при 363 К. Смесь кратковременно перемешайте и охладите на ледяной бане. Черные кристаллы K₃[Cr(C₂O₄)₃] отфильтровывают, промойте небольшим количеством холодной воды и высушите над диоксидом кремния.
- 3) Получите ИК спектры синтезированных комплексов и исходных соединений с помощью методики прессования таблеток из KBr:
 - а. Примерно 200 мг высушенного KBr (аналитической чистоты) и
 5 мг образца тщательно измельчите и смешайте в агатовой ступке.
 - b. Для получения прозрачного диска порошок поместите под пресс (50-60 бар) под вакуумом в течение 5 мин.
 - с. Если ИК поглощение таблетки слишком велико или слишком мало, необходимо изготовить другую таблетку другой концентрации.
- 4) Отметьте изменения в спектрах комплексных соединений по сравнению со спектрами исходных соединений. Объясните различия в спектрах.

Контрольные вопросы

- 1) Как изменяются полосы поглощения лигандов при образовании координационной связи?
- 2) Какие структурные характеристики комплексных соединений может исследовать ИК спектроскопия?

3.2 Применение ИК спектроскопии к характристике материалов

3.2.1 Определение толщины тонких пленок методом ИК спектроскопии

Цель работы: ознакомиться с ИК спектроскопическим методом определения толщины тонких пленок.

Приборы и реактивы: Фурье ИК спектрометр Tensor 37, пленки ПК, ПЭТФ, ПП.

Краткая теория

В спектрах пропускания и отражения тонких пленок могут наблюдаться интерференционные максимумы и минимумы (рис. 3.16), которые являются результатом наложения когерентных волн, возникающих при делении падающей волны на поверхностях пленки. Такие спектры называют интерференционными [12].



Рисунок 3.16 - Типичные спектры пропускания (а) и отражения (б) тонких пленок микропористого кремния, сформированных из монокристаллического кремния с ориентацией поверхности (100) (с-Si(100)) [12]
Интерференционный спектр наблюдается тогда, когда оптическая разность хода волн Δ меньше длины когерентности: $\Delta \leq l_{\text{ког}}$. Длина когерентности определяется выражениями

$$l_{\rm KOF} \approx \frac{\lambda^2}{\delta \lambda} = \frac{1}{\delta \nu'} \tag{1}$$

где δλ и δν — это пределы разрешения используемого спектрального прибора [13].

Условие наблюдения контрастного интерференционного спектра при регистрации его фурье-спектрометром выражается следующим уравнением:

$$\nu \le \frac{\pi}{dn\Omega'}\tag{2}$$

где Ω — телесный угол, стягиваемый источником. Контраст интерференционного спектра, определяемый разрешающей способностью прибора, уменьшается с ростом волнового числа.

Интерференция наблюдается в пленках с плоскопараллельными поверхностями при малой степени шероховатости последних. Неровные и конусообразные пленки не дают интерференционной картины, так как максимумы и минимумы взаимно гасятся. На рисунке 3.17 приведены примеры рассчитанных интерференционных картин в спектрах отражения плоскопараллельной тонкой пленки фиксированной толщины (рис. 3.17, а) и пленки с вариацией толщины по ее поверхности (рис. 3.17, б). Расчеты подтверждают, что изменение толщины пленки приводит к уменьшению контраста с ростом волнового числа.



Рисунок 3.17 - Спектры отражения плоскопараллельного слоя пористого кремния толщиной 5 мкм (а) и слоя пористого кремния средней толщиной 5 мкм с вариацией толщины в 0,5 мкм (б), сформированных на кремниевой подложке [12]

Наличие интерференционной картины в спектре позволяет определить дисперсию показателя преломления. Дисперсией называют зависимость действительной части комплексного показателя преломления n от частоты излучения: $n(\omega)$. В ИК спектроскопии обычно говорят о дисперсионной зависимости показателя преломления от волнового числа излучения n(v). При нормальной дисперсии показатель преломления возрастает с ростом волнового числа, при аномальной дисперсии показатель преломления дисперсии показатель преломления за пределами полос поглощения, то есть в области прозрачности вещества (рис. 3.18).

Положение интерференционного максимума в интерференционном спектре, зарегистрированном в проходящем свете, при нормальном падении излучения на поверхность пленки задается соотношением

$$2dn = \frac{m}{\nu_m},\tag{3}$$

где d — толщина пленки, m — порядок максимума, а v_m — соответствующее ему волновое число. Данное соотношение справедливо всегда, как при наличии дисперсии, так и в случае ее отсутствия.

При отсутствии дисперсии (когда n = const) для двух соседних максимумов можно записать следующую систему уравнений:

$$\begin{cases} 2d \cdot n = m/\nu_m \\ 2d \cdot n = (m+1)/\nu_{m+1} \end{cases}$$

$$\tag{4}$$

Исходя из системы (4), показатель преломления *n* можно рассчитать по простой формуле

$$n = \frac{1}{2d \cdot \Delta \nu'} \tag{5}$$

где $\Delta v = v_{m+1} - v_m$ — разность между волновыми числами, которые соответствуют соседним максимумам или минимумам в спектре.

В области нормальной дисперсии в данном приближении выражение (1) $(2d\Delta v)$ характеризует не фазовую, а групповую скорость света, и величина показателя преломления при его вычислении в области нормальной дисперсии по формуле (5) оказывается завышенной.

При наличии в спектре участка с незначительной нормальной дисперсией показатель преломления можно определить по следующему алгоритму [12]:

1. В области прозрачности, соответствующей наименьшей дисперсии в регистрируемом спектре, выбирают два соседних максимума в спектре пропускания и по формуле (5) оценивают значение показателя преломления; 2. Оцененное значение показателя преломления подставляют в формулу (3), при этом величина порядка интерференции получается нецелой;

3. Далее берут целую часть полученного таким образом значения *m*, соответствующую истинному значению порядка интерференции. Данное целое значение порядка интерференции подставляют в эту же формулу (3) и вычисляют соответствующее ему точное значение показателя преломления.

Для спектра отражения выражение (3) есть условие интерференционных минимумов, к которым применима аналогичная процедура.

На рис. 3.18 схематично приведены интерференционные спектры пропускания и отражения пленки в воздухе в области «начала» интерференции, то есть при малых значениях порядка интерференционного экстремума *m*.



Рисунок 3.18 - Спектры пропускания (а) и отражения (б) непоглощающей тонкой пленки в области малых значений порядков интерференционных экстремумов *m*.

Для определения *n* из интерференционной картины по формулам (3) и (5) необходимо знать толщину образца с такой же относительной погрешностью, с какой необходимо получить значение показателя преломления. Если толщина пленки неизвестна, для нахождения *n* регистрируют интерференционные спектры при двух углах падения θ_{11} и θ_{12} , измеряется расстояние между соседними экстремумами Δv_{11} и Δv_{12} вблизи одного и того же волнового числа v и решается система уравнений, в которой в правой части уравнений записана оптическая разность хода соответствующих волн. Отсюда получают значение толщины пленки (и оценку показателя преломления)

$$\frac{1}{\Delta \nu_{11}} = 2d\sqrt{n^2 - \sin^2 \Theta_{11}},$$
(6)

$$\frac{1}{\Delta v_{12}} = 2d\sqrt{n^2 - \sin^2 \Theta_{12}}.$$

На точность определения показателя преломления влияет наличие полос поглощения, вблизи которых изменяется величина *n* и искажается интерференционная картина (сдвигаются наблюдаемые положения интерференционных максимумов).

Описанный алгоритм применим при наличии в спектре области с незначительной нормальной дисперсией и может использоваться для определения показателя преломления в тонких, в том числе наноструктурированных пленках.

Выполнение работы

В данной работе предлагается решить обратную задачу – зная материал тонкой пленки, а отсюда, соответственно, зная показатель преломления пленки (без учета дисперсии), с помощью ИК спектра определить толщину данной тонкой пленки.

- 1) Получить набор полимерных пленок известного материала.
- 2) Записать спектры тонких полимерных пленок в режиме «Пропускание».
- 3) Определить положения трех интерференционных максимумов в единицах волновых чисел.
- 4) Используя формулу (5), рассчитать толщину исследуемой пленки.

Контрольные вопросы

- 1) Как зависит частота интерференции ИК спектра от толщины пленки?
- 2) Как влияет дисперсия показателя преломления пленки на положение интерференционных экстремумов?
- 3) Что влияет на точность определения показателя преломления образца?
- 4) При каких условиях применим данный алгоритм определения показателя преломления или толщины пленки?

3.2.2 Измерение толщины тонкого полимерного слоя с помощью инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения

Цель работы: изучить метод определения толщины тонких полимерных слоев и покрытий с помощью ИК спектроскопии НПВО.

Приборы и материалы: ИК спектрометр оснащенный приставкой НПВО, толстая полимерная пленка из полипропилена (ПП) с нанесенным на нее слоем полистирола (ПС).

Краткая теория

Неразрушающий контроль толщины тонких полимерных слоев, нанесенных на объемные или непрозрачные полимерные подложки, является серьезной проблемой при разработке и производстве современных высокотехнологичных материалов. Известно, что интенсивность полос поглощения слоя, анализируемого методом ИК Фурье-спектроскопии, зависит от толщины слоя для толщин, меньших глубины проникновения зондирующего излучения. Благодаря этому возможно определить толщину слоя по его ИК НПВО спектру. Методика определения толщины тонкого полимерного слоя с помощью ИК НПВО спектроскопии описана в работе [14].

Известно, что эффективная глубина проникновения зондирующего излучения в исследуемый образец (d_p) (глубина зонда) в методе НПВО определяется выражением

$$d_p = \frac{\lambda}{2n_1\pi\sqrt{\sin^2\Theta - (n_2/n_1)^2}},\tag{1}$$

где n_1 и n_2 - показатели преломления элемента внутреннего отражения и образца, Θ - угол отражения, λ - длина волны. Уравнение (1) подразумевает, что глубина зонда прямо пропорциональна длине волны (обратно пропорциональна волновому числу) и увеличивается по мере уменьшения показателя преломления и угла отражения элемента внутреннего отражения. На практике используются элементы внутреннего отражения с $n_1 = 2,4$ (КРС-5, ZnSe, алмаз) и $n_1 = 4,0$ (Ge), с углами отражения 45–60 и 30–60° соответственно. Для образца с $n_2 = 1,5$ (типичное значение для органических соединений) в среднем ИК диапазоне (400–4000 см⁻¹) $d_p = 0,5-5,2$ мкм для элемента внутреннего отражения КРС-5 (или ZnSe) с $\Theta = 45$ и $d_p = 0,13-1,30$ мкм для кристалла из Ge с $\Theta = 60^\circ$.

Интенсивность полосы поглощения в ИК Фурье-спектре массивного образца в приближении малого поглощения ($\alpha\lambda/4\pi$ << 1) определяется выражением

$$A = n_{21} \frac{E_0^2}{\cos\Theta} \int_0^\infty \alpha(z) \exp\left(\frac{2z}{d_p}\right) dz,$$
 (2)

где E_0 - амплитуда падающего света, Θ - угол отражения, $n_{21} = n_2 / n_1$, α - коэффициент поглощения, а z - расстояние от поверхности до внутренней части образца.

Если образец состоит из системы в виде подложки из одного полимера и нанесенного на него слоя другого полимера толщиной *t*, то зависимость коэффициента поглощения этого слоя от *z* задается ступенчатой функцией

$$\alpha(z) = \begin{cases} \alpha_c & \text{для } z \le t \\ 0 & \text{для } z > t \end{cases}$$
(3)

где α_c - коэффициент поглощения полимера в слое. Используя уравнение (2), затем получаем интенсивность полосы поглощения слоя в ИК спектре образца:

$$A_{c} = \alpha_{c} n_{21} \frac{E_{0}^{2}}{\cos \Theta} \frac{d_{p}}{2} \left(1 - \exp\left(-\frac{2t}{d_{p}}\right) \right).$$
(4)

Для 2*t* >>*d*_p экспоненциальный член в этом уравнении пренебрежимо мал, и уравнение (4) принимает вид

$$A_c = \alpha_c n_{21} \frac{E_0^2}{\cos\Theta} \frac{d_p}{2}.$$
(5)

Уравнение (5) описывает интенсивность полос поглощения в ИК спектре полимерной пленки, когда ее толщина t намного больше глубины зонда d_p . Это выражение, очевидно, верно независимо от того, свободна ли полимерная пленка или нанесена на подложку из другого полимера. Уравнения (4) и (5) дают отношение интенсивности полосы поглощения в ИК спектре тонкого полимерного слоя на подложке (A_c) к интенсивности той же полосы в спектре толстой свободной пленки этого полимера (A_0):

$$\frac{A_c}{A_0} = 1 - \exp\left(-\frac{2t}{d_p}\right),\tag{6}$$

из которого, в свою очередь, получаем выражение для определения толщины полимерного слоя:

$$t = \frac{d_p}{2} ln \left[1 - \frac{A_c}{A_0} \right]^{-1}.$$
 (7)

Для того, чтобы использовать уравнение (7) для расчета толщины полимерных слоев, аналитические полосы поглощения слоя следует выбирать так, чтобы они не совпадали по частоте с полосами подложки и лежали на длинах волн, для которых глубина зонда d_p превышает толщину анализируемого слоя.





Рисунок 3.19 - ИК FTIR-спектры подложки из ПЭТФ (1), свободной пленки ПС толщиной 19 мкм (2) и двухслойных образцов ПС / ПЭТ с толщиной слоя ПС 2,7 (3) и 4,0 мкм (4) [14]

Рисунок 3.20 - ИК Фурьеспектры свободной пленки ПС 19 толщиной мкм (1)И двухслойных образцов ПС / ПЭТ с толщиной слоя ПС 4,0 (2)И 3,4 МКМ (3) после вычитания вклада поглощения ПЭТ в диапазоне 510-600 см [14]

На рис. 3.20 представлены ИК Фурье-спектры подложки из ПЭТФ, толстой (19 мкм) свободной пленки ПС и двухслойных образцов, состоящих из тонких слоев ПС различной толщины, нанесенных на подложку ПЭТФ. Полосы подложки ПЭТФ отчетливо проявляются в спектрах двухслойных образцов наряду с полосами слоя ПС. Это означает, что глубина зонда превышает толщину анализируемых слоев, так что толщину можно определить методом НПВО с использованием уравнения (7). Для этого для анализа выбирается полоса поглощения ПС на частотах, на которых отсутсвуют полосы поглощения подложки, например при 538 см⁻¹. Видно, что в спектре двухслойной системы наблюдается некоторое перекрытие крыльев этой полосы с ближайшей полосой подложки ПЭТФ. Таким образом, интенсивность на частоте пика аналитической полосы поглощения полосы ПС (А_с) определялась после вычитания спектра ИК НПВО подложки ПЭТФ из спектра двухслойной системы (рис. 3.21). Глубина зонда d_р на этой частоте составляла 5,7 мкм для исследуемых образцов при выбранных условиях получения ИК Фурье спектров ($n_2 = 1.60, n_1 = 2.38, \Theta = 45^\circ$). Значение A_0 в уравнении (7) определено из ИК Фурье-спектров свободной пленки ПС толшиной 19 мкм.

Выполнение работы

1) Приготовьте образцы двухслойных материалов. Для этого тонкие слои полистировла (ПС) осаждают из растворов в толуоле на

поверхность пленки ПП толщиной 20 мкм. Толщина слоя варьируется изменением концентрации раствора ПС в толуоле. Осажденные слои необходимо высушить в течение 6 ч при 80 ° С.

- 2) Запишите с помощью приставки НПВО с кристаллом из селенида цинка ИК спектры исследуемой пленки ПП/ПС, а также спектр подложки из ПП и спектр объемной пленки ПС.
- Определите, какие полосы поглощения возможно использовать для расчета толщины покрытия.
- 4) Если в определенной области спектра наблюдается значительный вклад материала подложки, необходимо провести процедуру вычитания спектра подложки из спектра объекта ПП/ПС.
- 5) После вычитания спектра определите интенсивность на частоте пика аналитической полосы поглощения полосы ПС (*A*_c).
- 6) Рассчитайте глубину проникновения луча на выбранной расчетной частоте по формуле (1).
- Определите значение A₀ из ИК Фурье-спектров свободной пленки ПС известной толщины.
- 8) По уравнению (7) рассчитайте толщину полимерного слоя *t*.

Контрольные вопросы

- 1) Какова максимальная глубина проникновения ИК излучения для образца полипропилена (*n*=1.65), наполненного 20 мас.% TiO₂ (*n*=2,55)?
- 2) В каком диапазоне спектра выбирается аналитическая полоса поглощения для расчета толщины слоя?
- 3) Для объектов какой максимальной толщины подходит данный метод?

3.2.4 Определение размеров пор в пористых полимерных матрицах

Цель работы: ознакомиться с ИК спектроскопическим методом определения размеров рассеивающих частиц внутри полимерной матрицы.

Приборы и реактивы: Фурье ИК спектрометр Tensor 37, пористые пленки ПС, ПЭТФ, ПП.

Теоретические основы

Анализ размеров частиц наполнителя в данной работе проводится с помощью ИК спектроскопического подхода, разработанного в лаборатории спектроскопии ТвГУ [15-17].



Рисунок 3.21 - Схема взаимодействия электромагнит-ного излучения с веществом [18]

Суть метода заключается в том, что при прохождении ИК излучения через «мутную» среду (например, пористый или наполненный полимерный образец толщиной l) (рис. 3.21) происходит ослабление его интенсивности за счет поглощения материалом матрицы и рассеяния от частиц наполнителя. При этом интенсивность падающего излучения I_0 уменьшается до величины прошедшего излучения I_T . Коэффициент экстинкции (или ослабления) излучения ε включает в себя поглощательную ε_A и рассеивающую ε_S части. Математически это можно выразить следующим образом:

$$\varepsilon = \varepsilon_A + \varepsilon_S \tag{1}$$

$$\varepsilon_A = \frac{1}{l} \lg \frac{I_0}{I_T} = \frac{D}{l} \quad \text{ИЛИ} \quad D = \varepsilon_A l = k_A c l \,, \tag{2}$$

$$\varepsilon_{s} = \frac{1}{l} \ln \frac{I_{0}}{I_{s}} = \frac{S}{l} \text{ или } S = \varepsilon_{s} l \sim k_{s} cl, \qquad (3)$$

где D – оптическая плотность, S – величина рассеяния излучения, k_A и k_S – коэффициенты поглощения и рассеяния соответственно, c – концентрация поглощающих или рассеивающих центров, I_0 – интенсивность падающего света, I_S и I_T – соответственно интенсивности рассеянного и прошедшего через образец излучения.



Рисунок 3.22 - Схематическое строение пористого материала [18]

Таким образом, величины экстинкции для поглощательной и рассеивающей компонент пропорциональны концентрации поглощающих осцилляторов C_A и рассеивающих частиц C_S и коэффициентам поглощения k_A и рассеяния k_S , соответственно. Общую толщину наполненной полимерной пленки l можно представить как сумму толщин монолитной l_M и наполненной l_H частей $l = l_M + l_H$ (рис. 3.22). Сравнивая ИК спектры наполненных и ненаполненных пленок, всегда легко определить степень наполнения полимера. Таким образом, выделение и анализ поглощательной и рассеивающей компонент ИК излучения могут дать информацию об общем содержании вещества матрицы или наполнителя в полимерной смеси (или композите).



Рисунок 3.23 - Зависимость коэффициента рассеяния от размера рассеивающих частиц: І – область рэлеевского рассеяния, ІІ- область дифракционного рассеяния, ІІІ- область рассеяния Ми, *d* – диаметр рассеивающей частицы, λ – длина волны падающего на образец излучения [19]

В литературе показано [19], что максимальная маскирующая способность среды (отношение коэффициента рассеяния к единицы массы частиц) должна достигаться в области дифракционного рассеяния. На рис. 3.23 показан примерный ход зависимости K_{pacc}/M от размера частицы. Из рисунка видно, что максимум маскирующей (рассеивающей) способности

среды достигается в области размеров рассеивающих частиц порядка длины волны, что соответствует частицам с размером ~10⁻⁵ см для случая видимого света [20].

Для нахождения концентрации и размера рассеивающих частиц, их распределения по размерам использован спектроскопический эффект, который ранее был обнаружен для пористых материалов [15-16]. В том случае, когда размеры (d) рассеивающих частиц (поры или частицы наполнителя) совпадают с длиной волны (λ) падающего излучения, происходит существенное снижение светопропускания, в результате в ИК спектре наблюдается характерный «перегиб». Определение среднего размера рассеивающих частиц и их распределения по размерам основано на принципе резонанса: коэффициент рассеяния в случае дифракционного рассеяния ($d \approx \lambda$) существенно больше, чем для случая рэлеевского расеяния $(\lambda >> d)$, малые рассеивающие частицы) или рассеяния Ми ($\lambda << d$, крупные рассеивающие частицы, и действуют законы геометрической оптики). Выделяя из ИК спектра компоненту, связанную с рассеянием на частицах наполнителя, путем вычитания из спектра ненаполненного (монолитного) спектр наполненного материала (или пористого) (рис. 3.24) И дифференцируя эту компоненту (спектр вычитания, рис. 3.25) по длине волны (с учетом факта дифракционного рассеяния), легко получить распределение рассеивающих частиц (пор) по размерам (рис. 3.26). При этом положение максимума на кривой распределения будет соответствовать среднему размеру рассеивающих частиц, а высота максимума или интегральная площадь под кривой рассеяния будут пропорциональны концентрации рассеивающих частиц. Следует также отметить, что для хорошего проявления эффекта рассеяния в ИК спектре образца необходимо, чтобы выполнялись следующие условия

$$|\rho_{M} - \rho_{H}| >> 0; |n_{M} - n_{H}| >> 0,$$
 (4)

где ρ_M , n_M и ρ_H , n_H – соответственно плотность и показатель преломления вещества матрицы или наполнителя. Именно на этом факте основан принцип действия иммерсионной жидкости для снижения эффекта рассеяния при записи ИК спектра образца.

Распределение рассеивающих частиц по размерам определяется по следующей схеме:

 Выделяем из ИК спектра компоненту, связанную с рассеянием на частицах наполнителя или порах (рис. 3.24). Базовая коррекция начального спектра нужна для того, чтобы средствами программы OPUS убрать из спектра полосы поглощения характерные образцу (ε_A=0), тем самым получая «спектр вычитания».



Рисунок 3.24 - ИК спектр пропускания в среднем ИК диапазоне пористой пленки ПС, базовая коррекция его спектра и «спектр вычитания»

2) «Спектр вычитания», являющийся результатом вычитания из общего спектра пропускания образца его спектра поглощения средствами программы OPUS, представлен на рис. 3.25 *a*, а спектр рассеяния на рис. 3.25 *б*.



Рисунок 3.25 - «Спектр вычитания» пористого образца (а) и спектр его рассеяния (б), полученные на основе данных рис. 3.24

- 3) Аппроксимируем «спектр вычитания» к функции вида $y = A_2 + \frac{A_1 A_2}{1 + e^{\frac{x x_0}{dx}}}$ (рис. 3.26а);
- 4) Переводим результат аппроксимации из обратных сантиметров в микрометры по оси X (т.е. переходим от волнового числа к длине волны) (рис. 3.26б);



Рисунок 3.26 - «Спектр вычитания» и функция, к которой он аппроксимирован (а); функция аппроксимации, переведенная из координаты см⁻¹ в мкм (б)

5) Дифференцируем кривую (рис. 3.266) по длине волны (с учетом факта дифракционного рассеяния) и получаем распределение рассеивающих частиц по размерам (рис. 3.27). При этом положение максимума на кривой распределения будет соответствовать наиболее вероятному размеру рассеивающих частиц, а высота максимума или интегральная площадь под кривой рассеяния будут пропорциональны концентрации рассеивающих частиц.



Рисунок 3.27 - Распределение пор по размерам с наиболее вероятным размером пор d=3,59 мкм для пористой пленки ПС

Принципы,

используемые ДЛЯ извлечения информации диаметре 0 рассеивающих частиц и распределении ИХ ПО размерам, для метода УФ спектроскопии аналогичны выше описанным для метода ИК спектроскопии, так как В оптическом диапазоне спектра действуют одни и те же законы оптики.

Выполнение работы

- 1. Записать спектр исходной пленки и спектр пористой пленки.
- 2. В программе OPUS вычесть из спектра наполненной пленки спектр чистой пленки, используя команду Spectrum Substraction в меню Manipulate.
- 3. Спектр вычитания сохранить с расширением .dpt.
- 4. Импортировать сохраненный спектр вычитания в программу Origin.
- 5. Построить по полученной таблице данных график и аппроксимировать его с помощью функции Sigmoidal в меню Analisis.
- 6. Двойным щелчком по аппроксимированной функции вызвать меню Plot Details инажать кнопку Worksheet.
- 7. Создать новый столбец, в котором с помощью функции Set Column Values перевести данные оси X из обратных сантиметров в микрометры.
- 8. Построить график по данным столбца С (X) и В (Y).
- 9. Продифференцировать полученный график (Analisis Calculus Differentiate). Полученный график является графиком распределения рассеивающих частиц по размерам.
- 10.Определить средний размер частиц.
- 11.Проделать эту операцию с оставшимися пленками.

Контрольные вопросы:

- 1. Чем отличаются релеевское, дифракционное и Ми рассеяние?
- 2. Объясните значение величин по осям У и Х графика распределения частиц по размерам.
- 3. Рассчитайте волновое число v (см⁻¹), соответствующие каждой перечисленной ниже длине волны электромагнитного излучения: 1) 400 нм; 2) 17 А°; 3) 0,030 см; 4) 6,1 мкм.

3.3 Применение ИК спектроскопии при исследеовании полимеров

3.3.1 Идентификация полимерных материалов

Цель работы: Цель этого эксперимента состоит в том, чтобы изучить принципы ИК спектроскопии и использовать их при анализе спектров из перерабатываемых пластмассовых образцов. Неизвестные перерабатываемые образцы пластика можно идентифицировать путем сопоставления спектров известного пластика.

Приборы и материалы: ИК спектрометр, стандарты и образцы перерабатываемого пластика

Краткая теория

Полимеры играют чрезвычайно важную роль в современном ЭТИ материалы имеют фундаментальное обществе; значение для большинства аспектов современной жизни, таких как строительство, связь, транспорт, одежда и упаковка. Таким образом, понимание структуры и свойств полимеров жизненно Большинство важно. коммерческих полимеров основаны на ковалентных соединениях углерода, НО синтетические полимеры также могут основываться на неорганических атомах, таких как кремний.

ИК спектроскопия - популярный метод идентификации полимеров. Она может использоваться для идентификации состава полимеров, для мониторинга процессов полимеризации, для характеристики структуры полимера, для исследования поверхностей полимера и для исследования процессов разложения полимера [21].

Существует ряд методов исследования образцов полимеров. Если полимер является термопластом, его можно размягчить путем нагревания и сформировать в гидравлическом прессе тонкую пленку. В качестве альтернативы полимер можно растворить в летучем растворителе и дать раствору испариться с образованием тонкой пленки на пластине галогенида щелочного металла. Некоторые полимеры, такие как сшитый синтетический каучук, можно микротомировать (разрезать на тонкие пластинки с помощью лезвия). Также возможен раствор в подходящем растворителе. Если полимер является поверхностным покрытием, можно использовать методы отражения.

Поскольку большинство полимеров имеют органическую основу, спектральные отнесения, сделанные для органических молекул, полезны при интерпретации ИК спектров полимеров. Полезная корреляционная таблица для полимеров показана на рисунке 3.28.

Поскольку пластмассы различаются по химическому составу, каждый из них может быть отсортирован по составу, прежде чем его можно будет повторно использовать. Это очень трудоемко и, следовательно, дорого. Для пластиковых контейнеров была разработана система кодирования, которая идентифицирует материал, из которого изготовлен пластик, и помогает переработчикам сортировать пластик по составу. Эти коды являются числом внутри треугольникана дне большинства пластиковых контейнеров. Пластиковые идентификационные номера приведены в таблице 3.13.



Рисунок 3.28 - Таблица корреляции для ИК полос поглощения полимеров

С помощью метода ИК спектроскопии можно разработать метод сортировки и идентификации пластмасс на основе идентификации их ИК спектров. Спектры известных пластмасс, пригодных для вторичной переработки, показывают пик или группу пиков, которые являются уникальными для каждого типа пластмассы и которые можно использовать для сортировки неизвестных пластмасс, пригодных для вторичной переработки.

Таблица 3.13 - Идентификационные номера плас	стиков и соответствующие
ИК поглощения	

Номер	Тип пластика		Связь	Волновое число	
	Полиэтилентерефта лат	(ΕΦΤΠ)	C-0	1000-1300	
1			C=O	1730-1750	
			C=C	1400-1600	
2	Полиэтилен		СЦ	2850-3000, 1375, 1450,	
Z	высокой плотности	(113611)	С-п	1465	
3	Поливинилхлорид	(IIBX)	C-Cl	600-800	
4	Полиэтилен низкой			СЦ	2850-3000, 1375, 1450,
4	плотности		С-п	1465	
5	Полипропилен	(ПП)	С-Н	2850-3000, 1375, 1450,	
				1465	
6	Полистирол	(П <u>С</u>)	C=C	1400-1600	

Идентификация полимерных материалов производится с помощью поглощения характеристических полос анализа полос поглощения 3.29 ИК спектр материалов. Например, на рисунке показан полиметилметакрилата (ПMMA). Структура ПММА -[-CH₂-С(СН₃)(СООСН₃)-]_п-. ИК спектр ПММА является результатом групповых частот С-С и С-Н групп основной цепи, С-С, С=О и С-О единиц сложноэфирной группы и С-Н единиц основной цепи метильный заместитель. Назначения инфракрасного излучения для этого спектра перечислены в таблице 3.14.



Рисунок 3.29 – ИК спектры ПММАнизкомолекулярного (1) и высокомолекулярного (2)

Габлица 3.14 - (Эсновные ИК	полосы полиме	тилметакрилата
------------------	-------------	---------------	----------------

Волновое число (см ⁻¹)	Соотнесение
2992	О-СН ₃ , С-Н валентные колебания
2948	С-СН ₃ , С-Н валентные колебания
1729	С=О валентные колебания
1485	СН ₂ деформационные колебания
1450,1434	О–СН ₃ деформационные колебания
1382,1337	С–СН ₃ деформационные колебания
1265,1238	С–С–О валентные колебания
1189,1170	С–О–С деформационные колебания
1145	СН ₂ деформационные колебания
962	С–СН ₃ деформационные колебания

На рисунке 3.30 показан ИК спектр некоторого полимера. Вероятную структуру этого полимера можно определить по его ИК спектру. При рассмотрении части спектра с более высокими волновыми числами наблюдаются полосы при 2867 и 2937 см⁻¹, обусловленные алифатическим симметричным и асимметричным С–Н растяжением соответственно. Также

имеется полоса при 3300 см⁻¹, обусловленная растяжением N–H, в то время как сильная полоса при 1640 см⁻¹ указывает на растяжение C = O. Наличие этих полос поглощения предполагает, что полимер является полиамидом, вероятно нейлоном 6. Водородная связь играет значительную роль в спектрах нейлонов. Режим растяжения N–H обусловлен группами с водородными связями, в то время как широкое плечо, которое появляется при около 3450 см⁻¹, обусловлено связями N–H, не связанными водородными связями.



Рисунок 3.30 - ИК спектр неизвестного полимера

Выполнение работы

- 1. Получите набор полимерных материалов.
- 2. Запишите ИК спектры каждого полимера из тестового набора с помощью приставки НПВО.
- 3. Скоректируйте базовую линию полученных ИК спектров.
- 4. С помощью инструмента PeakPicking подпишите положения полос поглощения исследуемых образцов.
- 5. Выпишите положения основных полос поглощения в таблицу и сопоставьте их с возможными функциональными группами.

Волновое число (см-1)	Функциональные группы	
Образец 1		
Образец 2		
Образец 3		

6. По набору функциональных групп для каждого исследуемого полимера попытайтесь определить вид полимерного материала.

Контрольные вопросы

- 1) В чем сущность ИК спектроскопического метода анализа полимеров?
- 2) Что такое функциональная группа?
- 3) Что такое характеристическая полоса поглощения?

3.3.2 Качественный структурно-групповой анализ мономера и полимера

Цель работы. Записать ИК спектры мономера и полимера и идентифицировать их по наиболее сильным полосам поглощения.

Образцы и реактивы: порошкообразные полиметилметакрилат и полистирол, метилметакрилат, стирол, полистирол (пленка толщиной 25 мкм), вазелиновое масло.

Приборы и принадлежности: ИК спектрометр, кюветы разборные с вкладышами (2 шт.), набор колец-стаканов, держатели для кювет, прокладки, пипетки, агатовая ступка с пестиком.

Краткая теория

На рисунке 3.31 в качестве примера приведены спектры метилметакрилата и полиметилметакрилата.



Рисунок 3.31 - ИК спектры мономера и полимера: а – мемилметакрилат (жидкость, *l*=0,01 мм); б – полиметилметакрилат (пленка) [22]

Метилметакрилат является сложным эфиром; из справочных данных видно, что наиболее интенсивные полосы поглощения сложных эфиров находятся в области 5,8 мкм (1725 см⁻¹) – валентные колебания карбонильной группы C=O. В валентной области 7,5-9,5 мкм в спектре наблюдается серия из четырех полос поглощения, которые вместе с полосой при 13,35 мкм (790 см⁻¹) являются характеристическими для метакрильной структуры –CO-O-CH₃. Доказательством наличия метильной группы являются полосы поглощения при 1380 и 2870 см⁻¹. Полоса поглощения при 1645 см⁻¹ в спектре мономера обусловлена наличием двойной связи C=C. В спектре полимера эта полоса полностью исчезает.

Выполнение работы

- 1) Запись ИК спектра мономера. Для получения ИК спектра каплю жидкого мономера поместите между двумя окошками разборной кюветы. Для получения ИК спектра кристаллического мономера приготовьте из него суспензию (растереть 20-50 мг исследуемого вещества с 5 каплями вазелинового масла). Запишите спектр исследуемого мономера в диапазоне 4000-400 см⁻¹. По справочным данным инерпретируют наиболее интенсивные полосы поглощения исследуемого мономера.
- 2) Запись ИК спектра раствора полимера. Соберите две кюветы с произвольно выбранной, но одинаковой толщиной слоя и заполните одну из них растворителем, а другую – раствором полимера заданной концентрации. Запишите ИК спектр в диапазоне 4000-400 см⁻¹. Если спектр не четкий и не вписывается в шкалу пропускания, то измените первоначально выбранную тощину слоя. По справочным данным интерпретируйте спектр по наиболее интенсивным полосам поглощения.
- 3) Измерения ИК спектра твердого полимера. Образец в виде пленки поместите между окнами разборной кюветы. Из порошка полимера приготовьте пасту по описанной выше методике. Запишите ИК спектры исследуемого вещества в диапазоне 4000-400 см⁻¹. Полученный спектр интерпретируйте, пользуясь справочными данными.
- 4) Определите по характеристическим полосам поглощения структуру исследованных образцов.
- 5) На основе расшифровки спектров мономеров и полимера объясните наблюдаемые различия.

Контрольные вопросы

- 1) Какими функциональными группами в первую очередь различаются мономеры и полимеры на их основе?
- 2) В чем разница между мономером и структурным звеном полимера?

3) В чем разница между мономером и полимером? Как это проявляется в ИК спектре?

3.3.3 Определение состава сополимера этилена с пропиленом

Цель работы: провести количественный ИК анализ сополимера этилена с пропиленом.

Образцы и реактивы: атактический полипропилен (0,1% раствор в CCl₄), сополимер этилена с пропиленом (0,5% раствор в CCl₄), тетрахлорид углерода.

Приборы и принадлежности: двухлучевой спектрометр, кюветы разборные, держатели, прокладки, пипетки.

Краткая теория

Сополимеры состоят из цепей, содержащих два или более различных типа мономеров. Количественно состав сополимеров можно определить с ИК спектроскопии. Могут быть идентифицированы помощью отличительные репрезентативные режимы для полимеров. Например, в случае сополимеров винилхлорида и винилацетата для количественного анализа может быть использовано отношение оптической плотности ацетатной моды при 1740 см⁻¹ к изгибной моде винилхлорида и метилена при 1430 см⁻¹. Для калибровки можно использовать сополимеры известного состава. Также могут применяться многомерные методы. Следует проявлять осторожность, поскольку на положение и форму ИК полос сополимеров может влиять последовательность компонентов составляющих мономеров.

стирола и акрилонитрила				
Концентрация	Поглощение на 2250	Поглощение на 1600		
акрилонитрила (%)	см ⁻¹	см ⁻¹		
10	0.230	0.383		
20	0.223	0.177		
30	0.230	0.120		
40	0.235	0.0909		
50	0.227	0.0701		
60	0.231	0.0592		

Таблица 3.15 - Данные ИК анализа, полученные для ряда сополимеров стирола и акрилонитрила



Рисунок 3.32 - Градуировочный график для сополимеров стирола и акрилонитрила

Так например, в ИК спектрах сополимеров стирола и акрилонитрила в качестве меры состава может быть использовано соотношение оптических плотностей валентного колебания нитрила С≡N акрилонитрила при 2250 см⁻ и валентного колебания стирольного кольца при 1600 см⁻¹. Для количественного определения состава сополимера необходимо получить информацию об интенсивностях этих полос поглощения для ряда сополимеров стирола и акрилонитрила известного состава (таблица 3.15). График зависимости коэффициента поглощения 2250 см⁻¹/1600 см⁻¹ от концентрации является линейным и может использоваться в качестве калибровочного графика (рисунок 3.32). Для образца сополимера стирола с акрилонитрилом неизвестного состава, получив значения интенсивностей полос поглощения на 2250 и 1600 см⁻¹ (0.205 и 0.121 соответственно), с полученной калибровочной помощью кривой можно определить сополимерный состав: 0.205/0.121 = 1.70, и следовательно концентрация акрилонитрила для сополимера 26.6%, а значит, состав сополимера 73.4% стирола / 26.6% акрилонитрила.

Для определения содержания пропилена в сополимере с этиленом методом ИК спектроскопии в качестве аналитической можно использовать полосу 1380 см⁻¹ (рисунок 3.33), характеризующую симметричное деформационное колебание групп CH₃, входящих в состав только пропиленового звена сополимера. Так как интенсивность указанной полосы очень высока, лучше исследовать раствор сополимера, который получают кипячением образцов в тетрахлориде углерода.



Рисунок 3.33 - ИК спектр сополимера (20:80) этилена с пропиленом (слой между пластинами NaCl) [22]

Аналитической может служить и полоса 1150 см⁻¹, обусловленная присутсвием звеньев –СН₂-СН(СН₃)-, имеющая умеренную интенсивность. В этом случае для исследования используют образец в виде пленки, полученной прессованием. Чтобы исключить измерение толщины образца, пользуются отношением интенсивностей полос поглощения 1150 и 730-720 см⁻¹ (маятниковые колебания последовательно соединенных трех и пяти метиленовых групп).

Выполнение работы

1) Получите ИК спектры растворов атактического полипропилена и сополимера этилена с пропиленом. Для этого записывают спектр 0,1%-ного раствора атактического полимера в CCl₄ в области 1200-1500 см⁻¹ в кювете с толщиной поглощающего слоя 0,4 см и призмой из NaCl. Аналогичным способом записывают спектр 0,5%-го раствора сополимера этилена с пропиленом в CCl₄ в кювете с толщиной поглощающего слоя 0,2 см.

2) Определите содержание полипропилена в сополимере. Для этого оптическую плотность раствора измеряют в максимуме полосы поглощения 1380 см⁻¹ по методу базовой линии. Коэффициент поглощения полипропилена К рассчитывают по формуле:

$$K = D_{1380}/(cd)$$
 (1)

где *с* - концентрация полипропилена в растворе, г/л; *d* – тощина поглощающего слоя, см.

Затем измеряют оптическую плотность раствора сополимера этилена при 1380 см⁻¹ и рассчитывают содержание полипропилена C_{Π} [% масс.] по формуле:

$$C_{\Pi} = (D_{1380} * 100) / (Kcd). \tag{2}$$

3) Проанализируйте ИК спектр исследуемого образца сополимера этилена с пропиленом и на основании рассчитанного состава сделайте вывод о строении его макромолекул.

Контрольные вопросы

- 1) Каковы особенности поглощения света веществом?
- 2) Какие виды колебаний вы знаете?
- 3) Каким законом описывается поглощение света веществом ?
- 4) Что такое спектр поглощения?
- 5) Какова сущность качественного и количественного ИК спектроскопического анализа вещества?
- 6) Какую информацию можно получить при исследовании полимеров методом ИК спектроскопии?

3.3.4 Расчет степени молекулярной ориентации полиэтилена

Цель работы: ознакомиться с методом поляризационной ИК спектроскопии, рассчитать степень молекулярной ориентации полиэтилена.

Приборы и реактивы: Фурье ИК спектрометр, поляризатор, волокно полиэтилена (ПЭ), рамка.

Краткая теория

ИК спектроскопия наиболее является распространенным И эффективным методом исследования строения и свойств полимеров. Такое значение ИК спектроскопии объясняется тем, качественная что интерпретация спектра достаточно проста. Важную роль играет доступность и надежность современных серийных ИК спектрометров. Кроме того, экспериментальная техника спектрального исследования полимерных систем достигла к настоящему времени высокого уровня развития. Это дает возможность довольно легко получать ИК спектры образцов полимеров в виде волокон, пленок, растворов, порошков.

Метод Фурье ИК спектроскопии может быть использован для определения наличия кристаллической фазы, степени ориентации конформеров, изменения их числа, а также концентрации молекулярных разрывов в ПЭ в процессе ориентационного вытягивания гель-нити. Этот метод является наиболее универсальным в исследовании молекулярной и надмолекулярной структуры полимеров. Фурье ИК спектроскопия позволяет следить непосредственно за процессами ориентации, деформации и разрушения в волокнах ПЭ на молекулярном уровне. Данный метод исследования не разрушает структуру образца и делает возможным многократно его исследовать.

Для получения информации о молекулярной ориентации ИК спектры ориентированных образцов (волокон или вытянутых пленок) необходимо записывать в поляризованном свете. Интенсивности выбранных аналитических полос поглощения определяется с помощью построения базовой линии на полученных ИК спектрах.

О конформационных перестройках в ориентированных волокнах ПЭ можно судить по изменению оптической плотности полос поглощения на частотах 1350 (GG) и 1368см⁻¹ (GTG), отвечающих веерным колебаниям CH₂-групп в аморфных областях полимера, и на частотах 720 (T_m, m=2-7) и 730 см⁻¹ (T_m, m>7), соответствующих маятниковым колебаниям CH₂-групп в аморфных и кристаллических областях (G и T – *гош-* и *транс-*изомеры) (табл. 3.16).

Таблица 3.16 – Отнесение основных конформационно-чувствительных полос поглощения в ИК спектре полиэтилена [23]

Волновое число, v, см ⁻¹	Тип колебания	Конформация	Фаза
720	$\gamma_r (CH_2)$	$T_{m}(m=2-7)$	Аморф.
730	$\gamma_r (CH_2)$	$T_{m} (m > 7)$	Крист.
1350	$\gamma_{\rm w}$ (CH ₂)	GG	Аморф.
1368	$\gamma_{\rm w}$ (CH ₂)	GTG	Аморф.
1894	ν (CC) + γ _r (CH ₂)	$T_{m} (m > 7)$	Крист.

Оптические плотности для конформационно-чувствительных полос поглощения 720, 730, 1350, 1368, 1710, 1740, 1894 см⁻¹ рассчитываются по формуле

$$D = \frac{D_{II} + 2D_{\perp}}{3}, \qquad (1)$$

где $D_{\rm II}$, D_{\perp} – оптические плотности при параллельной и перпендикулярной поляризации света относительно оси вытяжки волокна. Во избежание влияния толщины образца оптические плотности относят к полосам стандарта $D_0 - 1176 \,\mathrm{cm^{-1}}$ для полос 1710-1720см⁻¹, 2850 см⁻¹ для полос 720 и 730 см⁻¹ и 1176 см⁻¹ для полос 1350, 1368 и 1894 см⁻¹. В связи с тем, что полоса поглощения 720 см⁻¹ состоит из аморфной и кристаллической составляющих, а полоса поглощения 730 см⁻¹ характеризует транс-сегменты только в кристаллической фазе, оптическую плотность аморфной компоненты полосы 720 см⁻¹ рассчитывается как разница между значениями оптических плотностей D_{720} и D_{730}

$$D_{720} = \frac{(D_{II720} - D_{II730}) + 2(D_{\perp 720} - D_{\perp 730})}{3}.$$
 (2)

По величине ИК дихроизма $R = D_{II}/D_{\perp}$ рассчитывается степень молекулярной ориентации $\langle \cos^2 \Theta \rangle$ для маятниковых колебаний CH₂-групп по формуле

$$\langle \cos^2\Theta \rangle = (2-R)/(2+R), \tag{3}$$

а для веерных колебаний CH2-групп по формуле

$$\langle \cos^2 \Theta \rangle = R/(2+R), \tag{4}$$

где Θ - угол между осью молекулярного сегмента и осью ориентации.

Выполнение работы

- 1. По полученным спектрам определите оптические плотности для параллельной и перпендикулярной ориентации указанных полос поглощения спектров.
- 2. Рассчитайте оптическую плотность для указанной конформационночувствительной полосы по формуле (1).
- 3. Рассчитайте по формуле (1) также оптическую плотность для полосы стандарта.
- 4. Разделите оптические плотности указанных полос на полосу стандарта.
- 5. Рассчитайте величину дихроизма для указанных полос.
- 6. Рассчитайте степень молекулярной ориентации для указанных групп по формулам (3) или (4).

Контрольные вопросы

- 1) Какие специфические возможности метода ИК спектроскопии при исследовании полимеров?
- 2) Что такое дихроичное отношение в ИК спектрах и как оно используется при изучении полимеров?
- 3) Что такое гош- и транс- конформации полимерных цепей?
- 4) Какие конформации наблюдаются в полностью вытянутой полимерной цепи?
- 5) Что такое степень молекулярной ориентации полимеров?

3.3.5 Количественное определение карбонильных групп в полиэтилене методом ИК спектроскопии

Цель работы: Проведение количественного анализа в ИК области спектра образцов термоокисленного и неокисленнюго полиэтилена.

Образцы и реактивы: полиэтилен окисленный и неокисленный

Оборудование: Фурье ИК спектрометр, пресс гидравлический лабораторный

Краткая теория

ИК спектроскопия — это один из методов *оптической* спектроскопии. С помощью ИК спектроскопии определяют строение молекул и вещества в целом, так как в ИК области расположено большинство колебательных и вращательных спектров молекул.

Известно, что молекула представляет собой систему, состоящую из атомов, находящихся в постоянном колебательном движении. Частота этого колебания определяется видом химической связи. Каждому виду связи определенного вида атомов соответствуют колебания определенной частоты.

В основу метода положен закон Бугера—Ламберта—Бера, связывающий интенсивность монохроматического светового потока (I₀), падающего на образец, и потока (I), прошедшего через него, с характеристиками молекул исследуемого (поглощающего) вещества и его концентрацией в образце:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon cd},\tag{1}$$

где є—удельный коэффициент поглощения. л/(моль см);

с — концентрация вещества. моль/ л;

d— толщина слоя, см.

В практической работе используют логарифмическую форму записи закона Бугера — Ламберта—Бера:

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon c d, \tag{2}$$

где D — оптическая плотность вещества.

С помощью ИК спектрометра измеряют отношение I_0/I , которое называется коэффициентом пропускания. Спектр пропускания представляет собой зависимость пропускания $T=[I_0/I]\cdot 100$ (в %) от частоты колебания v.

Из курса физики известно, что частота колебания света $v=c \cdot l/\lambda$ (где *с* —скорость света в вакууме). Величина l/λ измеряется в см⁻¹ и носит название *волнового числа;* очень часто его называют частотой (что не точно). Следвательно, правильнее было бы говорить, что спектр поглощения — это зависимость пропускания от волнового числа.

Каждой химической группе соответствуют определенные частоты (волновые числа) колебания, а следовательно, и полосы поглощения в ИК спектре. Эти полосы называют *характеристическими*. В зависимости от положения группы в молекуле и непосредственного соседства с ними других групп в спектре наблюдаются некоторые изменения (наложение одних полос на другие, появление дополнительных полос с частотами, кратными основным частотам). Зная характеристические полосы (частоты) поглощения и спектр вещества, можно идентифицировать группы, входящие в состав вещества, а также и само вещество.

Длина волны λ в максимуме поглощения, либо частота колебания v, или волновое число определяют положение полосы в спектре. Кроме того, каждая полоса в спектре может быть охарактеризована интенсивностью, шириной и типом поляризации.

Интенсивность полосы характеризует концентрацию данных химических групп, поглощающих свет с длиной волны λ, а также молекулярную структуру вещества. Так, наиболее интенсивными в спектре отвечающие валентным колебаниям. являются пики, Различают интенсивность в максимуме поглощения в интегральную интенсивность (площадь под кривой поглощения). Интегральная интенсивность — очень интересная величина, характеризующая молекулярные процессы, однако интенсивность в максимуме проще измерить, и поэтому ею пользуются чаще. Полосы поглощения делят на сильные, средние и слабые в зависимости от высоты полосы а максимуме поглощения или от площади под контуром полосы. Ширину полосы можно измерять на уровне половины ее высоты в максимуме. Такую величину называют полушириной.

Если образец имеет какую-либо ориентацию, то, используя поляризованный свет, для каждой полосы в спектре можно определить *тип поляризации*.

Для интерпретации колебательных спектров полимеров необходимо знать спектральное повторяющееся звено цепи, т. е. такую единицу, из которой определенными операциями симметрии может быть построена вся макромолекула. Иногда такая единица совпадает с мономерным звеном цепи (изотактический полипропилен), в некоторых случаях она содержит два мономерных звена (синдиотактнческий полипропилен, полиакрилоннтрнл) либо включает лишь «половину» мономерного эвена (полиэтилен). При анализе спектра следует учитывать, что число характеристических колебаний для данной химической группы будет различно в зависимости от того, принадлежит ли эта группа полимерной

99

или неполимерной молекуле. Например, рассмотрим характеристические колебания группы — CH₂—. В неполимерной молекуле CH₂Cl₂ для группы — CH₃ характерны три характеристических колебания: два валентных в интервале 2940—2915 см⁻¹ и 2885— 2860 см⁻¹ и одно деформационное колебание в интервале 1480—1460 см⁻¹. В полимерной молекуле, содержащей группы CH₂, следует ожидать шесть характеристических колебаний: удвоенное число указанных выше трех характеристических колебаний, поляризованных, однако, различным образом — параллельно и перпендикулярно оси цепи.

В таблице 3.17 приведены длины волн наиболее сильных полос поглощения некоторых наиболее часто встречающихся функциональных групп.

Группа	Область поглошения	Группа	Область поглошения
O-H	3760-3360	СН ₃ или СН ₂	1475-1430
C-H	3279-2703	Карбоннл	1850—1650
С-О (ненасыщенный С)	1300-1170	Альдегиды и кетоны	1725-1690
С-О (насыщенный С)	1170-1050	Карбоксил	1700-1670
Карбоксилатные ионы	1610—1560	Аминокислоты	1615—1510

Таблица 3.17 - Волновые числа характеристического поглощения некоторых химических групп

Совершенно очевидно, ЧТО альдегиды, кетоны И карбоксилсодержащие идентифицировать, молекулы нельзя зная положение полосы поглощения только группы С=О, которая входит во все эти молекулы. Однако кроме полосы поглощения, характерной для группы С=О, каждая на этих функциональных групп дает и еще дополнительную характеристическую полосу поглощения; например, альдегидная группа полосу С—Н, карбоксильная —О—Н. И все же ИК спектр не всегда позволяет однозначно решить вопрос о строении и составе вещества, точно его идентифицировать, так как часто одна область спектра соответствует скольким группам, и полосы поглощения перекрываются. Поэтому при рассмотрении ИК спсктра полимера для его идентификации необходимо иметь результаты качественного и количественного элементного анализа.

Очень часто спектр полимера представляет собой сильно «диффузную картину», т. е. все полосы в спектре «размыты». Низкое качество спектра может быть обусловлено двумя причинами:

- макроскопическими дефектами образца, например сильной неравномерностью пленки по толщине или высокой полидисперсностью и неравномерностью расположения частичек полимера втаблетке или суспензии;
- 2) несовершенной молекулярной структурой образца.

К выводам о структуре и свойствах полимера на основе таких спектров следует относиться с большой осторожностью, так как каждая диффузная полоса может состоять из множества неразрешенных компонент.

Наряду с качественным определением строения сложных молекул ИК спектроскопия дает возможность проводить количественный анализ полимеров; например, определять количественный состав сополимера, содержание функциональных групп, степень ненасыщенности, наличие посторонних веществ в полимере и их количество и др.

Важным технологическим приложением ИК спектроскопии является измерение степени кристалличности; это возможно благодаря различиям в положении и интенсивности полос поглощения в спектрах высококристаллического и полностью аморфного полимеров. Однако этот метод необходимо сочетать с другими методами измерения степени кристалличности. В сочетании с другими методами, например ЯМР-спектроскопией высокого разрешения и рентгеноструктурным анализом, ИК спектроскопия может быть использована и для изучения стереохимической структуры макромолекулы.

В ИК спектрах полиэтиленов, полученных различными способами, наблюдаются различия, которые являются результатом отклонения структуры полиэтилена от линейной цепи —СН₂—. На этом основано аналитическое приложение ИК спектроскопии к определению степени ненасыщенности, концентрации метильных групп и боковых ответвлений в полиэтиленах различных марок. Различие спектров окисленного и неокисленного образцов полиэтиленов заметно по появлению в ИК спектре окисленных образцов полосы поглощения карбонильной группы при 5,8 мкм.

Выполнение работы

1. Образцы для анализа приготавливают в виде пленок толщиной 0,4—0,6 мм путем горячего прессования на лабораторном прессе при температуре 150—160 °С и давлении 30 МПа (300 кгс/см²). Для получения образца определенной толщины в пресс-форму вкладывают ограничитель соответствующей толщины с круглыми ячейками. Навеску образца полиэтилена G рассчитывают по формуле [22]

 $G = \pi r^2 \delta \rho$,

где г —радиус ячейки, см; δ —толщина образца, см; ρ —плотность полиэтилена, г/см³.



Рисунок 3.34 – Пример обработки спектра по методу базовой линии [22]

2. В качестве аналитической полосы для проведения количественного анализа используют полосу при 1720 см⁻¹, соответствующую валентным колебаниям карбонильных групп кетонного и альдегидного типа. Поэтому спектры исследуемых образцов снимают в области 1600—1800 см⁻¹.

3. Определяют значение оптической плотности в максимуме полосы поглощения при 1720 см⁻¹ методом базовой линии.

На рисунке представлен пример обработки спектрограммы для количественного анализа. Базовой линией называют касательную к минимумам измеряемой полосы поглощения. Так, для полосы А процент пропускания может быть рассчитан по формуле $T_{\rm A} = (I_{\rm A1}/I_0) \cdot 100$ [или = $(T_{\rm A1}/T_0) \cdot 100$, так как $I_{\rm A1}/I_0 = T_{\rm A1}/T_0$], а для расчета оптической плотности необходимо воспользоваться выражением $D_A = lg(I_0/I_A)$.

4. По вычисленному значению оптической плотности определяют содержание карбонильных групп ($M_{\rm CO}$) в полиэтилене, пользуясь расчетной формулой:

$$M_{CO} = K \frac{D_{1720}}{\delta},$$

где K=0,0433 — постоянный коэффициент; D_{1720} — оптическая плотность образца в максимуме аналитической полосы; δ — толщина образца, см. Задание

1) Запишите ИК спектры термоокисленных и нетермоокисленных пленок ПЭ;

2) По полученным ИК спектрам объясните различие в строении окисленного и неокисленного ПЭ;

3) Используя закон Бугера-Ламберта-Бера, определите содержание карбонильных групп С=О в термоокисленных пленках полиэтилена по ИК полосе поглощения на частоте ~1720 см⁻¹.

Контрольные вопросы

- 1) Каковы возможности методов ИК спектроскопии при изучении химических реакций с участием полимеров?
- 2) Приведите две формы записи закона Бугера-Ламберта-Бера: интегральную и дифференциальную.
- 3) Поясните сущность метода определения количественного содержания той или иной функциональной группы.
- 4) Почему при сравнении термоокисленной пленки и нетермоокисленной их толщина должна быть одинаковой? Как толщина образца влияет на вид спектра?

3.3.6 Кинетика полимеризации полимерных композитов

Цель работы: рассчитать константу скорости полимеризации; определить влияние наночастиц на константу скорости полимеризации.

Материалы: композиции из смеси мономерных акрилатов (2карбоксиэтилакрилат, 2,6-гександиолдиакрилат, фотоинициатор)

Приборы: УФ-лампа, ИК спектрометр Tensor 37.

Краткая теория

Поскольку ИК спектры мономеров отличаются от спектров соответствующих полимеров, можно использовать ИК спектроскопию для мониторинга реакций полимеризации. Этот метод также широко применяется для изучения реакций отверждения. Например, степень сшивки эпоксидных смол с аминами может быть исследована с помощью полос растяжения С–О и С–Н, поскольку процесс сшивания включает раскрытие эпоксидного кольца. Например, оптическая плотность полос 912 и 3226 см⁻¹ может быть измерена как функция времени, чтобы проследить реакцию.

ИК спектроскопия успешно применяется изучения ДЛЯ Спектроскопия с нарушенным полиуретановых реакций. полным внутренним отражением (НПВО) особенно полезна для мониторинга ИК спектров реакционной смеси в течение коротких интервалов времени и для характеристики хода реакции. Например, скорость потребления свободных конкурентное образование изоцианатных групп И уретановых, изоциануратных и мочевинных связей может быть выведено из уменьшения режима растяжения N=C=O при 2275 см⁻¹ и увеличения C=O-моды растяжения при 1725, 1710 и 1640 см⁻¹ соответственно.

Качество процесса полимеризации, инициируемой (УФ) ультрафиолетовым излучением, характеризуется желаемыми материалов. Проектирование процесса УФ-отверждения свойствами связано с хорошей корреляцией результатов конечного отверждения с использованной энергией УФ излучения. Такие параметры отверждения, как время отверждения, скорость отверждения, которая зависит от реакционной способности составов, а также от степени отверждения смол, которая зависит главным образом от химической структуры остова олигомера, существенно влияют на свойства отвержденных материалов. Именно поэтому изучение кинетики УФ полимеризации очень важно.

Ha сегодняшний день наибольшее внимание уделяется свободнорадикальным системам, основанным в основном на акрилатах и метакрилатах, из-за большого количества радикальных фотоинициаторов, доступных на рынке, и из-за относительно меньшей стоимости акрилатов по сравнению с эпоксидными смолами. Однако есть несколько вопросов, связанных с такими системами. Это относится, в частности, к относительно высокой летучести мономеров и высокой вязкости олигомерных материалов. Кроме того, свободнорадикальная фотоиндуцированная полимеризация ингибируется кислородом и в большинстве случаев должна проводиться в инертной атмосфере. Свободнорадикальная полимеризация прекращается сразу же после удаления источника излучения.

Характер УФ-процесса сам по себе позволяет отверждению происходить очень быстро, но с учетом природы материалов, их химической структуры, условий отверждения и т.д. кинетические характеристики данного процесса могут изменяться.

Кинетические расчеты основаны на уравнении Сестака и Берггрена:

$$R_T = \left(\frac{da}{dt}\right)_{t,T} = k(T)a^m(1-a)^n(-\ln[1-a])^p,$$
(1)

где *a* - степень конверсии мономера; *k* – константа скорости; *m* - порядок инициирования реакции; *n* - порядок реакции распространения, а *p* - порядок реакции прекращения.

Чтобы упростить уравнение (1), мы рассмотрим только начало процесса полимеризации. При этом значение р в уравнении 1 можно принять равным 0. Таким образом, можно получить упрощенную автокаталитическую кинетическую модель, которая дает нам следующее уравнение скорости:

$$R_T = \left(\frac{da}{dt}\right)_{t,T} = k(T)a^m(1-a)^n.$$
 (2)

Наконец, если реакция следует кинетике *n*-го порядка, общее

уравнение скорости будет следующим:

$$R_T = \left(\frac{da}{dt}\right)_{t,T} = k(T)(1-a)^n.$$
(3)

Значения *k* и *n* могут быть определены из кривой *ln* - *ln* зависимости $d\alpha/dt$ от [$\alpha^{m/n}(1-\alpha)$], полученной из уравнения (2):

$$\ln \frac{d\alpha}{dt} = \ln k + n \ln \alpha^{m/n} (1 - \alpha) \tag{4}$$

При применении автокаталитического уравнения значение *n* поддерживалось фиксированным на уровне 1,5, а значение *m* + *n* равным 2. Поддержание фиксированных значений *n* и *m* + *n* дает более согласованные результаты.

Степень конверсии мономеров из ИК спектральных данных определяется по изменению интенсивности определенных полос в спектрах исследуемой композиции. Как правило, такой полосой является полоса поглощения, характерная для связей С=С, количество которых уменьшается в процессе полимеризации. Таким образом, степень конверсии с помощью ИК спектров можно рассчитать следующим образом:

$$\alpha = 1 - \frac{D(\sim 1635)}{D_0(\sim 1635)}.$$
(5)

Выполнение работы

1) Запись ИК спектров

- а. Получите смесь акриловых мономеров с инициатором УФполимеризации.
- b. Поместите каплю исследуемой смеси на кристалл НПВО и накройте пленкой ПЭТФ для предотвращения ингибирования кислородом воздуха.
- с. Запишите ИК спектр исходной смеси. Это ИК спектр в момент времени 0 секунд.
- Установите в настройках спектра количество сканирований 5 сканов
 таким образом на запись спектра уходит 5 секунд.
- е. Установите в настройках записи спектра режим повторения запись спектров без задержки, количество повторов 40.
- f. Включите УФ лампу и запустите процесс записи спектров.
- g. Спектры исследуемой композиции необходимо записывать до тех пор пока 5 спектров в диапазоне исследуемой полосы поглощения не повторят интенсивность друг друга (лягут поверх друг на друга).

- h. Остановите запись спектров. Снимите с кристалла НПВО заполимеризованную пленку.
- i. Повторите эксперимент с композицией, содержащей наночастицы SiO₂ (или ZnO).

2) Обработка спектров

- a. Загрузите группу спектров композиции без наночастиц в программу OPUS.
- b. Скорректируйте базовую линию для всех спектров.
- с. Найдите полосу поглощения, отвечающую связям C=C. На каком волновом числе находится эта полоса поглощения?
- Выпишите интенсивность полос поглощения связи C=C. Время между спектрами 5 сек. Рассчитайте по формуле (5) степень конверсии мономеров. Внесите данные в таблицу:

Время, сек	Интенсивность	Степень конверсии мономеров α
0		
5		

е. Повторите данную обработку и вычисления для группы спектров композиций, содержащей наночастицы SiO₂ (или ZnO).

3) Расчет константы скорости полимеризации

- а. Для каждого из составов рассчитайте константу скорости полимеризации по формуле (4)
- 4) Сделайте выводы о влиянии наночастиц на скорость полимеризации.

Каковы возможные причины различия в константах полимеризации?

Контрольные вопросы

- 1) В каких полосах поглощения, кроме полос, ответственных за колебание C=C связи, вы наблюдаете изменения в процессе полимеризации?
- 2) Какие еще химические реакции можно исследовать методом ИК спектроскопии?
- 3) Что такое степень конверсии мономеров? Чем она отличается от степени полимеризации?

3.3.7 Исследование поверхности многослойных полимерных материалов

Цель работы: исследование поверхности и идентификация состава клейкой ленты с помощью метода нарушенного полного внутреннего отражения.

Материалы: образцы изоленты и скотча.

Приборы: ИК спектрометр Tensor 37, приставка НПВО.

Краткая теория

Поверхностные свойства полимера важны во многих областях, в которых используются эти материалы, включая клеи, лаки, металлизацию и композиты. ИК спектроскопические методы, такие как ослабленное полное отражение, диффузное отражение, зеркальное отражение и фотоакустическая спектроскопия, позволяют охарактеризовать свойства поверхности с точностью до микрон.

Спектр НПВО пленки из нейлона 6 показан на рисунке 3.35. Было показано, что глубина отбора проб для полимерных материалов примерно в три раза больше d_p. Глубины отбора проб для полимера с показателем преломления 1,5, исследованного с использованием элемента НПВО из ZnSe 45°, были рассчитаны для различных волновых чисел и перечислены в таблице 3.18. Глубина отбора проб в этом случае обычно составляет 2–6 мкм.



Рисунок 3.35 - Спектр НПВО пленки из нейлона 6
Волновое число (см-1)	Глубина отбора проб
	(мкм)
900	6.3
1600	3.5
3000	1.9

Таблица 3.18 - Глубина отбора проб для полимера с использованием элемента НПВО из ZnSe 45 $^\circ$

ИК спектроскопия - это устоявшаяся процедура судебно-медицинской экспертизы самоклеящихся клейких лент. Спектроскопия НПВО - это часто выбираемый метод, поскольку он может использоваться для получения спектров поверхностей как клейкой, так и задней стороны образца ленты. Техника «Micro-ATR» особенно полезна для таких приложений, поскольку показания на магнитной ленте, представленные для исследования, могут быть загрязнены, и только очень небольшие участки могут быть пригодны для анализа. Для производства клейких лент используется ряд полимеров акрилата, полиэтиленовая клеи основе основа (изолента), на полипропиленовая поливинилхлоридная основа (изолента), основа (упаковочная лента) и основа из ацетата целлюлозы (офисная лента).

Выполнение работы

- 1) Исследуйте образец изоленты.
- Запишите ИК спектр с помощью приставки НПВО с обратной стороны изоленты. Идентифицируйте полимерный материал основы изоленты.
- 3) Запишите ИК спектр клейкой стороны изоленты, прижимая образец к кристаллу приставки НПВО и спектр клейкого остатка на кристалле.
- 4) Идентифицируйте материал клейкого слоя.
- 5) Наблюдаются ли в спектре клейкой стороны ленты, прижатой к кристаллу приставки НПВО, полосы поглощения полимерного материалы основы изоленты? Оцените толщину клейкого слоя изоленты.

Контрольные вопросы

- 1) В чем суть метода НПВО?
- 2) В чем плюсы записи ИК спектров с помощью приставки НПВО?

3.4 Применение ИК спектроскопии в геологии 3.4.1 Исследование связанной воды в минералах

Цель работы: изучение OnHm группировок в минералах по ИК спектрам поглощения.

Приборы и принадлежности: ИК спектрометр, набор образцов для снятия спектров или набор ИК спектров минералов.

Краткая теория

Водород в минералах чаще всего связан с кислородом. Образовавшаяся группа ОН очень полярна. Поскольку этот направленный диполь является эффективным поглотителем света в инфракрасной области, инфракрасная спектроскопия является мощным инструментом в изучении водорода в минералах.

Различают две основные категории водорода в минералах: (1) стехиометрические водородсодержащие минералы, которые содержат водород, который обычно считается важным для структуры минерала и который явно фигурирует в химической формуле минерала; (2) следовые количества водородсодержащих минералов, включая все случаи, когда водород может быть обнаружен в минерале, но это не является существенным для структурной идентичности минерала. Стехиометрический водород присутствует в гипсе как H₂O и в слюде как OH⁻. Примеры следов водорода включают водород в кордиерите (H₂O) и кварце (OH⁻).

Минералы, содержащие водород, в следовых количествах или стехиометрические, обычно называют «водными» или «водоносными». Эта номенклатура отражает тот факт, что нейтральные частицы H₂O - это то, что на самом деле измеряется обычными аналитическими методами. Мы следуем этому соглашению, когда состав водорода неизвестен, или мы имеем в виду реальные аналитические измерения. Наиболее важные области применения ИК спектроскопии при изучении водных минералов: определение фактического состава водорода, (1)(2) определение кристаллографической среды ЭТОГО вида и (3) определение его аналитической концентрации.

Наиболее распространенным видом водорода является H_2O . Спектр жидкого H_2O показан на рисунке 3.36. Основными особенностями рисунка 3.36 являются полосы с волновым числом 1635 см⁻¹ и волновым числом 3345 см⁻¹. Это фундаментальные поглощения молекулы H_2O . Поглощение с волновым числом 1635 см⁻¹ связано с изгибом молекулы H_2O , а полоса с волновым числом 3400 состоит из симметричного растягивающего поглощения с волновыми числами 3220 и антисимметричного растягивающего в диапазоне от 3800 до 3000 волновых чисел типично для валентного

колебания О-Н, и его присутствие является первым признаком того, что минерал содержит водород.



Рисунок 3.36 – ИК спектры H₂O и D₂O

Частоты максимумов полос поглощения для различных видов воды приведены в таблице 3.19. На поверхности кремнезёма, кроме свободных групп OH ($v = 3750 \text{ см}^{-1}$), существуют группы OH, связанные водородной связью ($v = 8550 \text{ см}^{-1}$), которые начинают удаляться при температуре 200°С, а также гидроксильные группы, возмущенные водородной связью, находящиеся внутри глобул ($v = 1650 \text{ см}^{-1}$). При нагревании удаляются вначале связанные гидроксильные группы, затем внутренние. Отдельные гидроксильные группы связаны с поверхностью очень прочно и удаляются только под откачкой при температуре не ниже 300°С.

Таблица 3.19 - Частоты максимумов полос поглощения для различных видов воды [24]

Мономеры	H ₂ O	HDO	D_2O
	3725,7		2764,6
Валентные колебания		3680,4/2705,1	
	3632,5		2655,0
Деформационные	1596,9	1405,4	1179,2

На рисунке 3.37 схематически показан тип движения, составляющий колебания H_2O . В молекуле три атома, и поэтому движения этих атомов имеют $3x_3 \sim 9$ степеней свободы. Три из них - это перемещения всей молекулы $(T_{x, y, z})$, а три - вращения всей молекулы $(R_{x, y, z})$ вокруг взаимно перпендикулярных осей. Это оставляет 3 степени свободы, представляющие

внутренние колебания молекулы, когда атомы движутся относительно друг друга. Эти три колебания обозначены как v_1 , v_2 и v_3 . Это симметричное растяжение, изгиб и асимметричное растяжение, соответственно, молекулы H₂O. Теория групп показывает, что v_1 и v_2 возникают, когда падающий свет поляризован в направлении оси симметрии второго порядка молекулы H₂O, а v_3 возникает, когда падающий свет перпендикулярен этому направлению, но в плоскости молекулы. Наиболее интенсивные полосы поглощения H₂O являются фундаментальными. Комбинированные режимы имеют очень низкую интенсивность. Также возможно, что полосы, которые «не допускаются» по симметрии, имеют небольшую, но наблюдаемую интенсивность из-за ограничений в предположениях, используемых для расчета правил выбора.



Рисунок 3.37 – Валентные и деформационные колебания воды

Спектры поглощения OH_2 , OH_3 -групп. Свободная молекула H_2O имеет три основных нормальных колебания, которым в парах соответствуют частоты в см⁻¹: 1595 (деформационное колебание δ), 3654 (симметричное валентное колебание v_s) и 3756 (антисимметричное валентное колебание v_{as}).

Полосы поглощения, обусловленные частотами антисимметричных и симметричных колебаний, при записи спектра на стандартных приборах средней дисперсии сливаются в одну широкую полосу, максимум которой имеет значение 3400 см⁻¹. В табл. 3.20 приведены значения максимумов полос поглощения воды в различных агрегатных состояниях.

Область около 700 см⁻¹ в инфракрасном спектре жидкой воды принадлежит либрационным (вращательным) колебаниям молекул воды.

Максимумы частот колебаний молекул воды зависят от того, в каких соединениях они находится.

Деформационное колебание δH_2O , расположенное в спектре жидкой воды $\nu \sim 1650 \text{ см}^{-1}$, занимает в большинстве кристаллогидратов узкий интервал спектра между 1670 и 1390 см⁻¹. Деформационные колебания $(H_3O)^+$ наблюдаются вблизи 1700 см⁻¹, частота колеблется в пределах 1670-1750 см⁻¹. Другое деформационное колебание иона $(H_3O)^+$ расположено вблизи 1150 см⁻¹.

Чтобы получить информацию о формах вхождения воды в минералах по ИК спектрам, необходимо исследовать области частот, ответственных за поглощение ОН-групп. Итак, для определения ОН_n группировок в минералах необходимо выделить области частот в спектре, которые поглощают ОН-группировки.

L J				
N⁰	Частота см ⁻¹	Итерпретации		
1	1620	$OH(\delta) H_2O$	Деформационные колебания H ₂ O	
2	3320	$OH(v) H_2O$	Валентные колебания H ₂ O	
3	3320	$OH(v) H_2O$	- -	
4	3400	$OH(v) H_2O$	- -	
5	3620	$OH(v) H_2O$	Валентные колебания H ₂ O в пограничном слое	
6	3640	ОН(v) струк.	Структурные колебания ОН групп	
7	3780	ОН(и)струк.	- -	
8	3712	OH(v) струк.	- -	

Таблица 3.20 - Отношение частот валентных и деформационных колебаний [24]

Вода в кристаллической среде, свободная от протяженных сетей с водородными связями, типичных для жидкой воды, может производить более резкое поглощение, чем это происходит в спектре жидкой воды. На рис. 3.38 представлен спектр талька CaSO₄ • 2H₂O. Две моды растяжения около 3400 волновых чисел хорошо разделены друг от друга и смещены от своего положения в жидкой воде. Изгибные моды около 1620 волновых чисел являются доказательством присутствия молекулы H₂O. Они содержат дополнительную структуру, отсутствующую в спектре жидкой воды из-за взаимодействия между молекулами воды. Селенит содержит только ОНгруппы и не содержит молекулярного H₂O, поэтому изгибные колебания должны отсутствовать. Из-за сильного поглощения групп Si-O-Si наблюдать деформационные колебания -ОН группы крайне проблематично, поэтому проверить наличие ОН группы в минерале легче всего в ближней ИК области 1900 нм. Наличие или отсутствие поглощений, связанных с изгибом, является основным различием между двумя основными видами водорода, H₂O и OH. Вода обычно присутствует в минералах в виде жидких включений в межслоевом пространстве. На рисунке 2.39 представлен ИК спектр цеолита. Присутствие адсорбированной воды в его порах можно обнаружить на ИК спектре по наличию широкой полосы поглощения в 3500-3000 $\mathbf{C}\mathbf{M}^{-1}$. диапазоне Чтобы отличить жидкую воду OT кристаллографически связанной воды, спектры часто получают при криогенных температурах.



Рисунок 3.38 - ИК спектры талька (1) и селенита (2)



Рисунок 3.39 – ИК спектр цеолита

Выполнение работы

- 1 Подготовить образцы минералов для съемки ИК спектров, или получить набор спектров различных минералов, содержащих OnHm-группировки.
- 2 Записать ИК спектры набора минералов с помощью приставки НПВО.
- 3 Расшифровать полученные или предложенные ИК спектры в области колебаний ОН-связи.
- 4 Составить таблицу найденных вами частот и сделать отнесение частот колебаний в области валентных и деформационных колебаний ОН-связи.
- 5 Провести анализ полученных результатов.

Контрольные вопросы

- 1 В каком состоянии находится вода в минералах?
- 2 Что такое связанная вода?
- 3 Основные разновидности воды.
- 4 Что такое водородная связь?
- 5 Что такое кристаллизационная вода, структурная вода, абсорбированная вода, чем они отличаются?
- 6 Спектры воды в различных агрегатных состояниях.

3.4.2 Анализ минералов методом ИК спектроскопии

Цель работы: научиться расшифровывать спектр минералов, освоить навыки качественного анализа минералов.

Приборы и принадлежности: ИК спектрометр, картотека спектров минералов.

Краткая теория

Для идентификации вещества можно использовать любой физический или химический метод анализа. Что касается минералов, метод ИК спектроскопии отличается быстротой и точностью, требуя лишь небольшого количества материала.

Большой диапазон длин волн ИК излучения, который может быть зарегистрирован на современной аппаратуре (от 400 до 4000 см⁻¹), позволяет достаточно уверенно отличить один минерал от другого, потому что на практике мы ни в коем случае не встречаем минералов с полностью идентичными спектрами поглощения.

Для успешного использования ИК спектроскопии в диагностике минералов необходимо учитывать основные факторы, влияющие на положение основных и характеристических полос поглощения в ИК спектрах минералов. Этими факторами являются: V_k и V_a - валентности катиона и аниона; CN - координационное число катиона; d - межатомное расстояние катион-анион; M - приведенная масса катиона, равная сумме атомных масс данного катиона и всех анионов, которые координируют его, k - коэффициент относительной прочности связи, который изменяется от 1 до 2 в зависимости от степени ковалентности связи. Взаимодействие всех вышеупомянутых факторов можно суммировать в основной формуле, которая позволяет рассчитать относительную прочность связи о между соседними атомами в структуре кристалла:

$$\sigma = \frac{k(V_k \cdot V_a)}{CN \cdot d \cdot \sqrt{M}}.$$

Между значением σ и частотой валентного колебания v_3 многогранника XOn существует соотношение: $v_{va1} = A\sigma$ сm⁻¹ (2) где A - коэффициент пропорциональности, зависящий (при постоянной валентности аниона) от валентности катиона. Поскольку отталкивание между атомами X и O в радикале XOn уменьшается с уменьшением валентности атома X, значения коэффициента A постепенно увеличиваются в том же направлении (таблица 3.21).

Таблица	3.21 -	- Значения	коэффициента	A	для	разной	валентности	И
координа	ции атс	мов в поли	эдрах					

Валентность	Вел	ичина коэффициен	та А
центрального		многогранники	
атома (катион)	XO_3	XO_4	XO_6
1	8100	10600	13000
2	5800	7800	9800
3	4200	6000	7600
4	3100	4800	6400
5	2100	3800	5300
6	-	3000	4600

Некоторые факторы в уравнении 1 вносят гораздо больший вклад, чем другие, в изменение относительной прочности сцепления. Наиболее важными являются валентность атомов V_k и V_a координационное число (*CN*) и масса атомов (*M*). Менее важны межатомные расстояния (*d*) и коэффициент относительной прочности связи (*k*), которые варьируются в более узких пределах.

Валентность атомов

Поскольку подавляющее большинство минералов представляют собой комбинации кислорода и сульфидов, наиболее важный вклад в изменение прочности межатомных связей вносят катионы, валентность которых варьируется от 1 до 6. Увеличение валентности катиона на единицу значительно смещает полосу поглощения v_3 в более высокие частоты. Еще большая разница в положении полос поглощения v_3 наблюдается при переходе от кислородных комбинаций к галогенидам, когда валентность обоих атомов изменяется, например MgO - NaCl или KF - CaS и т. д. Естественно, ИК метод очень удобен для определения в минералах реальной валентности тех элементов, которые имеют переменную валентность (например, Ti, V, Mn, Fe, Cu, As, Se, Sn и т.д.

Координационное число атомов

Валентное колебание v₃ скачкообразно смещается в сторону более высоких частот (или более сильных связей) с уменьшением

координационного числа. Этот сдвиг возникает не только из-за увеличения атомных расстояний, но и из-за увеличения квантово-механического взаимодействия (резонирующие связи). При уменьшении координационного числа на порядок 6, 4, 3, 2 это взаимодействие увеличивается на порядок 0.75, 0.8. 0.9, 1.0. Конечно, более отчетливо такой сдвиг наблюдается в случае изменения координационного числа высоковалентными и легкими атомами (например, Si, B, Al, Be и т. Д.).

Масса атомов

Увеличение атомной массы в составе минерала приводит к снижению частоты. Естественно, что величина этого сдвига в изоструктурных минералах пропорциональна разности квадратных корней из общих атомных весов. Это очень заметно при сравнении ИК спектров аналогичных пар комбинаций, особенно в следующих классах: силикаты и германаты, фосфаты и арсенаты, сульфаты и селенаты. Для каждой пары полосы поглощения радикалов с более тяжелым элементом смещены вправо более чем на 200-300 см⁻¹. Конечно, помимо массы атомов, на величину этого сдвига также влияет увеличение межатомных расстояний.

Очевидно, что каждый минерал состоит из набора различных катионанионных полиэдров определенного состава, размеров и массы, а прочность межатомной связи зависит от взаимосвязи этих полиэдров. Пределы частот колебаний в данном классе минералов зависят от изменения состава, размеров и массы атомов в этом классе. Подставляя в уравнение (1) структурные данные минералов, легко вычислить пределы колебаний значений относительной прочности связи о в каждом классе. Но еще проще сделать это экспериментальным путем по ИК спектрам минералов.

На диаграммах показаны пределы максимумов полос поглощения валентных v_s и деформационных δ колебаний для замкнутых (рис. 3.40) и открытых (рис. 3.41) сочетаний, существующих в минеральном царстве [25].

Из рисунков 3.40 и 3.41 и таблицы 3.22 следует, что площади пиков поглощения v3 и v4 для классов минералов сильно перекрываются, что является серьезным препятствием для уверенного использования одного только ИК метода для точного определения минеральных видов. Как всегда В таких случаях, приходится прибегать К дополнительным (микрохимическим, оптическим или рентгеновским) методам исследования. Особенно полезно знать расположение полос поглощения молекул H₂O и групп OH, которые являются неотъемлемой частью большинства минералов сложного состава.



Рисунок 3.40 - Пределы частот характеристических колебаний «замкнутых» многогранников в ИК спектрах минералов [25]



Рисунок 3.41 - Пределы частот характеристических колебаний важные «открытые» многогранники в ИК спектрах минералов [25]

	Частота			Часто	ота
Классы или	характеристического		Классы или	характеристического	
радикалы	колеба	ния	радикалы	колеба	ния
	v ₃	v_4		v ₃	ν_4
Vanform	1570-1500	765 675	Горонноти	850 700	400 220
кароонаты	1475-1390	/03-0/3	беррилаты	830-700	400-520
Нитраты	1430-1350	750-695	Алюминаты	840-760	460-380
Бораты	1315-1190	680-605	Титанаты	800-690	
Сульфаты	1200-1080	680-580	Ферриты	660-540	-
Фосфаты	1140-960	650-525	Магнезиты	620-500	170-130
Ортобораты	1040-940	570-500	Цинкаты	570-450	140-100
Силикаты	1000-830	540-435	LiO ₄ ⁷⁻	460-370	-
Арсенаты	900-760	420-310	FeO ₄ ⁶⁻	400-320	-
Ванадаты	880-740	390-310	SiO ₆ ³⁻	880-670	
Селенаты	870-800	415-375	AlO ₆ ⁹⁻	700-580	200-140
Молибдаты	850-790	370-330	TiO ₆ ⁶⁻	580-430	-
Вольфраматы	815-785	340-295	FeO ₆ ⁹⁻	560-400	-
Йодаты	825-720	400-320	MgO ₆ ¹⁰⁻	420-300	130
Селениты	770-720	390-350	ZnO_6^{10-}	370-270	-
Теллуриты	700-650	375-315	LiO_{6}^{11-}	320-230	-

Таблица 3.22 - Пределы характеристических колебаний «замкнутых» и «открытых» атомных полиэдров в минерале [25]

Существует еще один метод определения минералов по ИК спектрам. Это метод визуального сравнения экспериментальных ИК кривых со стандартными ИК спектрами минералов [26,27].

На рисунке 3.42 представлены ИК спектры минералов. Тальк – минерал из класса силикатов со структурной формулой Mg₃Si₄O₁₀(OH)₂.

В ИК спектре талька наблюдается характерная для силикатов (Si-O-Si) полоса поглощения около 1000 см⁻¹ (полосу v₄ мы не можем наблюдать в данных координатах). Полоса поглощения при 666 см⁻¹ отражает связь Si-O-Mg. Полосы при 3441 и 3676 см⁻¹ приписываются колебаниям гидроксильных групп, связанных с Si (Si-OH) и Mg (Mg-OH) соответственно [28]. Другой пример минерала – кальцит. Это одна из природных форм карбоната кальция (CaCO₃). Характерными для этого минерала полосами поглощения явяются 1795 (v₁ - v₄), 1395 (v₃ - асимметричные валентные колебания CO₃), 872 (v₂ - асимметричные деформационные колебания CO₃), 712 см⁻¹ (v₄ - симметричные деформационные колебания CO₃) [29]. Апатит – группа минералов класса фосфатов (Ca₅[PO₄]₃(F,Cl,OH)). Для него характерны полосы поглощения фосфата: 1091 и 1025 (v₃ - асимметричные валентные колебания PO₄), 963 см⁻¹ (v₁ PO₄), 650 (v₄ PO₄). Полосы при 745 и 671 см⁻¹ принадлежат колебаниям OH-ионов связей OH-F и OH-O,

соответственно. Полосы в области 745-720 см⁻¹ в спектрах апатита также можно отнести к симметричным валентным колебаниям мостиковых связей P-O-P, образованных конденсацией тетраэдра PO₄³⁻ [30], и т.д. На этих примерах показано, как осуществляется идентификация минералов по их ИК спектрам.



Рисунок 3.42 – ИК спектры некоторых минералов, полученные с помощью приставки НПВО

Порядок выполнения работы

I часть:

- 1. Приготовьте образцы минералов для записи ИК спектров.
- 2. Запишите и изучите ИК спектры выбранных минералов
- 3. Расшифруйте спектры минералов.
- 4. Сделайте отнесение полос, начиная с области валентных колебаний ОН-связи, затем деформационных колебаний. Найти в спектре полосы, ответственные за SiO-связи.
- 5. Найденные вами полосы поглощения сравните с картотекой минералов и определите записанный вами минерал.

II часть:

- 1. Получите снятые спектры известных минералов.
- 2. Расшифруйте спектры минералов, найдите характерные частоты для данного минерала.
- 3. Сделайте отнесение полос.
- 4. Составьте таблицы найденных вами частот, например:

№/п.	v_{max}, cm^{-1}	Интерпретация
1	3620	ОН вал.
2	3450	H ₂ O вал.
3	1620	Н ₂ О деф.
4	980	Si-O
5	860	Si-O-Al
6	530	Si-O-Al
7	480	Si-O

Таблица частот в спектре мусковита и их отнесение

Контрольные вопросы

- 1. Как проводят интерпретацию спектров минералов и пород методом сравнения?
- 2. Что такое характеристические частоты?
- 3. Как проводится отождествление полос поглощения с помощью характеристических частот?
- 4. Какие характерные особенности имеют ИК спектры слоистых минералов?
- 5. Как по валентным колебаниям ОН-связи в слюдах отличить мусковит от флогопита?
- 6. Как по ИК спектру отличить гидратированные слюды от менее гидратированных?

3.4.3 Исследование спектральных свойств нефтей и определение структурно-группового состава

Цель работы: познакомиться с применением ИК спектроскопии к исследованию нефтей; исследовать структурно-групповой состав нефти с помощью спектроскальных коэффициентов.

Приборы и материалы: ИК спектрометр, набор нефтей различного происхождения.

Краткая теория

Сырая нефть сегодня является самым важным ископаемым топливом в мире и основным материалом для огромного количества продуктов в обществе. Сырая нефть в основном используется для производства транспортного топлива, такого как бензин, дизельное топливо и керосин, но она также является основным источником для синтеза ряда полимеров, парафинов и битумов. Местные условия во время образования сырой нефти различны, и по этой причине молекулярный состав сырой нефти может быть разнообразным. Прежде всего, сырые нефти содержат большое количество разнообразных органических соединений. Основная фракция всегда состоит из углеводородов и составляет от 97 мас.% в легкой сырой нефти и до примерно 50 мас.% в битумных и битуминозных песках. Большинство из них представляют собой линейные и разветвленные алканы, циклоалканы и (полициклические) ароматические соединения, но точный состав зависит от геологических условий, в которых она образовалась.

Чтобы проиллюстрировать большое разнообразие углеводородного состава сырой нефти, диапазон относительных весовых процентов для классов соединений парафинов, нафтенов, ароматических углеводородов и асфальтенов приведен в таблице 3.23.

Таблица 3.23 - Среднее и диапазон относительного процентного содержания четырех типов углеводородов, выраженных в массовых процентах, присутствующих в сырой нефти

Углеводородный тип	Среднее значение (вес.	Диапазон
	%)	(Bec.%)
Парафины	30	15-60
Нафтены	49	30-60
Ароматика	15	3-30
Асфальтены	6	5-50

Асфальтены определяются как фракция сырой нефти, которая растворяется не в н-гептане или н-гексане, а в бензоле или толуоле. Это самая тяжелая и самая полярная фракция масла, которая достигает высоких концентраций в остатках после экстракции или дистилляции более легких фракций. По очевидным причинам асфальтены являются основным источником проблем для нефтяной промышленности при добыче, смешивании, крекинге, хранении и т. д. Кислородсодержащие соединения практически не присутствуют в сырой нефти из-за анаэробных условий во время генезиса. Однако существенную часть составляют соединения азота и серы, в частности бензотиофены.

Из вышеописанного ясно, что сырая нефть может иметь различный состав и, следовательно, различные химические и физические свойства. По многим причинам знание этих свойств очень важно. Прежде всего, они определяют потенциальную применимость и, следовательно, экономическую оправданность эксплуатации нефтяного пласта. Кроме того, информация о составе сырой нефти имеет решающее значение для выбора переработки последующих процессов и условий переработки.

По этой причине определение физико-химических профилей или так называемых анализов сырой нефти является обычной практикой в нефтяной промышленности. Эти тесты предоставляют не только более общую информацию, такую как, например, распределение насыщенных, ароматических соединений, смол, асфальтенов (SARA), но также ряд химических и физических свойств, которые важны для инженеров нефтепереработки, нефтетрейдеров и производителей.

В качестве быстрой и жизнеспособной альтернативы стандартным анализам нефти спектроскопические методы были предложены еще в 1995 году, поскольку соответствующие спектры отражают полный молекулярный состав сырой нефти.

Однако многокомпонентность состава, внутри- и межмолекулярная структура нефтяных систем обусловливают сложную (по сравнению со спектрами индивидуальных соединений) картину перекрывания И наложения характеристических полос с искажением их формы И интенсивности. Это В значительной степени усложняет прямую качественную интерпретацию, а количественные расчеты, связывающие интенсивность поглощения в ИК спектрометрии с содержанием той или иной функциональной группы (структурного фрагмента), не представляются возможными. Поэтому зачастую использование ИК спектрометрии для анализа нефтей и нефтепродуктов сводится к разработке косвенных идентификации и определения содержания (соотношения методик содержания) структурных фрагментов (СН₂-, СН₃- и др.) углеводородов (в идеале – членов одного гомологического ряда), смолисто-асфальтеновых веществ, гетероатомных соединений и др.



Рисунок 3.43 – Типичные ИК спектры пропускания нефтей из двух различных месторождений

Использование ИК спектрометрии в настоящее время является общепринятым подходом при выполнении комплексных исследований состава нефтей различных месторождений. Структурно-групповой состав нефтей и компонентов определяется по интенсивности характеристических полос поглощения в ИК спектрах с использованием общей базовой линии с фиксированными точками 1850 и 650 см⁻¹ (рисунок 3.43). Для средней молекулы оценивается содержание метиленовых групп (CH₂) по полосе поглощения 720 см⁻¹, метильных групп (CH₃) по полосе поглощения 1380 см⁻¹, сульфоксидных групп (SO) по полосе поглощения 1030 см⁻¹ и карбонильных групп (C=O) в области 1720–1700 см⁻¹ относительно ароматических связей С=С-связей по полосе поглощения 1600 см⁻¹.

На основании полученных данных об интенсивностях указанных полос поглощения рассчитываются следующие спектральные коэффициенты:

Коэффициент	Формула		
Степень разветвленности	$b_{1464}^{720} = \frac{n_{1464}}{n_{720}}$.	представляет собой отношение интенсивностей наиболее характерных полос поглощения для CH ₃ - и CH ₂ - групп	Чем больше это соотношение, тем выше степень разветвленности парафиновых структур в нефти и нефтепродуктах.

Степень алифатичности	$C_{a \pi} = D_{720+1380}/D_{1600};$		Чем больше это соотношение, тем меньшее степень ароматизации нефтепродуктов
Показатель окисленности	$C_{O} = D_{1710} / D_{1465}$		
Показатель осерненности	$C_{S} = D_{1030} / D_{1465}$		
Степень ароматичности	$b_{1600}^{720} = \frac{n_{1600}}{n_{720}}$	для ароматических структур относительно метиленовых групп парафиновых структур	Чем больше это соотношение, тем
	$b_{1600}^{1464} = \frac{n_{1600}}{n_{1464}} .$	для ароматических структур относительно метильных групп парафиновых структур	больше степень ароматизации нефтепродуктов

Выполнение работы

- 1) Получите тестовый набор образцов нефтей различного происхождения;
- 2) Запишите образцы нефтей в режиме пропускания с помощью жидкостной кюветы с толщиной слоя 250 мкм;
- 3) Скорректируйте базовую линию полученных спектров в меню Manipulate -> Baseline correction впрограмме OPUS
- 4) С помощью представленных спектральных коэффициентов оцените структурно-групповой стостав исследуемых нефтей.
- 5) Результаты расчетов представьте в таблице

050000	Степень	Степень	Степень	Показатель	Показатель
Образе	разветвленност	ароматичност	алифатичност	окисленност	осерненност
ц	И	И	И	И	И
Нефть 1					
Нефть 2					
Нефть 3					

Контрольные вопросы

- 1) Какие фракции выделяют в нефти?
- 2) О присутствии большого количества какой фракции говорит высокий индекс разветвленности нефти?
- 3) О присутствии какой фракции говорит высокий индекс ароматичности?
- 4) Объясните, почему именно данные полосы выбраны для расчетов различных индексов нефти.

3.5 Применение ИК спектроскопии к анализу биологических материалов

3.5.1 Исследование биологических материалов методом ИК спектроскопии

Тема: ознакомиться с методикой исследования биологических материалов методом ИК спектроскопии

Цель работы: Изучение основ ИК спектроскопии, получение ИК спектров биологических материалов и их интерпретация.

Задание:

- 1. Изучить теорию ИК спектроскопии.
- 2. Познакомиться с принципом действия Tensor 37.
- 3. Получить ИК спектры эпидермиса (и волос).
- 4. Проанализировать результаты.

Краткая теория

ИК спектроскопия оказалась мощным инструментом для изучения биологических молекул, и применение этого метода к биологическим проблемам постоянно расширяется, особенно с появлением все более сложных методов отбора проб, таких как ИК картирование. Биологические системы, включая липиды, белки, пептиды, биомембраны, нуклеиновые кислоты, ткани животных, микробные клетки, растения и клинические образцы, могут быть изучены с помощью ИК спектроскопии. Этот метод использовался в течение нескольких десятилетий для характеристики изолированных биологических молекул, в частности белков и липидов. Однако в последнее десятилетие наблюдается быстрый рост числа исследований более сложных систем, таких как больные ткани. Микроскопические методы в сочетании с другими сложными аналитическими методами позволяют исследовать сложные образцы микронного размера.

В течение почти 20 лет ИК микроспектроскопия использовалась в качестве зонда биохимии образцов. Это связано с тем, что ИК свет возбуждает молекулярные колебания, причем частота каждого колебания зависит от химической структуры молекулы. Например, липиды имеют длинные углеводородные цепи, поэтому доминирующие особенности в ИК спектре липидов приписываются асимметричным и симметричным валентным колебаниям групп CH₃ (2956 и 2874 см⁻¹) и CH₂ (2922 и 2852 см⁻¹) в молекула (рисунок 3.44).

Другие биологические компоненты, такие как белки, нуклеиновые кислоты и углеводы, также имеют уникальные ИК спектры. Спектр белка имеет две основные особенности: полосы амида I (1600–1700 см⁻¹) и амида II (1500–1560 см⁻¹), которые возникают в результате специфических валентных и изгибных колебаний основной цепи пептида. Частота полосы амида I особенно чувствительна к вторичной структуре белка. Спектр нуклеиновых кислот имеет уникальные особенности в области между 1000-1500 см⁻¹, которые возникают из-за асимметричных (1224 см⁻¹) и симметричных (1087 см⁻¹) валентных колебаний фосфата [31,32].



Рисунок 3.44 - Различные клеточные компоненты имеют совершенно разные ИК спектры, что демонстрируют ИК спектры (А) липида (пальмитиновая кислота), (В) белка (миоглобин), (С) полинуклеиновой кислоты и (D) углевода (сахароза)

Для исследования биологических материалов наиболее важными измеряемыми спектральными областями обычно являются область «отпечатков пальцев» (600–1450 см⁻¹) и область амида I и амида II (амид I/II) (1500–1700 см⁻¹). Область с более высокими волновыми числами (2550–3500 см⁻¹) связана с колебаниями растяжения, такими как S-H, C-H, N-H и O-H, тогда как области с более низкими волновыми числами обычно соответствуют колебаниям изгиба и углеродного скелета. Вместе эти области составляют биохимический отпечаток структуры и функции исследованных клеточных образцов. Типичный биологический ИК спектр с молекулярными отнесениями показан на рисунке 3.45.



Рисунок 3.45 – ИК спектр клетки [31]

Однако следует подчеркнуть, что эти частоты предлагаются только в качестве рекомендаций, и что рецепт для определения характеристик поглощения ИК излучения в биологических образцах требует знания как гистологии, так и патологии образца в дополнение к спектроскопии. Вооружившись этой информацией, вариации в содержании или структуре нуклеиновых кислот, белков и липидов могут предоставить важные подробности о химии паталогических состояний.

Различные биологические ткани и биожидкости часто используют для исследования изменений во время течения каких-либо патологических процессов. Однако, как мы можем видеть из рисунка 3.46, многие биологические ткани чрезвычайно похожи друг на друга, их общий спектр также представляет из себя комбинацию полос поглощения основных перечисленных компонентов тканей. Поэтому часто, чтобы найти значимые отличия между двумя типами тканей, нужно совершать процедуры предобработки спектра.



Рисунок 3.46 – ИК спектры биологических объектов: 1 – эпидермис, 2 – ткань волоса, 3 – коллаген, 4 – ткань ногтя, 5 – ткань мозга, 6 – серозная ткань желудка, 7 – сыворотка крови

Единичный ИК спектр, полученный от биологического образца, содержит не только интересующую информацию, но и основной вклад Оптимизированные нежелательных сигналов. методы отбора проб необходимы для уменьшения этой изменчивости; тем не менее, эти вклады часто все еще видны в последующем наборе данных. Предварительная обработка может быть определена как уменьшение этих неконтролируемых переменных улучшить экспериментальные результаты И может исследований. спектральных Извлечение биологической дисперсии, из самого образца, часто возникающей является ключевой целью спектроскопических исследований биологических материалов. Увидеть различия в наборе спектров позволяют различия в биологическом составе и молекулярной структуре биоматериалов. Однако спектры также могут содержать отклонения в результате влияния условий окружающей среды и условий эксперимента. Соответственно, такие факторы, как влажность, морфология образца и инструментальный дрейф, могут отрицательно повлиять на качество спектра, повторяемость и воспроизводимость. Цель предварительной обработки - уменьшить эту нежелательную дисперсию, тем самым раскрывая важную основную информацию из набора спектральных данных. Следовательно, предварительная обработка может улучшить исследовательский анализ, модели классификации и калибровки, а также интерпретируемость, одновременно удаляя выбросы и тенденции и уменьшая размерность. проблемы с пробоподготовкой и сбором спектров. Хотя предварительная обработка может улучшить плохие спектры, в первую очередь необходимо получить спектры максимально высокого качества в рамках ограничений образца и прибора [33].

Одним из способов выявления дополнительной информации из Производная спектра является расчет его производных. (дифференциальная) спектроскопия использует производные первого или более высокого порядка от спектра поглощения по длине волны для качественного анализа и количественного определения. Концепция взятия производных от спектральных данных была впервые введена в 1950-х годах, когда было показано, что она имеет много преимуществ. Однако этой методике уделялось мало внимания в первую очередь из-за сложности генерации производных спектров использованием с ранних спектрофотометров. Внедрение микрокомпьютеров в конце 1970-х годов сделало практически возможным использование математических методов для быстрого, простого и воспроизводимого генерирования производных спектров. Это значительно расширило использование производной техники.

Производная первого порядка – это зависимость скорости изменения поглощения от длины волны. Производная первого порядка начинается и заканчивается в нуле. Она также проходит через ноль на той же длине волны, что и максимум полосы поглощения. По обе стороны от этой точки находятся положительные и отрицательные полосы с максимумом и минимумом на тех же длинах волн, что и точки перегиба в полосе поглощения. Эта биполярная функция характерна для всех производных нечетного порядка. Наиболее характерной особенностью производной второго порядка является отрицательная полоса с минимумом на той же длине волны, что и максимум на полосе нулевого порядка. Она также показывает две дополнительные положительные полосы-спутники по обе стороны от основной полосы.

Предлагаем в данной лабораторной работе применить метод ИК спектроскопии и методику обработки ИК спектров – вторые производные ИК спектров – для исследования различий в таких доступных тканях, как дерма и волосы.

Верхний роговой слой дермы состоит в основном из кератина (белкового вещества) и жиров, в результате чего роговой слой кожи приобретает прочность и эластичность. Кератин образуется из аминокислот, освобождающихся при дегенерации клеток шиповидного слоя эпидермиса, жир — в основном из кератогиалина зернистого слоя.

Волосы состоят из различных химических веществ, основным из которых является белок (твердый кератин). Белки представляют собой полипептидные цепи. Полипептидная цепь состоит из большого числа соединенных между собой аминокислот. Волос - это всего лишь длинное, достаточно прочное и нерастворимое волокно, основой которого является структурный белок - а-кератин.

Кератины - семейство фибриллярных белков, обладающих механической прочностью, которая среди материалов биологического происхождения уступает лишь хитину. Фибриллярные белки - белки,

структуру, имеющие вытянутую нитевидную а-кератины имеют конформацию в виде плотных витков вокруг длинной оси молекулы (аспираль); эти кератины являются основой волос (включая шерсть), рогов, когтей и копыт млекопитающих. Для первичной структуры а-кератинов характерно большое содержание цистеина и множество дисульфидных связей. Характерной особенностью а-кератинов является их полная нерастворимость в воде при рН=7,0. Данное свойство частично обусловлено тем, что в состав молекулы входит большой процент гидрофобных аминокислотных остатков (фенилаланин, изолейцин, валин, метионин и аланин). В силу конформации белка R-группы этих остатков направлены к внешней стороне спиралевидной структуры молекулы. В кератинах содержится высокий процент самой маленькой аминокислоты - глицина, чей радикал состоит всего из одного атома водорода; следующая самая маленькая аминокислота - аланин, с радикалом, состоящим из маленькой и незаряженной метильной группы. [34,35]



Рассмотрим в качестве примера спектр волоса, дермы и ногтя.

Рисунок 3.47 - ИК спектры волоса (1), дермы (2) и ногтя (3)

В спектрах наблюдаются типичные полосы поглощения белков. Это полосы, связанные с растяжением связи N-H (около 3300 см⁻¹), растяжением связи C=O (1640-1660 см⁻¹, полоса амид I) и деформацией связи N-H (1520-1550 см⁻¹ полоса амид II). При формировании вторичной структуры белка энергии этих трех пептидных колебаний меняются и приводят к сдвигу полос в ИК спектре. Первые две полосы, отвечающие валентным колебаниям, смещаются в область более низких энергий, поскольку наличие водородной связи облегчает смещение атома азота амидной группы и атома кислорода карбонильной группы в направлении акцептора или донора

протона соответственно. Полоса амид II смещается в сторону более высоких энергий, так как водородная связь препятствует изгибанию связи N-H.



Рисунок 3.48 – Вторые производные ИК спектров для образцов дермы и волос

Широкая интенсивная полоса в области 3000-3600 см⁻¹ является результатом наложения полос валентных колебаний групп О-Н и N-H (NH₃⁺), полосы в области 1400-1000 см⁻¹ связаны с колебаниями С—О—Н группы. Полоса в области 1660-1610 см⁻¹ является результатом асимметричных деформационных колебаний NH₃⁺группы, а полоса в области 1550-1485 см⁻¹ связана с симметричными деформационными колебаниями этой группы.

Более тонкие различия между биологическими объектами на основе кератина можно рассмотреть, рассчитав вторые производные ИК спектров.

Таблица 3.24 - Соотнесение полос в ИК спектре белков функциональным группам

Диапазон, см 1	Отнесение
3271	
3286	
3286	H_2N -(CH_2) _n - CO_2 -
3063	NH - группа аминокислоты
-	$[H_3N^+-(CH_2)_n-CO_2H]Cl^-$
2924	
2916	C-H
2916	
2839	
2850	CH ₃ , CH ₃ -N, CH ₂ -O, амины
2850	
1639	NH ₂ - группа аминокислоты
1744 и 1659	
1632	H ₂ N-(CH ₂) _n -CO ₂ - Дикарбоновые а-аминокислоты, CH ₃ , CH ₂
1524	
1542	NH ₂ - группа аминокислоты
1531	
1462	
1465	$[H_{2}N^{+}(CH_{2})] = CO_{2}H[C]$
1454	
1238	
1260	$[H_{2}N^{+}(CH)n_{2}CO_{2}H]C]$
1231	

Как отмечалось выше, остатки аминокислот в белках соединяются друг с другом посредством пептидной связи, образуя так называемые полипептидные цепочки, агрегация которых приводит к формированию макромолекулы белка. В области частот 1450-600 см⁻¹ ИК спектры билологических материалов могут отличаться не только из-за разного липидного состава, но и из-за различного аминокислотного состава белков.

Функциональные		$(c/M^{-1}c)c^{-1}) p^2 H O$	
	2551	$(E/W CM) B H_2O$	
(ys, v(Sn))	1716 (280)	1713 (200)	
$\frac{\text{Asp. } v(C = -0)}{C^{1} u \cdot v(C = 0)}$	1712 (220)	1715 (290)	
$\frac{Glu, V(C==0)}{Automatical Glu, V(C==0)}$	1/12 (220)	1700 (280)	
Asn, v (C==O)	16//-16/8 (310-330)	1648 (570)	
Arg, $v_{as}(CN_3H_5^+)$	1652–1695 (420–490)	1605–1608 (460)	
Gln, v(C==O)	1668–1687 (360–380)	1635–1654 (550)	
Arg, $v_{s}(CN_{3}H_{5}^{+})$	1614–1663 (300–340)	1581–1586 (500)	
$HisH_2^+$, n(C==C)	1631 (250)	1600 (35), 1623 (16)	
Lys, $\delta_{as}(NH_3^+)$	1626–1629 (60–130)	1201	
Tyr —OH, ν (CC)	1614–1621 (85–150)	1612–1618 (160)	
δ(CH)			
Asn, $\delta(NH_2)$	1612–1622 (140–160)		
Trp, $\nu(CC)$, $\nu(C==C)$	1622	1618	
Tyr - Ox, v(CC)	1599–1602 (160)	1603 (350)	
Tyr - OH, v(CC)	1594–1602 (70–100)	1590–1591 (<50)	
Gln, $\delta(NH_2)$	1586–1610 (220–240)	1163	
HisH, $v(C==C)$	1575, 1594 (70)	1569, 1575	
Asp, $v_{as}(COO-)$	1574–1579 (290–380)	1584 (820)	
Glu, $v_{as}(COO-)$	1556–1560 (450–470)	1567 (830)	
Lys, $\delta_{s}(NH_{3}^{+})$	1526-1527 (70-100)	1170	
Tyr —OH, ν (CC),	1516–1518 (340–430)	1513–1517 (500)	
δ(CH)			
Trp, ν (CN), δ (CH),	1509		
δ(NH)			
Tyr — Ox, $v(CC)$,	1498–1500 (700)	1498–1500 (650)	
δ(CH)			
Trp, $\nu(CC)$, $\delta(CH)$	1496		
Phe, v(CC ring)	1494 (80)		
δ _{as} (CH ₃)	1445–1480		
Trp, $\delta(CH)$, $\nu(CC)$,	1462	1455 (200)	
v(CN)			
Hisx, $\delta(CH_3)$, $\nu(CN)$	1439	1439	
Pro, $\nu(CN)$	1400–1465		
δ(CH2)	1425–1475		
Trp, δ (NH), ν (CC).	1412–1435	1382	
δ(CH)			

Таблица 3.25 – Полосы поглощения боковых групп аминокислот [31].

Продолжение таблицы 3.25

Gln, v(CN)	1410	1409
Glu, $v_s(COOx)$	1404 (316)	1407
Asp, v _s (COOx)	1402 (256)	1404
$\delta_{s}(CH3)$	1375 or (1368, 1385)	
Trp	1352–1361	
Trp	1334–1342	1334 (100)
δ(CH)	1315–1350	
Trp, $\delta(NH)$, $\nu(CN)$,	1276	
δ(CH)		
Tyr — O^{-} , $v(C - O)$,	1269–1273 (580)	
v(CC)		
Asp, Glu, δ(COH)	1264–1450	955–1058
Trp, δ (CH), ν (CC)	1245	
Tyr —OH v(C —O),	1235–1270 (200)	1248–1265 (150)
v(CC)		
His, $\delta(CH)$, $\nu(CN)$,	1217, 1229, 1199	1217, 1223, 1239
δ(NH)		
Trp, v(CC)	1203	
Ser, $\delta(COH)$	1181–1420	875–985
илиб(CO ₂ H), v(CO)		
$\gamma_{\rm w}({\rm CH_2})$	1170–1382	
Tyr —OH, δ (COH)	1169–1260 (200)	913
Asp, Glu, $v(C - O)$	1160–1253	1250–1300
His, $v(CN)$, $\delta(CH)$	1104, 1090, 1106, 1094	1104, 1096, 1107, 1110
Trp, δ (CH), ν (NC)	1092	
Trp, $v(NC)$, $\delta(CH)$,	1064	
v(CC)		
$\gamma_t(CH_2)$	1063–1295	
Thr, $v(C - O)$	1075–1150	
Ser, $v(C - O)$	1030	1023
Trp, $\nu(CC)$, $\delta(CH)$	1012–1016	1012
Ser, v(CO) илиv(CC)	983	
Ser, $v(CO)$, $\delta(CO_2H)$		940
Thr, $\delta(CO_2H)$		865–942
$\gamma_r(CH_2)$	724–1174	

Порядок выполнения работы

- 1. Запишите по 10 ИК спектров образцов эпидермиса и волос с помощью приставки НПВО.
- 2. Перед записью тканей эпидермиса рекомендуется очистите поверхность кожи спиртом.
- 3. Для каждого образца из ИК спектров рассчитайте вторую производную спектра в программе OPUS → Manipulate → Differentiate. Производные необходимо сгладить по 15 точкам. Определите функциональные группы по характеристическим частотам.
- 4. Произведите отнесение интенсивных полос поглощение по корреляционным таблицам к тем или иным функциональным группам.
- 5. Полученные результаты занесите в таблицу.
- Определите частоты носящие наибольшее влияние наразличияе между спектрами эпидермиса и волос. Попытайтесь интерпретировать эти частоты колебаний, используя предложенные таблицы. Проанализировать результаты и сделать выводы.
- 7. Форма отчета: спектры биологических образцов, частоты основных максимумов поглощения для каждого образца и их отнесение.

N⁰	Область, см ¹	Валентные колебания	Область, см ⁻¹	Деформационные колебания
1				
2				
3				

Контрольные вопросы

- 1) На какие основные области можно разделить ИК спектр биологического материала?
- 2) Почему в ходе данной работы рекомендуется записать по 10 спектров каждого образца?
- 3) С какой целью поверхность кожи очищается спиртом перед записью спектра?

3.5.2 Определение вторичной структуры белков

Цель: ознакомиться с методикой расчета вторичной структуры белков методом ИК спектроскопии

Оборудование и материалы: ИК спектрометр Tensor 37 фирмы Bruker, приставка HIIBO MIRacle, растворы белков, раствор NaOH, раствор HCl

Краткая теория

ИК спектроскопия - один из классических методов определения структуры малых молекул. Это положение связано с его чувствительностью к химическому составу и архитектуре молекул. Высокая информативность в ИК спектре распространяется и на биологические системы. Это делает ИК спектроскопию ценным инструментом для исследования структуры белков, молекулярного механизма белковых реакций, а также сворачивания, разворачивания и неправильной укладки белков. Обилие информации в ИК спектре можно использовать даже для биологических систем, которые больше белков. Ярким примером является возможность идентифицировать штаммы бактерий по ИК спектру, а также дифференцировать и классифицировать микроорганизмы.

Другими преимуществами ИК спектроскопии являются широкий диапазон применения от небольших растворимых белков до крупных мембранных белков, высокое временное разрешение до 1 мкс при умеренных усилиях, часто короткое время измерения, небольшое количество требуемого образца (обычно 10–100 мкг) и относительно невысокая стоимость.

ИК спектры белков демонстрируют полосы поглощения, связанные с их характерной амидной группой. Режимы в плоскости обусловлены растяжением С=О, растяжением С-N, растяжением N-H и изгибом О-С-N, в то время как внеплоскостная мода обусловлена скручиванием С-N. Характерные полосы амидных групп белковых цепей сходны с полосами поглощения, обнаруженными вторичными амидами в целом, и обозначены как амидные полосы. Существует девять таких полос, называемых амидом А, амидом В и амидами I-VII, в порядке уменьшения волнового числа, и эти полосы суммированы в таблице 2.26. Некоторые из групп более полезны для исследований конформации, чем другие, и наиболее часто используются полосы амида I и амида II.

Полоса амида II представляет в основном (60%) изгиб N-H с некоторым растяжением C-N (40%), и можно разделить полосу амида II на компоненты в зависимости от вторичной структуры белка. Положение полосы амида II чувствительно к дейтерированию, смещаясь от 1550 см⁻¹ до волнового числа 1450 см⁻¹. Полоса амида II дейтерированного белка перекрывается с изгибными колебаниями H-O-D, поэтому затрудняется получение информации о конформации этой полосы. Однако оставшаяся часть полосы амида II при 1550 см⁻¹ может предоставить информацию о доступности растворителя к полипептидной скелетной цепи. Гидрофобные среды или плотно упорядоченные структуры, такие как α-спирали или β-листы, уменьшают вероятность обмена протона амида N-H.

Название	Волновое число	Группа	
А	3300	N-H – валентные колебания с обертоном	
В	3110 ∫	полосы амидІ	
т	1653	80% C=Овалентных колебаний, 10% C-N	
1	1035	валентных колебаний, 10% N-H –	
		деформационных колебаний	
п	1567	60% N-Н деформационных, 40% C-N	
11	1307	валентные	
	1299	30% C-N валентные, 30% N-H	
III		деформационные, 10% С=О валентные, 10%	
		О=С-N деформационные 20% другие	
IV	627	40% О=С-N деформационные, 60% - другие	
V	725	N-Н - деформационные	
VI	600	С=О деформационные	
VII	200	С-N - торсионные	

Таблица 3.26 - Характерные амидные полосы белков в ИК спектрах [36]

Наиболее полезной ИК полосой для анализа вторичной структуры белков в водных средах является полоса амида I, встречающаяся между примерно 1700 и 1600 см⁻¹. Полоса амида I представляет собой 80% вибрации растяжения С = О амидной группы, связанной с режимами изгибания N-H в плоскости и C-N. Точное волновое число этой вибрации зависит от природы водородных связей с участием групп C = O и N-H, и это определяется конкретной вторичной структурой, принимаемой рассматриваемым белком. Белки обычно содержат множество доменов, содержащих полипептидные фрагменты в разных конформациях. Как следствие, наблюдаемая полоса амида I обычно представляет собой ряда перекрывающихся сложный композит, состоящий из полос компонентов, представляющих спирали, β-структуры, витки и случайные структуры.

Вычислительные и экспериментальные исследования выявили ряд практических правил, которые описывают, как поглощение амида I зависит от структуры основной цепи. α -спирали вызывают основную полосу поглощения около 1655 см⁻¹ и плечо при более низких волновых числах. Положение основной полосы смещается вниз с увеличением длины спирали, когда спираль изгибается в спиральных витках и когда спираль подвергается воздействию растворителя (максимум поглощения при 1640–1650 см⁻¹ в H₂O, при 1629–1640 см⁻¹ в 2H₂O). Короткие α -спирали с менее чем 6 остатками не всегда вызывают типичное поглощение α -спирали, но могут давать несколько полос во всей области амида I.

Антипараллельные β -листы демонстрируют сильную полосу около 1630 см⁻¹ и более слабую полосу около 1685 см⁻¹. Положение этих полос почти не зависит от количества амидных групп в нитях листа, но зависит от

количества нитей. Листы с большим количеством нитей имеют более низкое спектральное положение основной полосы. Также основная полоса параллельных β-листов смещается в сторону меньших волновых чисел с увеличением количества нитей. Скручивание антипараллельного β-листа вызывает смещение его основной полосы в сторону более высоких волновых чисел и уменьшает расщепление между полосами высоких и низких волновых чисел. Эффект скручивания меньше для параллельных βлистов. Параллельные β-листы имеют основное поглощение при более высоком волновом числе, чем соответствующие антипараллельные β-листы, хотя разница может составлять всего 4 см⁻¹, а полоса параллельных β-слоев может составлять всего 1622 см⁻¹ (в H₂O) для β-стволовых белков и всего 1619 см⁻¹ (в 2H₂O) для пептидов. Параллельные β-листы демонстрируют меньшее расщепление между основной и боковой полосами, а их боковая полоса с высоким волновым числом менее интенсивна. Как следствие, боковая полоса с высоким волновым числом часто, но не всегда, отсутствует параллельными для параллельных β-листов. Разница между И выраженной, антипараллельными листами становится менее когда параллельный β-лист несколькими сравнивается с нитями с антипараллельным с листом небольшим количеством нитей или скрученным. Это делает задачу определения количества параллельных и антипараллельных листов в белках экспериментально трудной.

Вероятно, наиболее распространенным применением ИК спектроскопии в исследованиях белков является анализ вторичной структуры. Анализ вторичной структуры белков почти исключительно проводится с использованием полосы амида I. Важность этого применения ИК спектроскопии может даже возрасти в эпоху протеомики, когда огромное количество белков ждут своей характеристики.

Чувствительность колебания амида I к вторичной структуре позволяет изучать сворачивание, разворачивание и агрегацию белков с помощью инфракрасной спектроскопии. В то время как свернутый белок демонстрирует спектр структурированного амида I после применения методов сужения полосы, развернутый белок показывает широкую безликую полосу амида I с центром около 1650 см⁻¹, что характерно для неупорядоченной структуры. Напротив, агрегированный белок часто показывает полосу около или ниже 1620 см⁻¹, которая характерна для межмолекулярных β-листов.

Основной трудностью количественного исследования спектров белков является оценка поглощения боковой цепи, что необходимо учитывать при анализе спектров белков. Вклад боковых цепей в спектрах глобулярных белков составляет 10-30% от общего поглощения. Это поглощение накладывается на поглощение пептидов и может несколько спектральные параметры изменять полосы амида I. Некоторые особенно аминокислотные остатки, аргинин, глутамин, аспарагин,

аспарагиновая и глутаминовая кислоты, лизин, тирозин, гистидин и фенилаланин имеют интенсивное поглощение в амидной спектральной области. Количественная оценка групп боковых цепей аминокислот позволяет более детально анализировать вторичную структуру полипептидов и белков с помощью ИК спектроскопии, позволяет детально исследовать спектры белка и обеспечивает лучшую интерпретацию наблюдаемых спектральных эффектов. Это следует иметь в виду при анализе спектров белков, особенно когда содержание этих остатков велико.

Таблица 3.27 - Отнесение	положений полосы	і амида I к вторичної	й
структуре [36]			

Вторичная структура	Положение полосы в ${}^{1}\text{H}_{2}\text{O/cm}^{-1}$		Положение полосы в ${}^{2}\text{H}_{2}\text{O/cm}^{-1}$	
	Среднее	Интервал	Среднее	Интервал
α-спирали	1654	1648-1657	1652	1642-1660
3 ₁₀ спирали	1663	1659-1666		
β-листы /				
внутримолекулярные	1633	1625-1641	1630	1615-1638
β-листы				
Антипараллельные				
β-листы /	1684	1674 1605	1670	1672 1694
агрегированные				
β-нити /		1074-1095	1079	1072-1094
межмолекулярные				
β-листы				
Агрегированные				
β-нити /	1615	1610-1628		
межмолекулярные				
β-листы				
β-повороты	1672	1662-1686	1671	1653-1691
Неупорядоченная				
структура/случайная	1654	1642-1657	1645	1639-1654
катушка				

Пример количественного подхода к анализу белков приведен на рис. 3.50, где показана полоса амида I фермента лизоцима в D₂O. Полоса амида I этого белка имеет девять полос компонентов. Компоненты могут быть назначены различным типам вторичных структур. Полосы при 1623 и 1632 см⁻¹ характерны для β -структуры, равно как и полоса 1675 см⁻¹. Полосы в 1667, 1684 и 1693 см⁻¹ встречаются в волновых числах, характерных для поворотов и изгибов, тогда как полоса 1640 см⁻¹ может быть отнесена к случайной катушке. Полоса при 1610 см⁻¹ связана с аргинильной боковой цепью. Две оставшиеся полосы при 1648 и 1657 см⁻¹ обусловлены наличием α-спирали. Обычно в белковых инфракрасных спектрах наблюдается только один компонент α-спирали. Однако рентгеновские данные указывают на наличие двух типов спирали в лизоциме, то есть α-спирали и «3-оборотной» спирали. Эти разные спираликолеблятся на разных частотах иполоса 1657 см⁻¹ может быть отнесена к α-спирали, а полоса 1648 см⁻¹ связана с «3-оборотной» спиралью. Эти присвоения дают количественную оценку 48% спирали, 23% β-структуры, 13% оборотов и 16% случайных катушек в лизоциме.



Рисунок 3.49 - Рекомендации для вторичных структур белков, основанные на их частотах амида *I* = *I*₀. Амид I (в H₂O): пустые рамки; амид *I*₀ (в D₂O): заштрихованные рамки; α-спирали, β -листные конструкции (часто наблюдается более одного компонента полосы; это отражает различия в водородной связи (чем прочнее и короче водородная связь, тем ниже частота), а также различия в дипольной связи переходов в разных β-нитях). β* - β-нити в упорядоченных или аморфных агрегатах, часто характеризующиеся значительным увеличением расщепления между низко- и высокочастотными β-компонентами по сравнению с тем, что наблюдается для β-листов в естественно свернутых белках; u: неупорядоченные части основной цепи полипептида; lp - петли; и t – повороты [37]

u			
	Аминокислота	Соотнесение	$v_0 (c M^{-1})$
	Аспарагин (амид)	Аспарагин (амид) С=О (СОNH ₂) валентные колебания	
	_	NH (CONH ₂) деформация	1622±2
	Глутамин (амид)	C=O (CONH ₂) валентные колебания	1670±4
		NH (CONH ₂) деформация	1610±4
	Аргинин (гуанидин)	C=N (CN ₃ H ₅ ⁺) асим. валентные	1673±3
		колебания	
	Лизин (амин)	C=N (CN ₃ H ₅ ⁺) сим.валентные	1633±3
		колебания	
	Тирозин (фенил)	NH+ (NH ₃ ⁺) асимм.деформация	1629±1
	N-терминальная	колебание кольца	1602 ± 2
	группа (амин)	NH ⁺ (NH ₃ ⁺) асимм.деформация	1631±3

Таблица 3.28 - Характерные инфракрасные полосы боковых цепей аминокислот



Рисунок 3.50 - Построенная кривая полоса амида I лизоцима в D₂O: T, повороты и изгибы; β, β-структура; α, α-спираль; R - произвольная конфигурация катушки; S, колебания боковой цепи аминокислот

ИК спектроскопия особенно полезна для исследования структур мембранных белков. Этот метод можно использовать для изучения вторичных структур белков как в их естественной среде, так и после воссоздания в модельных мембранах. Основной белок миелина (MBP) является основным белком нервной системы и был изучен с помощью ИК спектроскопии как в водном растворе, так и после восстановления в липидах миелина. Полоса амида I MBP в растворе D_2O (деконволюция и аппроксимация кривой) показана на рисунке 3.51. Амидная полоса показывает небольшой пик при 1616 см⁻¹, который возникает при волновом числе, обычно приписываемом аминокислотному вкладу в боковые цепи. Самая большая полоса компонента, наблюдаемая при 1647 см⁻¹, относится к случайной катушке и составляет 86% от общей площади полосы. Оставшаяся полоса компонента при 1671 см⁻¹ отнесена к поворотам и изгибам в белке. FTIR-спектр белка MBP после восстановления в миелине

со всеми белками, удаленными из миелина, показывает, что наблюдаются драматические изменения для полосы амида I MBP, когда белок образует комплекс с миелином. Результаты деконволюции и подбора полосы амида I МВР в миелине показаны на рисунке 3.52. На рис. 3.52 два небольших компонента при 1606 и 1616 см⁻¹ находятся в диапазоне волновых чисел, который объясняется вкладом боковой цепи. Появление полосы при 1624 см⁻¹ указывает на наличие водосвязанной β-структуры. Кроме того, компонент на 1634 см⁻¹ был отнесен к β-структуре, а высокочастотный компонент β-структуры наблюдается на 1675 см⁻¹. Эти полосы составляют 40% от общей площади полосы. Эта оценка показывает, что заметное образуется при β-структуры сравнении результатов с количество результатами, полученными для MBP в D₂O, где β-структура не наблюдалась. Компонент при 1651 см⁻¹, составляющий 28% от общей площади полосы амида I, был отнесен к α-спирали в белке. Таким образом, восстановление МВР в миелине производит значительное количество αспирали в белке в преимущественно липидной среде. Опять же, ни одна из структур этого типа не наблюдалась для белка в водной среде. Небольшая составляющая при 1642 см⁻¹ появляется на волновом числе, обычно относящемся к случайным катушкам. Остальные компоненты на рис. 3.52 при 1663 и 1686 см⁻¹ могут быть отнесены к поворотам и изгибам в белке. Необходимо подчеркнуть важность условий, в которых биологические молекулы исследуются в ИК диапазоне. Липидная среда более точно имитирует природную среду и, таким образом, по-видимому, дает гораздо лучшее представление о природной структуре.



Рисунок 3.51 - Соответствующая кривая полоса амида I основного белка миелина в D₂O: T, повороты и изгибы; R - произвольная конфигурация катушки; S, колебания боковой цепи аминокислот



Рисунок 3.52 - Соответствующая кривая полоса амида I основного белка миелина в миелине: Т, повороты и изгибы; β, β-структура; α, α-спираль; R - произвольная конфигурация катушки; S, колебания боковой цепи аминокислот

Конформационные переходы белков в зависимости от рН среды

Глобула альбумина может находиться в разных конформационных состояниях в зависимости от рН среды. Переходы представлены на рисунке 3.53. В близкой к нейтральной среде (например, в крови при pH=7,4) существует отрицательно заряженная *N*-форма (Normal); положительно заряженная *F*-форма (Fast) в кислой среде при pH = 4 и *E*-форма (Expanded) при pH ниже 3; отрицательно заряженная *B*-форма (Basic) при pH = 8 и *A*форма (Aged) в щелочной среде (pH = 10). Все изомерные переходы обратимы.

Обе формы кислой среде характеризуются состоянием В расплавленной глобулы (Molten globule state).





11



Рисунок 3.53 - Конформации глобулы ЧСА в зависимости от рН среды [38]
F-форма характеризуется менее компактным состоянием глобулы и небольшим уменьшением содержания α -спирали. Предполагается, что домен III HSA имеет более слабую структуру и теряет спиральность при более высоком значении pH = 4, тогда как домены I и II не теряют спиральности до pH = 3,5. Однако более высокое снижение pH вызывает превращение домена II в расплавленную глобулярную форму, тогда как домен I не претерпевает сильных изменений во вторичной структуре. *Е*-форма характеризуется еще большим удлинением глобулы из-за отталкивания положительно заряженных доменов и еще большего уменьшения спиральности. Кроме того, ожидается увеличение β -листов как в кислых, так и в щелочных средах.

Обе щелочные формы характеризуются небольшой потерей спиральности (около 10%) и увеличением β-листов (около 8%). При этом случайная катушка не должна наблюдаться.

Выполнение работы

I) Подготовка растворов

- 1) Приготовьте раствор бычьего сывороточного альбумина 5 мг/мл в воде.
- 2) Приготовьте 0,25 M раствор NaOH
- 3) Приготовьте 0,25 М раствор HCl

II) Запись ИК спектров

- 4) Записать спектр раствора БСА на приставке НПВО в диапазоне 4000-600 см⁻¹, с разрешением 2 см⁻¹ и усреднением по 32 сканам.
- 5) Записать спектр дистиллированной воды.
- 6) Добавить к 30 мкл раствора БСА 30 мкл раствора NaOH, тщательно перемешать и записать ИК спектр.
- 7) Добавить к 30 мкл БСА 30 мкл раствора HCl, тщательно перемешать и записать ИК спектр.

III) Обработка ИК спектров

- 8) Для получения спектра белка спектр растворителя необходимо вычесть итерационным способом до тех пор, пока не будет получена прямая базовая линия в спектральной области 2000-1750 см⁻¹.
- 9) Повторить процедуру вычитания спектра растворителя для образца БСА в кислой и щелочной среде.
- 10) Следуя процедуре описанной ниже (Деконволюция в программе OriginPro...), определить вторичную структуру БСА для трех его состояний.
- 11) Сделать вывод о процессах денатурации/агрегации БСА в зависимости от pH среды.

- IV) Деконволюция в программе OriginPro спектра для расчета вторичной структуры белков
- 1) Вычесть из первоначального спектра спектр воды (или физ. раствора) в программе OPUS и сохранить его в формате dpt (txt).
- 2) Импортировать текстовый файл в программу Origin: File → Import→Single ASCII
- 3) Построить график
- 4) Сгладить спектр Analysis → Signal Processing → FFT Filters → Open Dialog.
- 5) Скопировать из данных сглаженного спектра нужный для деконволюции диапазон 1580 1700 см⁻¹ в новую таблицу. Построить график.
- б) Приступить к разделению пика Analysis → Peak Analyzer → Open Dialog
- 7) В диалоговом окне PeakAnalyzer в пункте Goal выбрать Fit Peak (Pro) \rightarrow Next
- 8) На следующей вкладке в пункте Baseline Mode выбрать Userdefined. Поставить галочку в пункте Snap to Spectrum. Поставить в пункт Number of Points to Find = 2 → Find (выбираются две крайние точки, между которыми проводится базовая линия). Если две крайние точки почему-то не определяются, их можно установить вручную (снять галочку с пункта Enable Auto Find и нажать кнопку Add).
- 9) Next. На следующей вкладке поставить галочки в пунктах Auto Subtract baseline и AutoRescale
- 10) На следующей вкладке снять галочку с пункта EnableAutoFind. Развернуть список PeakFindingSettings и поставить галочку на Show 2ndDerivative (это дает возможность ставить пики ориентируясь на минимумы второй производной)
- 11) Нажать на кнопку Add и двойным щелчком мышки добавить положения пиков в нужных участках. Нажать кнопку Done.
- 12) Внизуокна Peak Analyzer нажатьнакнопку Fit Control.
- 13) Закрепить положение базовой линии и положение полосы кнопками
 М. Запустить процесс деконволюции (разделения)
- кнопкой 🌆.
- 14) Следующим шагом можно попробовать разделить на пики, позволив программе подогнать без фиксации положения полос (отжать кнопку) и запустить расчет. При этом полосы сместятся и при необходимости их можно будет вернуть на прежнее место, исправив вручную данные в таблице, и пересчитать.

Контрольные вопросы

- 1) Назовите полосы поглощения, характерные для пептидных групп белка?
- 2) Какая полоса поглощения пептидной группы наиболее чувствительна к конформациям вторичной структуры белков?
- 3) Какие элементы вторичной струткуры можно определить из ИК спектра белка?
- 4) Присутствие большого количества каких аминокислот в структуре белка может затруднить анализ вторичной структуры?
- 5) Почему в ИК спектральном анализе вторичной структуры белка чаще предпочитают использовать раствор белка в D₂O?

3.5.3 Применение ИК спектроскопии для определения степени перекисного окисления липидов

Цель работы: ознакомиться с применением метода ИК спектроскопии к исследованию строения фосфолипидов, исследовать процесс перекисного окисления липидов.

Оборудование и материалы: ИК спектрометр, оснащенный приставкой НПВО, центрифуга, образцы плазмы крови, H₂O₂, хлороформ.

Краткая теория

ИК спектроскопия обеспечить может ценную структурную информацию о липидах, которые являются важными молекулярными мембран. Многие фосфор компонентами липиды содержат И классифицируются как фосфолипиды, некоторые примеры показаны на рисунке 3.54. Липиды организованы в бислоях толщиной около 40-80 А, где полярная головная группа указывает на водную фазу, а гидрофобные хвосты указывают на хвосты второго слоя. Цепи могут быть полностью трансконформацией, которую называют гелевой фазой, или получают жидкую кристаллическую фазу, когда цепь также содержит гош-С-Сгруппы. ИК спектры фосфолипидов можно разделить на спектральные которые происходят от молекулярных колебаний области, хвоста углеводородов, области раздела и головной группы.

Основные ИК полосы поглощения фосфолипидов приведены в таблице 2.30. Углеводородный хвост приводит к появлению ацильных цепных мод. Наиболее интенсивными колебаниями в ИК спектрах липидных систем являются колебания растяжения CH₂, и они приводят к появлению полос поглощения в области от 3100 до 2800 см⁻¹. Асимметричные и симметричные моды растяжения CH₂ на частотах 2920 и 2851 см⁻¹, как правило, являются наиболее сильными полосами в спектрах.

Волновые числа этих полос являются «чувствительными к конформации» и реагируют на изменения отношения *транс/гош* конформаций в ацильных цепях. Это также относится к ИК полосам концевых групп CH₃ при 2956 см⁻¹ (асимметричное растяжение) и 2873 см⁻¹ (симметричное растяжение). Полосы поглощения =C-H ненасыщенных ацильных цепей находятся при 3012 см⁻¹, а полосы метиленовой и метильной групп встречаются в области 1500-1350 см⁻¹.



Рисунок 3.54 – Структура фосфолипидов

Волновое число, см ⁻¹	Связь
3010	=С-Н валентные колебания
2956	-CH ₃ – асимметричные валентные колебания
2920	-CH ₂ – асимметричные валентные колебания
2870	-CH ₃ – симметричные валентные колебания
2850	CH ₂ – симметричные валентные колебания
1730	С=О валентные колебания
1485	(CH ₃) ₃ N ⁺ асим. валентные колебания
1473, 1472, 1468, 1463	CH ₂ -ножничные колебания
1460	CH ₃ – деформационные колебания
1405	(CH ₃) ₃ N+ - деформационные колебания
1378	СН3 – деформационные колебания
1400-1200	CH ₂ – маятниковые колебания
1228	РО2-– асимметричные валентные колебания
1170	СО-О-С – асим. валентные колебания
1085	РО ₂ -сим. валентные колебания
1070	СО-О-С – сим. валентные колебания
1047	С-О-Рвалентные колебания
972	(CH ₃) ₃ N+
820	Р-О – асимметричные валентные колебания
730,720,718	CH ₂

Таблица 3.30 - Основные полосы поглощения липидов

фосфолипидных мембранах, которые В некоторых содержат ацильные цепи, ненасыщенные типичная пластинчатая жидкая фаза при нагревании переходит кристаллическая В мицеллярную неламеллярную фазу. Такой термически индуцированный переход связан с крупной структурной перестройкой. Температурные исследования ИК спектров фосфолипидов обеспечивают чувствительный способ изучения таких переходов в липидах. На рис. 3.55 показана температурная зависимость волнового числа симметричной полосы растяжения CH₂ в спектрах липидных мембран, полученных из фосфатидилэтаноламина. Возрастающее волновое число с температурой указывает на возрастающую концентрацию gauche-зон в ацильных цепях, что приводит к образованию недвойной фазы при более высоких температурах. На рис. 3.55 показан сдвиг волнового числа около 2 см⁻¹ при 18 °C, что связано с фазовым переходом от геля к жидкости. Дополнительное смещение волнового числа приблизительно 1 см⁻¹ при 50 °C связано с переходом на мицеллярную фазу. Наблюдалось, что оба этих перехода обратимы.



Рисунок 3.55 - Температурная зависимость симметричной полосы валентных колебаний CH₂ фосфатидилэтаноламина [1]

Спектральные моды, возникающие из головной группы и межфазной области, также дают ценную информацию. Полезными ИК полосами для изучения межфазной области липидных сборок являются колебания сложноэфирной группы, в частности полосы растяжения C = O в области 1750-1700 см⁻¹. В диацил-липидах эта область состоит, по меньшей мере, из двух полос, происходящих из двух карбонильных групп сложного эфира. Полоса при 1742 см⁻¹ относится к режиму C=O первой алкильной цепи с *транс*-конформацией в связи C-C рядом с сложноэфирной группировкой, тогда как волновое число C = 0 1728 см⁻¹ алкильная цепь предполагает наличие в этом положении *гош*-конформации. Наблюдаемая разность

волновых чисел отражает структурную неэквивалентность цепей, причем первая алкильная цепь сначала простирается в направлении, перпендикулярном второй алкильной цепи, а затем развивается изгиб гошей, чтобы сделать две цепи параллельными.

Количественный ИК анализ может быть проведен на сыворотке крови для определения относительного количества присутствующих липидов. Триглицериды, фосфолипиды и сложные эфиры холестерина являются классами липидов, которые встречаются в сыворотке крови, и такие соединения встречаются естественным образом в концентрациях, которые делают ИК анализ довольно привлекательным. Эти классы соединений могут быть охарактеризованы их карбонильными полосами: полосы поглощения появляются на 1742 см⁻¹ для триглицеридов, на 1737 см⁻¹ для фосфолипидов и 1723 см⁻¹ для холестериновых эфиров. Хотя карбонильные пики сильно перекрываются, метод наименьших квадратов может быть использован для разделения компонентов. Концентрации этих липидных компонентов обычно находятся в пределах 0,03-0,3% в крови человека, и стандартные растворы могут быть получены в хлороформе.

Липиды и фосфолипиды плазмы, являющиеся частью клеточной мембраны эритроцитов, особенно чувствительны к активности активных форм кислорода (АФК). Исследования подтверждают наличие процесса перекисного окисления липидов во время гемодиализа. После обработки наблюдается увеличение количества конъюгированных диенов с 3,75 до 5,31 нмоль на 1 мкмоль липидов, экстрагированных из плазмы. Также доказано, что во время гемодиализа происходит перекисное окисление холестерина из клеточных мембран эритроцитов и снижение концентрации антиоксидантов в плазме.

Перекисное окисление липидов связано с образованием пероксидов в качестве первичных продуктов. Они распадаются на вторичные продукты с более короткими углеводородными цепями. Одним из таких продуктов является малоновый диальдегид (МДА). Существуют методы, позволяющие определять содержание как первичных, так и вторичных продуктов.

Одним из методов исследования первичных продуктов окисления является метод йодометрического титрования. Он основан на окислении иодид-ионов (Г) перекисями липидов. К липидному образцу добавляют стандартный раствор йодида калия. В результате реакции образуется молекулярный йод (I₂), который затем титруют стандартным раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала.

Другой метод тестирования первичных продуктов окисления липидов основан на обнаружении конъюгированных диенов. Их УФ спектры характеризуются наличием полосы поглощения ультрафиолетового излучения (230–235 нм). Чем больше окисление жирных кислот в образце, тем больше поглощение.

МДА - один из продуктов распада перекиси липидов; таким образом, он представляет собой вторичный продукт окисления. Определение его концентрации используется как индикатор окисления липидов. МДА используется в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБА), в ходе которой образуется окрашенный комплекс МДА-ТБА, поглощающий при 530-535 нм. Недостатком метода является его низкая специфичность. Другие кроме соединения, МДА, которые присутствуют химические биологических образцах, могут реагировать с ТБА, например, билирубин, сиаловая кислота (обнаруженная в клеточных мембранах), продукты разложения углеводов и другие альдегиды. Следовательно, это больше касается определения количества продуктов, которые вступают в реакцию с ТБА (вещества, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой). Тем не менее, определение концентрации МДА - один из самых популярных методов изучения окисления липидов и величины окислительного стресса.

ИК Фурье спектроскопия позволяет непосредственно наблюдать появление или исчезновение полос, которые происходят от различных функциональных липидных групп, изменения колебаний которых указывают на образование первичных продуктов окисления. Одна из этих полос - валентное колебание группы C = O. Увеличение полосы (C = O) является результатом трехступенчатого процесса перекисного окисления, который проходит по следующей схеме. Во-первых, на стадии инициации молекула липида (LH) реагирует с АФК. Перенос водорода от липида к АФК и появление липидного радикала L[•] являются следствием этой реакции (1). Во-вторых, липидный радикал вступает в реакцию с молекулярным кислородом (2a), давая молекулу супероксидного радикала липида (LOO[•]), которая способна реагировать с другой молекулой липида (2b). Инициирование:

$$LH + ROS \longrightarrow ROSH + L^{\bullet}$$
 (1)

распространение

$$\overset{\checkmark}{\text{L}^{\bullet}} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{LOO}^{\bullet}$$
(2a)

$$LOO^{\bullet} + LH \longrightarrow LOOH + L^{\bullet}$$
 (2b)

прекращение

$$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow L^{-}L$$
 (3a)

$$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow L=O + LOH + O_2$$
 (3b)

$$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow L=O + LOH$$
 (3c)

Образование молекулы супероксида липида (LOOH) и регенерация липидного радикала (который может реагировать с другой молекулой кислорода и липида) являются результатами стадии распространения. Регенерация липидного радикала проявляет цепной реакционный характер перекисного окисления, которое может быть прекращено только при реакции двух молекул радикала. Димеры липидов (L-L), гидроксиды (LOH) и оксиды (L = O) относятся к продуктам терминальной стадии. Продукты реакций (3b) и (3c) (оксиды липидов) ответственны за увеличение поглощения полосы (C = O).



Рисунок 3.56 - ИК спектр экстрагированных липидов плазмы после испарения хлороформа, полученный на приставке НПВО

Ha рисунке 3.56 показан ИК спектр НПВО липидов, экстрагированных из плазмы. Описание отнесенных полос поглощения приведено в таблице 3.30. В диапазоне от 3050 до 2750 см⁻¹ полосы соответствуют асимметричным и симметричным валентным колебаниям метильной и метиленовой групп. Асимметричные и симметричные полосы метильных групп были обозначены как v_{as}(CH₃) и v_s(CH₃) соответственно. Их максимумы приходятся на волновые числа 2958 и 2868 см⁻¹, тогда как асимметричные и симметричные полосы метиленовых групп, обозначенные как v_{as}(CH₂) и v_s(CH₂), встречаются на 2920 и 2852 см⁻¹. На 1738 см⁻¹ находится очень важная полоса, связанная с валентными колебаниями карбонильной группы (С = О): особенно сложноэфирные связи между жирными кислотами и глицерином в молекулах липидов. Однако этот тип связи может быть также образован путем перекисного окисления цепей что жирных кислот. Поэтому можно предположить, увеличение интенсивности этой полосы указывает на усиление окисления липидов в образце. Последующие полосы расположены под следующими волновыми числами: 1495 см⁻¹ (валентное колебание группы N–CH₃, производное холина), 1465 и 1377 см⁻¹ (деформационные колебания метильной и метиленовой групп жирных кислот), 1184 см⁻¹ (валентное колебание группы С–О сложноэфирной связи липидов) и 1082 см⁻¹ (валентное колебание фосфатной группы PO₂).



Рисунок 3.57 - ИК спектры липидной пленки, соответствующие полосе (С = O); увеличение полосы поглощения из-за H₂O₂ [1]

На рисунке 3.57 представлены спектры одной серии измерений окисления липидов плазмы в спектральном диапазоне 1800–1650 см⁻¹ с полосой (С = О). Каждый из спектров был нормализован по полосе (СН₃). Видно увеличение интенсивности полосы (С=О) в результате окисления.

Выполнение работы

- 1) Экстракция липидов из образцов плазмы/сыворотки крови. Для этого приготовьте смесь хлороформа и плазмы в объемном соотношении 9:1. Встряхните содержимое пробирки в течение 5 минут. Удалите белковый осадок фильтрацией. Чтобы удалить остатки белков из надосадочной жилкости. добавьте небольшое количество деионизированной воды в соотношении 1:10, снова встряхните в течение пяти минут и отцентрифугируйте в течение 10 минут при 3800 об/мин. В результате центрифугирования следует разделение на две фазы: верхнюю (водную), содержащую белок, И нижнюю (органическую), содержащую липидную фракцию. Верхнюю фазу вместе с остальным белковым осадком удалите, после чего повторите процедуру удаления белков.
- 2) Приготовление водной суспензии липидов. Для дальнейшего окисления приготовьте суспензию мультиламеллярных липосом из экстрагированных липидов. После выпаривания растворителя к сухой

массе добавьте деионизированную воду и обработайте ультразвуком до получения суспензии молочно-белого цвета.

- 3) Окисление суспензии липидов перекисью водорода. Пероксид водорода H₂O₂ с концентрацией 30% разбавьте до 0,5%. Водную суспензию липидов окислить H₂O₂ сконцентрациями: 0 (контроль), 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 5.0, 10.0 и 20.0 мМ. Образцы липидной суспензии инкубируйте в термомиксере при 37 ° С в течение 30 мин.
- 4) Изготовление липидных пленок на приставке НПВО. В образец водной суспензии липидов плазмы объемом 2 мл, приготовленный, как описано в пункте 3, добавить 3 мл хлороформа, а затем встряхивать в течение пяти минут для экстракции липидов из водного раствора. После центрифугирования образцов в течение 10 минут при 3800 об/мин органическую фазу отделить от водной фазы. Органическую фазу концентрировать выпариванием липидного раствора в смеси до объема примерно 50 мкл. Каплю концентрированного липидного раствора поместить на кристалл приставки НПВО. Во время испарения растворителя записывать спектры НПВО вплоть до исчезновения полосы при 760 см⁻¹, которая указывает на присутствие хлороформа.
- 5) Для анализа выбирете две полосы (CH₃) при 2958 см⁻¹ и (C = O) при 1738 см⁻¹. Вместе с окислением липидов происходит увеличение интегрального поглощения полосы (C = O). Значения интегрального поглощения полос (CH₃) в диапазоне 2982–2942 см⁻¹ и (C = O) в диапазоне 1787–1685 см⁻¹ определите с помощью программы OPUS. Чтобы стандартизировать результаты, вычислите отношение интегрального поглощения полосы (C = O) по отношению к полосе (CH₃) по формуле

$$I = \frac{A_{1738}}{A_{2958}}.$$

6) Рассчитайте изменение значения параметра *I* по отношению к контрольному образцу (*I*_{contr}), не подвергшемуся окислению (концентрация H₂O₂ равна 0 мМ), по формуле

$$\Delta I = \frac{I - I_{contr}}{I_{contr}} \cdot 100\%.$$

7) Постройте зависимость ΔI от функции концентрации H_2O_2 . Какой функцией можно описать эту зависимость?

Контрольные вопросы

- 1) Опишите структуру фосфолипидов. Какие полосы поглощения в ИК спектрах должны наблюдаться для даннных объектов?
- 2) Опишите процесс перекисного окисления липидов.
- 3) Почему в спектре липидов присутствуют две полосы поглощения, отвественные за колебание С=О группы.

3.6 ИК спектроскопия и многомерный анализ

3.6.1 Применение метода главных компонент для решения задач классификации на основе ИК спектральных данных

Цель работы: ознакомиться с применением метода главных компонент к обработке ИК спектральных данных.

Приборы и материалы: ИК спектрометр, приставка НПВО, 2 вида печатной продукции, либо 2 вида лекарственных препаратов (ибупрофен и кетопрофен).

Теоретические основы

Методы колебательной спектроскопии, ИК В частности спектроскопия с преобразованием Фурье, оказались успешными методами изучения взаимодействия биологическими света с материалами. Спектрохимический анализ очень привлекателен для скрининга и диагностики заболеваний, микробиологических исследований, а также судебно-медицинских и экологических исследований из-за его низкой стоимости, минимальной подготовки проб, неразрушающего характера и существенно точных результатов.

Интерпретация ИК спектра, полученного ОТ такого многокомпонентного объекта, как, например, биожидкость, может быть очень сложной из-за большого количества соединений в смеси, которые также часто перекрываются, и наличия большого количества воды в образце. Кроме того, различия между образцами при различных патологических состояниях очень малы, и их трудно наблюдать в необработанных спектрах. Следовательно, для получения значимой информации и более глубокого понимания нам необходимо обрабатывать и анализировать данные. Методы анализа данных, которые работают только с одной переменной за раз, называются одномерными методами. Методы одномерного анализа данных, такие как производные первого и второго порядка, аппроксимация кривой, разностный спектральный анализ и различные интенсивности/площади полос под отношениями кривых, облегчают визуализацию сдвигов полос, уширения пиков, изменения интенсивности и т. д. Однако спектроскопические данные состоят из тысяч переменных (волновых чисел) и измерений (объекты/наблюдения). Чтобы использовать полную информацию о сложных спектрах и обрабатывать

большой набор данных, необходим многомерный анализ. Пол многомерным анализом данных понимаются методы анализа данных, которые одновременно работают с более чем одной переменной. Основная цель этих методов статистического анализа - понять взаимосвязь между переменными. Это основано рассмотрения множества на идее неизбирательных переменных вместо одной переменной с последующим их Применение объединением В многомерной модели. многомерных биологии статистических методов в химии И также называется хемометрикой.

Хемометрика определяется как «химическая дисциплина, применяющая математические, статистические И другие методы, формальной логике, на для построения или отбора основанные оптимальных методов измерения и планов эксперимента, а также для извлечения наиболее важной информации при анализе экспериментальных данных.» [39]. То есть, хемометрика - это информационный аспект химии, поскольку математические она предоставляет И статистические инструменты для анализа сложных химических и биологических данных.

Многомерные методы в химическом контексте можно рассматривать как расширение закона Бугера-Ламберта-Бера в многокомпонентном подходе, где поглощение (спектральный отклик) представляет собой коэффициентов линейную комбинацию временных концентрации. Спектроскопические данные могут быть отображены в виде матрицы, где представляют волновые числа (переменные), столбцы a строки представляют образцы, в нашем случае - наблюдения (спектры), т.е. каждый спектр представлен строкой в матрице. Этот тип данных будет называться X[N, K], где N - количество наблюдений, а K - количество переменных или дескрипторов в матрице данных. Концентрации связаны с различиями в образцах и, таким образом, используются для оценки реальной химической концентрации или для поиска сходства или различия между образцами, в то время как коэффициенты представляют собой вес каждой переменной (например, волнового числа) в линейной комбинации, таким образом, используются для нахождения возможные спектральные маркеры.

Методы многомерного анализа в целом делятся на две группы: методы без учителя, т.е. неконтролируемые, и методы с учителем обучения. Неконтролируемые контролируемые методы методы используются, когда нет доступных руководящих указаний (маркировки), например МГК. Неконтролируемые методы очень полезны для поиска скрытых структур в немаркированных данных и часто используются в качестве предшественников контролируемых методов при работе с огромными наборами данных. Различные алгоритмы кластерного анализа, такие как К-средних, иерархический кластерный анализ (НСА) и т. д., также считаются неконтролируемыми методами. Контролируемые методы отличаются от неконтролируемых методов тем, что они маркируют классы, подлежащие различению. В отличие от неконтролируемых методов, есть два важных этапа. «Фаза обучения» рассматривается как этап пассивного моделирования, на котором используется «набор обучающих данных» (помеченный) для поиска закономерностей в данных. Параметры модели, полученные на этапе обучения, сохраняются для дальнейшей проверки. Вторая фаза, называемая «фазой прогнозирования» (фаза тестирования), является активной стадией, на которой невидимые данные (данные, которые не были частью обучающего набора) проверяются с использованием изученных параметров модели, на первом этапе, например, с дискриминантного (DA), использованием анализа множественной линейной регрессии (MLR), регрессии главных компонентов (PCR), частичных наименьших квадратов (PLS), машины опорных векторов (SVM).



Рисунок 3.58 - Графическая иллюстрация эквивалентности между собранными экспериментальными данными (в данном случае спектры NIR для 6 образцов) и матрицей данных Х. Каждая строка матрицы данных соответствует спектру образца, тогда как каждый столбец содержит значение конкретной переменной по всем людям [40]

В большей части исследований по характеристике фармацевтических образцов для контроля качества, проверки соответствия и идентификации / обнаружения подделки, мошенничества или фальсификации экспериментальные сигналы (обычно в виде некоторых видов отпечатков пальцев) собираются на серии образцов. Это данные, на которых оперируют хемометрические модели. Эти данные обычно упорядочиваются в форме матрицы **X**, имеющей столько строк, сколько есть спектров в выборке, и столько столбцов, сколько измеряемых переменных. Соответственно, если предположить, что образцы спектроскопически характеризуются путем сбора профиля поглощения (или отражения / пропускания) (например, в ИК

области), каждая строка матрицы соответствует всему спектру конкретного образца, тогда как каждый столбец представляет оптическую плотность (или коэффициент отражения / пропускания) всех особей при определенном волновом числе. Эта эквивалентность экспериментальных профилей и их матричного представления графически представлена на рисунке 3.58.

После сбора данных исследовательский анализ данных представляет собой первый шаг любой хемометрической обработки, поскольку он позволяет «суммировать основные характеристики данных в простой для понимания форме, часто с визуальными графиками, без использования сформулировав модели или гипотезу» статистической [40]. Исследовательский анализ данных дает общее представление об изучаемой системе, позволяя выявить возможные сходства / несходства между выборками, выявить наличие кластеров или, в целом, систематические тенденции, выявить, какие переменные имеют отношение к описанию системы и, с другой стороны, от которой в принципе можно отказаться, а также для обнаружения возможных выпадающих, аномальных или, по крайней мере, подозрительных образцов (если они есть). Из приведенного выше определения, в контексте исследовательского анализа данных ключевую роль играет возможность фиксации основной структуры данных в серии репрезентативных графиков с помощью соответствующих методов отображения. Действительно, рассматривая общую матрицу данных Х размерности N × M, можно думать о ее элементах как о координатах N точек (выборок) в М-мерном пространстве, оси которого являются переменными, что делает такое представление неприменимым для случаи, когда на каждого человека собирается более трех дескрипторов. Вот почему исследовательский анализ данных часто полагается на использование методов проекции (билинейных) для уменьшения размерности данных «умным» способом. Методы проекции ищут низкоразмерное представление данных, оси которого (обычно рассматриваемые компоненты или скрытые переменные) как можно более релевантны для конкретной задачи. В случае исследовательского анализа данных наиболее часто используется метод анализа главных компонентов (МГК).

Memod главных компонентов (Principal Component Analysis, PCA) - это метод проекции, который ищет направления в многомерном пространстве, постепенно обеспечивая наилучшее соответствие распределения данных, то есть наилучшее приближение к данным по методу наименьших квадратов. Именно поэтому метод РСА часто выбирают для анализа данных. Действительно, по определению, для любого желаемого количества (компонентов) окончательном измерений F В представлении подпространство, идентифицированное PCA, составляет наиболее точное Fмерное приближение исходных данных. Это позволяет сжать размерность данных, в то же время сводя к минимуму потерю информации. В частности, начиная с матрицы данных X (N \times M), анализ главных компонентов основан на его билинейном разложении, которое можно математически описать уравнением (1):

$$X = TPT + E.$$
(1)

Матрица нагрузок $P(M \times F)$ определяет направления F, т. е. главные компоненты (PC), по которым должны проецироваться данные, и результаты такого проецирования, т. е. координаты выборок на это сокращенное подпространство, собраны в матрице оценок $T(N \times F)$. Чтобы достичь сжатия данных, обычно F«М, так что представление PCA обеспечивает аппроксимацию исходных данных, остатки которых собраны в матрице $E(N \times M)$. Поскольку оценки представляют собой новый набор координат вдоль высокоинформативных (релевантных) направлений, они могут использоваться в двух- или трехмерных диаграммах рассеяния (диаграммах оценок). Это предлагает прямую визуализацию данных, которая может выделить возможные тенденции в данных, наличие кластеров или, в целом, лежащую в основе структуру. Схематическое представление того, как работает МГК, показано на рисунке 3.59.



Рисунок 3.59 - Графическое изображение основ РСА. Образцы, представленные здесь в трехмерном пространстве, проецируются на подпространство низкой размерности (выделено светло-красным цветом на крайней левой панели), охватываемое первыми двумя основными компонентами. Проверка набора данных может быть проведена путем просмотра распределения выборок в информативном подпространстве ПК (график оценок), а затем может быть проведена интерпретация путем изучения относительного вклада экспериментальной переменной в определение основных компонентов (график нагрузок) [39]

На рисунке 3.59 показан один из простейших возможных примеров уменьшения признаков, поскольку он описывает случай, когда образцы, переменными, описываемые тремя измеряемыми могут быть аппроксимированы путем проецирования на соответствующим образом выбранное двумерное подпространство. Однако эту концепцию можно легко обобщить для задач более высокой размерности, например, связанных со спектроскопическими измерениями. На рисунке 3.60 показан пример применения РСА к данным спектроскопии в среднем инфракрасном В представлена извлечения диапазоне. частности, возможность максимально возможной информации из ИК спектров, записанных на 51 таблетке, содержащей либо кетопрофен, либо ибупрофен в области 2000-680 см⁻¹.



Рисунок 3.60 - Графическая иллюстрация применения РСА к спектральным данным (в среднем ИК диапазоне). Пятьдесят один спектр, записанный на образцах, содержащих либо ибупрофен (синий), либо кетопрофен (красный), зарегистрирован в области 680–2000 см⁻¹ (А). Когда РСА применяется к такому набору данных, получается график оценок (В), показывающий, что два кластера образцов, соответствующих таблеткам, содержащим ибупрофен (синие квадраты) или кетопрофен (красные кружки), разделены по первому компоненту. Интерпретация наблюдаемых различий с точки зрения спектроскопического сигнала стала возможной благодаря проверке нагрузок на ГК, которые показаны в «спектральной» форме на (С) [40]

Большая часть изменчивости данных может быть суммирована путем проецирования выборок на пространство, охватываемое первыми двумя главными компонентами, которые составляют около 90% исходной дисперсии и, следовательно, могут рассматриваться как хорошее приближение экспериментальной матрицы. Изучение графика оценок позволяет предположить, что основным источником вариабельности является разница между таблетками ибупрофена (синие квадраты) и таблетками кетопрофена (красные кружки), поскольку эти два кластера полностью разделены по первому основному компоненту. Чтобы интерпретировать наблюдаемую кластерную структуру с точки зрения измеряемых переменных, затем необходимо проверить соответствующие нагрузки, которые также показаны на рисунке 3.60 для ГК1. Действительно, для спектральных данных возможность построения графиков нагрузок для отдельных компонентов в виде профиля, а не построения диаграммы разброса для пар скрытых переменных (как показано на рисунке 3.59) часто является предпочтительной из-за ее более простой интерпретируемости. Спектральные области, имеющие положительные нагрузки, будут иметь более высокую интенсивность для образцов, которые имеют положительные оценки по соответствующему компоненту, тогда как полосы, связанные с отрицательными нагрузками, будут иметь более высокую интенсивность для образцов, попадающих в отрицательные значения ГК. В примере, представленном на рисунке 2.60, можно, например, сделать вывод, что образцы кетопрофена (которые имеют положительные значения ГК1) имеют более высокое поглощение при волновых числах, где нагрузки положительные, тогда как образцы ибупрофена должны давать высокий сигнал, соответствующий полосам, более показываюшим отрицательные нагрузки.

Исходя из вышеизложенного, очевидно, как качество сжатого представления в пространстве ГК зависит от количества компонентов F, выбранных для описания данных. Однако в то же время необходимо когда целью вычисления МГК является «только» отметить, что, отображение данных, как в большинстве приложений в контексте исследовательского анализа, выбор оптимального количества компонентов не является критическим. Обычно достаточно проверить распределение данных по первым нескольким измерениям, и во многих случаях может быть достаточно рассмотрения графика оценок, полученного на основе первых двух или трех компонентов. С другой стороны, могут быть случаи, когда цель исследовательского анализа не ограничивается простой визуализацией данных, и, например, кто-то заинтересован в идентификации аномальных или отдаленных наблюдений, или может возникнуть необходимость вменения недостающие элементы в матрице данных; кроме того, может потребоваться получить сжатое представление данных, дальнейшего которые будут использоваться прогнозного для

моделирования. Во всех таких случаях выбор оптимальной размерности представления ГК является критичным для конкретных целей и, следовательно, количество ГК следует тщательно оценивать.

Среди описанных выше приложений возможность использования МГК для идентификации / обнаружения потенциальных выбросов заслуживает нескольких слов, так как это может представлять интерес для контроля качества фармацевтических препаратов. На самом деле, хотя выбросы - или аномальные наблюдения в целом - можно, в принципе, исследовать путем визуального изучения графика оценок по первым компонентам, этот подход может быть субъективным и в любом случае не учитывать некоторые возможные расхождения в данных. В качестве альтернативы, когда он используется в качестве модели для построения подходящей аппроксимации данных, МГК предоставляет мощный набор инструментов для обнаружения выбросов на основе определения более объективной тестовой статистики, которую можно легко автоматизировать или, в любом случае, встроить в стратегии управления, также он-лайн. Это достигается путем определения двух измерений расстояния: (i) квадрат расстояния Махаланобиса в пространстве оценок, который следует статистике Т2 и учитывает, насколько экстремальными являются измерения в подпространстве главных компонентов, и (ii) а квадрат ортогонального евклидова расстояния (сумма квадратов остатков после аппроксимации наблюдения его проекцией), который обычно обозначается как Qстатистика и количественно определяет, насколько хорошо модель подходит этой конкретной выборке. Затем выполняется обнаружение выбросов путем установки соответствующих пороговых значений для статистики Т2 и Q и проверки того, находятся ли образцы ниже или выше этих критических пределов. Более того, как только наблюдение определяется как потенциальный выброс, проверка графика вклада может помочь связать обнаруженную аномалию с поведением конкретных измеряемых переменных.

МГК обычно используется для контроля качества лекарств и препаратов. Существует фармацевтических множество примеров применения этого метода для решения различных проблем. Одна из наиболее очевидных актуальных задач - выявление фальсификатов. Еще одним важным приложеним исследовательского анализа является проверка качества. Например, МГК можно применять для исследования составов, не соответствующих заранее заданным параметрам, а также можно использовать повседневных проверок качества для конце В производственного процесса.

Выполнение работы

1) Сбор данных

ИК спектры исследуемых образцов следует записать на Фурье спектрометре BRUKER Tenzor 37, на приставке Miracle ATR, в режиме НПВО со сканированием 32 скана, разрешение 2 см⁻¹. Провести предварительную обработку ИК спектров, например, коррекцию базовой линии и нормирование.

Вариант 1 – метод МГК в фармацевтическом анализе

Запишите по 15 спектров препаратов, содержащих ибупрофен и кетопрофен. Каждую таблетку следует измельчить в ступке отдельно и записать ИК спектр каждого образца.

Вариант 2 – метод МГК в криминалистическом анализе

Для исследования используются 2 экземпляра издания брошюр: экземпляр №1 – 2015 год, издан с согласия авторов, экземпляр №2 – 2019 год, подозреваемый в контрафактном издании без согласия авторов. Запишите 30 спектров страниц бумажного издания – например, ИК спектр верхнего левого угла каждой 10-й страницыв каждом экземпляре (т.е. по 15 ИК спектров от каждого экземпляра).

- 2) Обработка набора данных
 - Метематическую обработку спектров предлагается совершать в программном пакете The Unscrambler. Предварительно обработанные спектры (коррекция базовой линии, векторное нормирование) импортируйте в программу TheUnscrambler, тем самым создав в программе таблицу данных, матрицу *X*.
 - Используя графический объект Matrix, постройте *X*, изучите спектры для всех образцов.
 - Исходные спектры не всегда обладают выраженными различиями. Для усиления и выявления существующих различий в спектрах получите первую и вторую производные спектров и далее их обработайте методом МГК, совершив действия Modify → Transform → Derivatives → S.Golay.
 - Проведите обработку базы спектров методом МГК (PCA), для этого в меню Task выберите метод PCA.
 - В меню Principal Component Analisys задать количество образцов Sample set = 30.
 - Выберите метод валидации: Validation method Leverage Correction корректировка размахом.
 - Задайте число рассчитываемых главных компонент NumPCs=9.
 - Задайте область переменных Variable set взависимости от выбранной области для анализа.

• Проведите процедуру анализа методом РСА (метод главных компонент).

Результат выглядит следующим образом (расположение образцов может варьироваться в зависимости от выбранной области ИК спектра для анализа):



Рисунок 3.61 - Результат процедуры анализа выборки методом главных компонент. Экземпляр №1 – синие точки, Экземпляр №2 – красные точки

3) Анализ результатов

<u>Верхнее левое окно:</u> Счета – Scores. Расположение образцов в осях главных компонент ГК1(PC1) и ГК2(PC2).

Можно ли определить по графику наличие отдельных групп в анализируемой выборке?

<u>Верхнее правое окно:</u> Нагрузки – Loadings в осях главных компонент ГК1(PC1) и ГК2(PC2).

В этом окне необходимо рассмотреть одномерные нагрузки по оси ГК1 и оси ГК2, максимальные амплитуды в их графиках говорят о наибольшем влиянии соответствующей частоты на распределение образцов в окне счетов.

Какие частоты вносят наибольший вклад в изменение координат образцов по оси ГК1 и оси ГК2?

<u>Нижнее левое окно</u>: Остатки – Residuals. Остатки показывают, насколько положение образца в новых координатах главных компонент (т.е. в полученной модели рассматриваемых данных) отличается от положения образца в пространстве переменных**р.** Если у какого-либо образца наблюдается очень большой остаток и его расположение сильно отличается от положения основной массы образцов, то такой экземпляр является скорее всего выбросом, либо данная выборка слишком мала, чтобы учесть все возможные вариации образцов.

Оцените наличие выбросов в анализируемом наборе данных.

<u>Нижнее правое окно:</u> Доля описанной моделью изменчивости выборки. Доля описанной моделью дисперсии выборки зависит от количества главных компонент, взятых в модель. График в этом окне построен в осях: ось абцисс – номера главных компонент, ось ординат – процент учтенной дисперсии.

Какой процент дисперсии выборки описан моделью? Какой процент дисперсии описан ГК1 и какой ГК2?

4) Оформите выводы в виде графика счетов и нагрузок с указанием частот, вносящих наибольший вклад в различие двух групп, и описанием процента дисперсии, описываемого моделью.

Контрольные вопросы

- 1) Для чего обычно применяют метод главных компонент?
- 2) Как устроена матрица Х?
- 3) Как определить процент дисперсии выборки описанной моделью? Какой процент дисперсии описан ГК1 и какой ГК2?

3.6.2 Обработка данных ИК спектроскопии с помощью метода проекций на латентные структуры

Цель работы: Применить к ИК спектральным данным метод ПЛС;построить калибровочную модель по нескольким образцам с известным значением октанового числа и провести предсказание величины этого параметра Y новых образцов с помощью созданной модели.

Приборы и материалы: ИК спектрометр, набор бензинов с известным октановым числом (или набор спектров бензинов)

Краткая теория

Как обсуждалось в предыдущей лабораторной работе, исследовательский анализ - это первый и фундаментальный шаг в обработке хемометрических данных, а в некоторых случаях он может быть единственным подходом, необходимым для характеристики исследуемых образцов. Однако из-за своего неконтролируемого характера он дает только объективную картину распределения данных, но в нем отсутствует возможность формулировать прогнозы на основе новых наблюдений, что, с другой стороны, может быть фундаментальным аспектом для решения конкретных проблем. На практике очень часто контроль качества и / или аутентификация фармацевтических или других продуктов основываются на некоторых формах качественных или количественных прогнозов. Например, количественная оценка конкретного соединения (например, активного ингредиента или вспомогательного вещества), содержащегося в составе, является рутинной операцией в фармацевтических лабораториях. Эта цель может быть достигнута путем объединения инструментальных (например, спектроскопических) измерений с подходами хемометрической регрессии.

Регрессионный анализ – статистический метод исследования. Он позволяет оценить зависимость одной (зависимой) переменной от (независимых) переменных. Зависимой других переменной может любая величина, прямыми выступать которую сложно оценить измерениями.

Формула линейной регрессии такова:

$$Y = a_0 + a_1 * x_1 + \dots + a_n * x_n,$$

где У — зависимая переменная,

х— независимые переменные,

а коэффициенты регрессии,

n – количество независимых переменных.

Самой очевидной является простая линейная регрессия:

$$y = a + b * x,$$

где у – зависимая переменная,

х – независимая переменная,

а и *b* – коэффициенты регрессии.

Однако если независимых и/или зависимых переменных несколько, то применяют множественный регрессионный анализ. Многомерная регрессия - моделирование **Y** по известным значениям **X**. Матрица **Y** состоит из зависимых переменных (отклики), в то время как **X** содержит соответствующие независимые переменные (предикторы в традиционном регрессионном анализе). На его основе разработан такой метод моделирования, как проекции на латентные структуры (ПЛС).

Метод проекций на латентные структуры (ПЛС)

Декомпозицию матриц в методе ПЛС нагляднее всего представить с помощью графического подхода (Рис. 3.62). ПЛС использует структуру данных **Y** и дисперсию **Y** напрямую, как некоторое руководство для декомпозиции матрицы **X**. В результате получаются оптимальные регрессионные соотношения.



Рисунок 3.62 - Декомпозиция матриц в методе ПЛС

В ПЛС методе пространства X и Y тесно связаны друг с другом. Это достигается с помощью специального вектора счетов U, который является отправным пунктом для расчета вектора t-счетов при декомпозиции матрицы X. При этом в методе ПЛС начальный вектор t1 заменяется на u1, и, таким образом, структура данных Y напрямую влияет на декомпозицию X, которая получается отличной от МГК-декомпозиции (метод главных компонент). Затем, на соответствующей стадии ПЛС-алгоритма при декомпозиции Y''пространства, значения u1 заменяются на t1.

Решающее отличие заключается в том, что вектор **u1** (отражающий структуру **Y**), при помощи которого выбирается первое направление в декомпозиции **X**, дает новые нагрузки для **X**, обозначаемые теперь символом **w** (от «loading...weights» - взвешенные нагрузки).

После этого **t**-векторы пространства **X** рассчитывают с помощью обычного МГК-алгоритма, в котором, однако, используются новые векторы нагрузок **w**. Затем эти **t**-векторы применяются как стартовые, заменяющие **u1**, симметрично в пространстве **Y**. Таким образом, структура данных **X** также влияет на МГК-декомпозицию **Y**.

Специфика ПЛС-алгоритма, который был представлен выше, заключается в итерационной замене независимых векторов u1 - t1 и t1 - u1, пока алгоритм не сойдется. В итоге, после того, как алгоритм сойдется, для текущего числа ПЛС-компонент (f) будут вычислены два набора - (t,w) для пространства X и (u,q) для Y -пространства.

Методы регрессии в целом, и особенно ПЛС, часто сочетаются со спектроскопией с целью разработки быстрых и (иногда) неразрушающих методологий для количественного определения активных ингредиентов в составах. Например, данный метод применяют в фармацевтических исследованиях для количественной оценки компонентов в смеси лекартвоенных препаратов. В данной же лабораторной работе предлагается применить данный метод обработки спектральных данных для определения октанового числа бензина.

Порядок выполнения работы

1. Получение ИК спектры образцов

Для выполнения работы необходимы ИК спектры образцов бензина с различным значением октанового числа. Получить данные для работы можно двумя способами:

- 1 Получение ИК спектров образцов осуществляется на Фурье спектрометре Bruker Tenzor 37, на приставке Miracle ATR, в режиме НПВО со сканированием 32 скана, разрешение 2 см⁻¹. Проводится предварительная обработка ИК спектров, например, коррекция базовой линии, нормирование и т.д. в пакете OPUS.
- 2 Воспользуйтесь готовой базой образцов. Для создания модели подготовлен набор обучающих данных из 26-ти ИК спектров в файле **trainoil.00D** и набор тестовых данных из 13 ИК спектров в файле **testoil.00D**.

2. Импорт данных в пакет TheUnscrambler и подготовка базы к моделированию

- Используйте программный пакет TheUnscrambler для многовариантного анализа и графического представления.
- Импортируйте файл из программного пакета OPUS, имеющего формат ****.0 в программу The Unscrambler \rightarrow File \rightarrow Import \rightarrow Opus.
- Создайте в импортированной базе столбец с именем octane и введите в него значения октанового числа для каждого образца. Создайте категориальную переменную с именем Туре, присвоить образцам тип High, Medium, Low в зависимости от значения октанового числа для каждого образца.

3. Создание многовариантной регрессионной модели

Для того чтобы создать калибровочную модель по выборке образцов с известным значением параметра «октановое число», необходимо провести регрессионный анализ, используя обучающие данные (trainoil.00D) ИК спектров или, что то же самое, матрицы *X* методом ПЛС (PLS).

Перед началом работы проанализируйте имеющуюся в вашем распоряжении базу. Каждая строка базы соответствует ИК спектру конктретного образца. В столбцах базы находятся значения ИК спектров образцов для определнного волнового числа. В столбце 2 'Туре' вы увидите три вида значений, соответствующих высокому, среднему и низкому значению октанового числа для образцов, составляющих базу данных (Рис.3.63).

Выделите три спектра с различным типом октанового числа. Используя графический объект Plot → Line, постройте 2D график выделенных спектров, таким образом, можно наглядно изучить ИК спектры для этих образцов (Рисунок 3.64).

Octane Addi M01 1 No M02 2 No M05 3 No L06 4 No H11 5 No L13 7 No L15 9 No H17 10 No H20 12 No	ivated Type 1 2 Medium Medium Medium Low High	N +⊡ octane 3 88.6000 88.8000 89.4000 86.7000 86.7000 84.2000	+1100.0 4 -1.8345e-03 -1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	► 1102.0 5 -1.4965e-03 -1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03		Y K W
Octane Addi MD1 1 No M02 2 No L06 4 No H11 5 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No H20 12 No L21 13 No	tivated Type 1 2 Medium Medium Low High	octane 3 88.6000 88.8000 89.4000 86.7000	1100.0 4 -1.8345e-03 -1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	1102.0 5 -1.4965e-03 -1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03	-1.008 -7.481 1.807	
Octane Addl M01 1 No M02 2 No M05 3 No L06 4 No H11 5 No H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No H20 12 No	tivated Type 1 2 Medium Medium Medium Low High	octane 3 88.6000 88.8000 89.4000 86.7000 04.2000	1100.0 4 -1.8345e-03 -1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	1102.0 5 -1.4965e-03 -1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03	-1.008 -7.481 1.807	
Addi M01 1 No M02 2 No M05 3 No L06 4 No H11 5 No H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 3 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No	tivated Type 1 2 Medium Medium Medium Low High	octane 3 88.6000 88.8000 89.4000 86.7000 04.2000	1100.0 4 -1.8345e-03 -1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	1102.0 5 -1.4965e-03 -1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03	1104▲ 6 -1.008 -7.481 1.807	
M01 1 No M02 2 No M05 3 No L06 4 No H11 5 No H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 5 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No L21 13 No	1 2 Medium Medium Medium Low High	3 88.6000 88.8000 89.4000 86.7000	4 -1.8345e-03 -1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	5 -1.4965e-03 -1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03	6 -1.008 -7.481 1.807	
M01 1 No M02 2 No M05 3 No L06 4 No H11 5 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No	Medium Medium Medium Low High	88.6000 88.8000 89.4000 86.7000	-1.8345e-03 -1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	-1.4965e-03 -1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03	-1.008 -7.481 1.807	
M02 2 No M05 3 No L06 4 No H11 5 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No	Medium Medium Low High	88.8000 89.4000 86.7000	-1.6270e-03 -4.6487e-04 -1.4426e-03	-1.2608e-03 -3.3003e-04 -1.0941e-03	-7.481 1.807	
M05 3 No L06 4 No H11 5 No H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No	Medium Low High	89.4000 86.7000	-4.6487e-04 -1.4426e-03	-3.3003e-04	1.807	
L06 4 No H11 5 No H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No L21 13 No	Low High	86.7000	-1.4426e-03	-1.0941e-03		
H11 S No H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 3 No H17 10 No H18 11 No H20 12 No	High	04.0000			-5.957	
H12 6 No L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No M18 11 No H20 12 No L21 13 No		91.2000	-1.6075e-03	-1.1549e-03	-5.483	
L13 7 No L14 8 No L15 9 No H17 10 No M18 11 No H20 12 No	High	91.3000	-5.0201e-04	-5.3970e-06	6.568	
L14 8 No L15 9 No H17 10 No M18 11 No H20 12 No L21 13 No	Low	87.4000	-1.1307e-03	-8.0107e-04	-3.230	
L15 9 No H17 10 No M18 11 No H20 12 No L21 13 No	Low	87.1000	-1.9691e-03	-1.6273e-03	-1.135	
H17 10 No M18 11 No H20 12 No L21 13 No	Low	87.0000	-1.2943e-03	-9.5174e-04	-4.732	
M18 11 No H20 12 No L21 13 No	High	91.8000	-9.8381e-04	-5.4232e-04	4.660	
H20 12 No	Medium	89.1000	-1.2279e-03	-8.4948e-04	-3.259	
L21 13 No	High	91.8000	-1.5178e-03	-1.1265e-03	-5.891	
	Low	86.9000	-1.6707e-03	-1.3024e-03	-7.786	
H24 14 No	High	91.7000	-1.5543e-03	-1.0224e-03	-3.313	
H27 15 No	High	91.7000	-1.5807e-03	-1.1741e-03	-6.172	
•						
						1

Рисунок 3.63 - База ИК спектров обучающей выборки



Рисунок 3.64- 2D график выделенных ИК спектров

3.1 Создание модели

Для создания регрессионной модели по ИК спектрам бензинов проведите многомерную калибровку по октановому числу, используя для проверки модели процедуру Full cross validation.

Для этого в пакете TheUnscrambler в верхнем горизонтальном меню выберите

Задайте обучающую выборку (trainoil.00D) в Sample Set, метод проверки модели в Validation Method: выбирите cross validation и настройте его с помощью Setup.

В Setup выберите Method \rightarrow Full CrossValidation, в Number of segment все *n* образцов из нашей обучающей базы, Samples per Segment проставляем значение 1, т.е. при проверке модели будут происходить *n* вычислений модели, каждый раз с одним исключенным образцом.

В качестве **Х**-переменных (**X**-variables) выбрать столбцы таблицы, соответствующие определенным значениям волнового числа. В качестве переменной **Y** (**Y**-variables) назначьте столбец *octane*.

Проведите моделирование по заданным параметрам.

3.2 Интерпретация модели.

После вычислений при нажатии кнопки View на экран выводится 4 окна с результатами, в которых показаны основные особенности модели (Рис.3.65).



Рисунок 3.65 - Результат создания модели

The Unscrambler выполняет несколько тестов, чтобы проверить, насколько хорошо отдельные образцы или переменные описываются моделью.

3.2.1 На графике счетов (scores) видно два образца, расположенных довольно далеко от основной группы. Эта ситуация, как правило, отражается в листе ошибок Window → Worning List. В листе указаны

образы, имеющие экстремальные характеристики и, следовательно, они могут оказаться выбросами.

В пакете есть возможность выделить разными цветами образцы относящиеся к различным группам в столбце *octane*: Options \rightarrow Sample Goruping поставить галку в окне Enable Sample Grouping.

Исключите эти образцы из анализируемой выборки и пересчитайте модель снова.

3.2.2 В окне Residual Validation Varience определите число главных компонент (ГК) использованных для создания модели. Оптимальное количество главных компонент соответствует минимуму остаточной дисперсии для Ү. В примере на рисунке число ГК соответствует 3.

3.2.3 Обратите внимание на нижний правый график Measured vs. Predicted, выведите в этом графике статистику View → Plot Statistics. Зафиксируйте значение RMSEP - среднеквадратичной ошибки предсказания.

Сохраните созданную модель с уникальным именем. Мы будем ее использовать для прогнозирования октанового числа собранных нами неизвестных (тестовых) образцов.

3.3 Прогнозирование по созданной модели

Далее переходим к этапу прогнозирования или предсказания. На этом этапе используем тестовые данные из **testoil.00D.** В меню Task \rightarrow Predict в выпавшем окне выбрать в Sample Set тестовый файл, в Model Name созданную модель, в окне для ГК поставьте значение определенное в 3.2.3. Так же как и при создании модели, определите данные для X и Y. Нажмите кнопку **Ok.** Вы получите окно с предсказанными значениями октанового числа для образцов, у которых этот параметр не был известен.

Если среднеквадратичное отклонение образцов велико, то возможно, оценка образца проведена некорректно. Большие значения отклонения рассчитываются на основе спектров и указывают на то, что образцы отличаются от образцов, используемых для калибровки. Это было бы не очевидно из одних только предсказанных значений.

4 образца из файла **testoil.00D** включают добавку для повышения октанового числа. Это было бы не так легко обнаружить с помощью стандартных статистических методов.

Контрольные вопросы

1) Для чего используется метод ПЛС?

2) Для чего нужна обучающая выборка, а для чего тестовая?

3) Как определяется оптимальное количество главных компонент для проведения процедуры прогнозирования?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Stuart B. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, 2004, John Wiley & Sons, Ltd

[2] Handbook of Spectroscopy. Edited by G. Gauglitz and T. Vo-Dinh, 2003, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

[3] Тарасевич Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. Москва, 2012

[4] Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений, изд. "Мир", "БИНОМ лаборатория знаний", М.,2006;

[5] Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул, ИЛ, М., 1963;

[6] Беллами Л. Новые данные по ИК спектрам сложных молекул, изд. "Мир", М.,1971.

[7] James M. Thompson. Infrared Spectroscopy. 2018 Pan Stanford Publishing Pte. Ltd.

[8] Coates J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach Encyclopedia of Analytical Chemistry R.A. Meyers (Ed.) Copyright John Wiley & Sons Ltd

[9] Накамото К. Инфракрасные спектры неорганических и координационных соединений. Москва. 1991

[10] Григорьев А.И. Введение в колебательную спектроскопию неорганических соединений. Москва. 1977.

[11] Fermro J.R. Inorganic Infrared Spectroscopy Journd of Chemicol Educotion 1961, Vol. 38, No. 4, p. 201-208.

[12] Ефимова А.И., Головань Л.А., Кашкаров П.К., Сенявин В.М., Тимошенко В.Ю. Инфракрасная спектроскопия систем пониженной размерности: Учебное пособие. — Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2016. — 246 с.

[13] Ландсберг Г.С. Оптика. Учеб. Пособие: Для вузов. 6-е изд., стереот. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2003. 848 с.

[14] Nikonenko N. A., Tretinnikov O. N. Measurement of the thickness of thin polymer layers by infrared frustrated total internal reflection spectroscopy // Journal of Applied Spectroscopy, Vol. 75, No. 6, 2008 p 878-882.

[15] Пахомов П.М., Хижняк С.Д., Ситникова В.Е. Методы ИК спектроскопии в анализе строения рассеивающих полимерных материалов // Журнал прикладной спектроскопии. 2017. Т. 84. № 5. С. 780-785.

[16] Маланин М.Н., Пахомов П.М., Хижняк С.Д. ИК спектроскопический способ определения размера пор микропористого материала. // Патент РФ №2301986 от 05.10.2005.

[17] Пахомов П.М., Хижняк С.Д., Межеумов И.Н., Ситникова В.Е. ИК спектроскопический способ определения ориентации анизометричных частиц наполнителя в объеме полимерной матрицы // Патент на изобретение RU 2592750 C1, 27.07.2016. Заявка № 2015126676/28 от 06.07.2015.

[18] Ситникова В.Е. Спектроскопическое изучение структуры полимерных дисперсных систем // автореферат дис. ... кандидата химических наук / Твер. гос. ун-т. Тверь, 2015.

[19] Бутиков, Е.И. Оптика / Е.И. Бутиков – Москва, Высшая школа, 1986. – 512 с.

[20] Зисман, Г.А. Курс общей физики / Г.А. Зисман, О.М. Тодес– Москва, Наука, 1970. – Т.3 – 495 с.

[21] Eisenreich N., Rohe T. Infrared Spectroscopy in Analysis of Plastics Recycling Encyclopedia of Analytical Chemistry. 2006. John Wiley & Sons, Ltd. [22] Кузнецов Е.В. Практикум по химии и физике полимеров. М.,«Химия» 1977, 256 с.

[23] Дехант И., Данц Р., Киммер В. и др. Инфракрасная спектроскопия полимеров. М.: Химия, 1976.

[24] Шишелова Т. И., Созинова Т. В., Коновалова А. Н. Практикум по спектроскопии. Вода в минералах: Учебное пособие. М.: Академия Естествознания, 2010.

[25] Povarennykh A. S. The use of infrared spectra for the determination of minerals. American Mineralogist, Vol. 63, p. 956-959.

[26] Chukanov N.V., Chervonnyi A.D. (2016) IR Spectra of Minerals and Related Compounds, and Reference Samples' Data. In: Infrared Spectroscopy of Minerals and Related Compounds. Springer Mineralogy. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25349-7_2

[27] Chukanov N.V. (2014) IR Spectra of Minerals and Reference Samples Data. In: Infrared spectra of mineral species. Springer Geochemistry/Mineralogy. Springer, Dordrecht. <u>https://doi.org/10.1007/978-94-007-7128-4_2</u>

[28] M. Sprynsskyy, R. G-Kopciuch, K. Nowak, B. Buszewski, Colloids Surf. B 94, 2012, p. 7-14.

[29] Gunasekaran S., Anbalagan G., Pandi S. J. Raman Spectrosc. 2006, 37, p. 892–899.

[30] Veiderma M., Knubovets R., Tönsuaadu K. Structural properties of apatites from Finland studied by FTIR spectroscopy.

[31] Matthew J. Baker, Shawn R. Hussain, Lila Lovergne, Valerie Untereiner, Caryn Hughes, Roman A. Lukaszewski, Gerard Thiefin and Ganesh D. Sockalingum. Developing and understanding biofluid vibrational spectroscopy: a critical review // Chem. Soc. Rev. 2015.

[32] Movasaghi Z., Rehman S., Rehman I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues // Applied Spectroscopy Reviews, 2008, 43, p. 134–179,

[33] Butler H. J., Smith B. R., Fritzsch R., Radhakrishnan P., Palmer D. S., Baker M. J. Optimised spectral pre-processing for discrimination of biofluids via ATR-FTIR spectroscopy // Analyst, 2018, 143, 6121–6134.

[34] Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология / под ред. А.И. Арчакова, М.П. Кирпичникова, А.Е. Медведева, В.П. Скулачева ; пер.

с англ. О.В. Добрыниной, И.С. Севериной, Е.Д. Скоцеляс и др. М. : МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. 446 с.

[35] Луценко Н.Г. Начала биохимии: курс лекций. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. 125 с.

[36] Barth A., Zscherp C.. What vibrations tell us about proteins. Quarterly Reviews of Biophysics 35, 4 (2002), pp. 369–430.

[37 Murphy R.M., Tsai A.M. (2006) Protein Folding, Misfolding, Stability, and Aggregation. In: Misbehaving Proteins. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-36063-8_1

[38] Theodore Peters, Jr. All About Albumin 1st Edition Academic Press 1995, 432

[39] Родионова О. Е., Померанцев А. Л. Хемометрика: достижения и перспективы, 2006, *Усп. хим.*, **75**:4, 302–321; *Russian Chem. Reviews*, **75**:4 (2006), 271–287

[40] Alessandra Biancolillo and Federico Marini . Chemometric Methods for Spectroscopy-Based Pharmaceutical Analysis // Frontiers in Chemistry. 2018, Vol.6, Article 576.

Вера Евгеньевна Ситникова Мария Ивановна Фокина Татьяна Николаевна Носенко Инна Евгеньевна Стрельникова

Практикум по колебательной спектроскопии

В авторской редакции Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО Зав. РИО Н.Ф. Гусарова Подписано к печати Заказ № Тираж Отпечатано на ризографе

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО 197101, Санкт-Петербург, Кронверский пр., 49