

А.В.Якунов

МЕТОДИ СПЕКТРАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Навчальний посібник

Київ - 2020

Навчальний посібник «Методи спектральних досліджень» призначений для студентів фізичного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка, які навчаються за освітньою програмою «Оптехніка». Посібник може бути також корисним студентам і аспірантам інших природничих спеціальностей, де використовуються спектральні методи досліджень

Посібник представляє собою суттєво розширений конспект лекцій третьої частини спецкурсу «Техніка та методи спектральних досліджень», який викладається в 6-му семестрі на кафедрі оптики. Чотири розділи посібника відповідають чотирьом розділам робочої програми спецкурсу та, відповідно, 8 годинам лекційних занять.

Перші дві частини спецкурсу, які включають питання «Джерела оптичного випромінювання», «Фільтрація та модуляція світлових потоків» та «Спектральні прилади», увійшли в навчальний посібник «Прикладна оптика». Фізичні явища, що призводять до появи тих чи інших спектрів та інтерпретація цих спектрів в рамках відповідних моделей розглядаються в загальному курсі «Атомна фізика» та спецкурсі «Спектроскопія атомів та молекул», тому в даному посібнику ці питання викладаються переважно на якісному рівні і в обмеженому обсязі. Технічні параметри описаних у посібнику спектральних приладів та конкретні методи роботи на них наведено в методичній розробці для спеціального лабораторного практикуму.

Робота з посібником передбачає попереднє знайомство студентів з курсами оптики та електроніки.

ВСТУП

Оптична спектроскопія – розділ фізики, який вивчає отримання та дослідження спектрів випромінювання, поглинання, відбивання та розсіяння у різних середовищах електромагнітного випромінювання оптичного діапазону з довжинами хвиль 0.1 нм – 1 мм. Оптичний діапазон характеризується спільністю методів розкладання випромінювання в спектр та методів його дослідження.

До задач оптичної спектроскопії відносять вимірювання розподілу енергії у спектрі, аналіз та опис процесів, що беруть участь у формуванні спектрів, а також інтерпретацію спектрів у термінах, що описують фізичний об'єкт.

Традиційною задачею оптичної спектроскопії є отримання даних про склад та структуру речовини на атомно-молекулярному рівні. На початку ХХІ ст. методи оптичної спектроскопії застосовують до широкого кола об'єктів та явищ: від мікросвіту (атомні ядра, атоми, іони, молекули, кристали, рідини, квантові точки в твердому тілі тощо) до астрофізичних об'єктів (атмосфери зірок, галактичні та позагалактичні джерела випромінювання). Методи оптичної спектроскопії використовуються у більшості областей фізики, хімії, матеріалознавства, біології, медицині, екології тощо. Оптичній спектроскопії належить важлива роль у становленні та розвитку сучасної науки.

ОСНОВНІ ВІХИ ІСТОРІЇ СПЕКТРОСКОПІЧНИХ МЕТОДІВ

<i>Рік</i>	<i>Подія</i>
1575	Відкриття флуоресценції (Монардес)
1648	Відкриття дисперсії світла (Марці)
1666	Ньютон розклав сонячне світло в спектр за допомогою скляної призми
1729	Бугер сформулював якісні закономірності послаблення світла у середовищі
1740	Бугер сконструював фотометр
1760	Ламберт вивів співвідношення для послаблення світла в середовищі – закон Бугера-Ламберта
1786	Рітенхаус виготовив дифракційну ґратку
1800	Гершель відкрив інфрачервоні промені
1801	Воластон відкрив ультрафіолетові промені
1802	Воластон спостерігав темні лінії на фоні сонячного спектру, але дав їм невірне тлумачення
1803	Юнг виміряв довжину хвилі у видимому діапазоні
Поч. XIX ст.	Бабіне, Бунзен, Воластон, Фраунгофер розробили оптимальну схему спектрального приладу, яка включала вхідну щілину, коліматор, дисперсійну систему, камеру.
1814	Фраунгофер дослідив темні лінії в спектрі Сонця («Лінії Фраунгофера») та встановив, що вони є характеристикою саме сонячного світла.
1821	Фраунгофер використав дифракційну ґратку як дисперсійний елемент. Шверд розробив теорію дифракційної ґратки
1822	Гершель відкрив лінійчаті спектри газових розрядів
1852	Стокс сформулював основні закономірності фотолюмінесценції
1857	Мейерштейн сконструював спектрометр
1958	Гайслер виготовив газорозрядні трубки для дослідження спектрів газового розряду
1859	Плюккер встановив, що спектр газового розряду характеризує природу газу. Бунзен та Кіргофф започаткували спектральний аналіз
1880	Майкельсон сконструював двопроменевий інтерферометр, який ліг в основу майбутнього Фур'є-спектрометра
1882	Роуланд створив увігнуту дифракційну ґратку
1899	Винайдено інтерферометр Фабрі-Перо
1910	Рубенс та Вуд вперше виконали обернене перетворення фур'є-інтерферограми та отримали перший спектр у далекій інфрачервоній області
1928	Раман та Крішнан відкрили явище комбінаційного розсіювання світла у рідинах, Ландсберг та Мандельштам – у кристалах
1935	Харді сконструював спектрофотометр
1955	Геббі першим виконав на електронно-обчислювальній машині фур'є-перетворення інтерферограми в спектр
1960	Початок ери лазерів та лазерної спектроскопії
1962	Перше використання індукованої лазером плазми для емісійного спектрального аналізу (Брех, Кросс)
1964	Спектроскопія оптичного змішування (Пекора, Камінгс, Кнабль)
1965	Голографічна спектроскопія (Строук, Фанкхаузер)
Поч. 80-х рр.	Стрімкий розвиток терагерцової спектроскопії
1989	Реєстрація спектрів поглинання та флуоресценції окремих молекул (США)

1. ЕМІСІЙНА СПЕКТРОСКОПІЯ

Основні поняття

Емісійна спектроскопія досліджує спектри емісії (синоніми: свічення, випромінювання) певних об'єктів – джерел випромінювання. Фізична природа свічення може бути різною (рис.1):

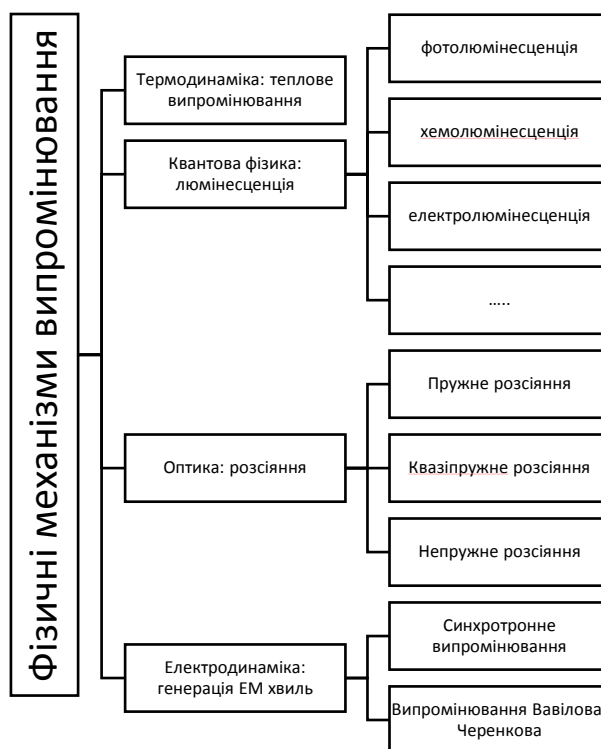


Рис.1 Класифікація фізичних механізмів випромінювання світла.

Теплове випромінювання – це електромагнітне випромінювання, що випромінюється тілом, речовина якого перебуває у стані термодинамічної рівноваги та характеризується певною температурою. Теплове випромінювання притаманне будь-якому тілу, температура якого перевищує абсолютний нуль. Спектр теплового випромінювання – суцільний. Максимум спектрального розподілу залежить від температури.

Люмінесценція - нетеплове випромінювання світла, зумовлене квантовими переходами атомів, іонів, молекул зі збудженого стану в основний чи менш збуджений. При цьому випромінювання відбувається протягом часу, не коротшого за період світлових хвиль.

За типом збудження розрізняють наступні види люмінесценції:

- фотолюмінесценція - спостерігається при збудженні речовини світлом.
- електролюмінесценція - виникає при збудженні речовини електричним струмом.
- хемілюмінесценція - виникає внаслідок хімічних реакцій,
- механолюмінесценція - виникає під певним механічними впливом на речовину та ін.

Усі різновиди крім фотолюмінесценції вивчаються методами емісійної спектроскопії, а процеси збудження спектрів розглядаються у відповідних розділах фізики. Фотолюмінесценція посідає окреме місце і розглядається у Розділі 3.

Розсіяння світла - розсіяння електромагнітних хвиль видимого діапазону при їх взаємодії з речовиною. У залежності від того, чи супроводжується це явище зсувом довжини хвилі λ_p відносно первинної λ_0 , розрізняють: пружне ($\lambda_p = \lambda_0$), квазіпружне ($\lambda_p \approx \lambda_0$) та непружне ($\lambda_p \neq \lambda_0$) розсіяння. Дослідження спектрів квазіпружно та непружно розсіяного світла вимагає особливих методів, які розглядаються в Розділі 4.

«Електродинамічне випромінювання» включає явища, в яких випромінювання електромагнітних хвиль передбачено в рамках класичної електродинаміки. До таких явищ належать: синхротронне та гальмівне випромінювання, зумовлене прискоренням рухом заряджених частинок, а також випромінювання Вавілова-Черенкова, яке виникає за умови руху зарядженої частинки у середовищі зі швидкістю більшою, ніж швидкість розповсюдження світла у цьому середовищі.

Емісійна спектроскопія вирішує дві основних задачі, у відповідності із місцем та функціями джерела світла (рис.2).

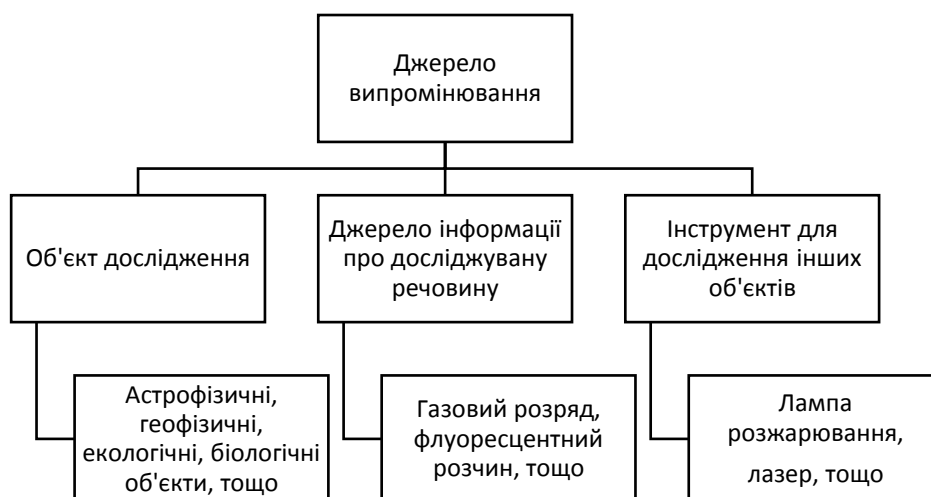


Рис.2 Класифікація джерел світла за їх функціями у фізичному експерименті.

Джерело як предмет дослідження. Реєструється спектр деякого джерела, і по спектру робиться висновок про його будову та природу, хімічний склад, температуру, фізичні процеси тощо. Зазвичай експериментатор не в змозі вплинути на процеси, що відбуваються у такому джерелі. Йдеться про астрономічні об'єкти, атмосферні явища природнього чи антропогенного походження, біологічні об'єкти, а також явища, отримані в лабораторних умовах, які проте, не передбачають додаткового втручання у їх перебіг (свічення високотемпературної плазми, хемілюмінесценція тощо). Іноді сама можливість реєстрації спектру становить головну проблему.

Джерело світла як інструмент для дослідження речовини. По спектру емісії, збудженому у той чи інший спосіб, визначається хімічний (зазвичай, атомарний) склад речовини, властивості атомів та молекул, особливості перебігу тих

або інших процесів. Задачі такого типу розв'язують, наприклад, в емісійному спектральному аналізі, при вивченні структури енергетичних рівнів, у дослідженнях впливу електричних та магнітних полів на атоми та молекули, тощо. У всіх випадках спектроскопіст активно втручається в роботу джерела світла, обирає тип джерела та режим його роботи з урахуванням поставленої задачі.

Також джерело світла може виконувати функцію *інструмента* в тих спектроскопічних дослідженнях, де вивчається світловий потік, трансформований досліджуванним середовищем: йдеться про поглинання, люмінесценцію або розсіяння. Для цих випадків використовуються відповідні методи спектроскопії.

Деякі особливості вимірювання емісійних спектрів

Якщо джерело достатньо яскраве в досліджуваному діапазоні та його світловий потік незмінний у часі, реєстрація спектру випромінювання є доволі простою задачею і здійснюється стандартними методами на універсальних спектральних приладах. В інших випадках, коли джерела випромінюють слабкі та/або нестаціонарні світлові потоки, вимірювання їх спектрів вимагає спеціальної техніки та методів. Іноді сама можливість реєстрації такого спектру становить головну проблему.

Для збільшення відношення сигнал/шум реєстрацію електричного сигналу з фотоприймача часто виконують за допомогою *синхронного детектування*. Для цього випромінювання від досліджуваного джерела модулюється механічним обтюратором з частотою $\sim n \cdot 100 \text{ Гц}$. Опорний сигнал отримують з того ж обтюратора за допомогою оптопар. Синхронний детектор дозволяє виділити з досліджуваного сигналу лише синхронну та сінфазну з опорним сигналом частину, що дозволяє позбавитись низькочастотних шумів та впливу повільних нестаціонарностей.

Для вимірювання слабких сигналів у видимому та УФ діапазонах (формальною ознакою яких є нерівність $h\nu > kT$) використовують традиційні світлосильні спектральні прилади та високочутливі приймачі - фотоелектронні помножувачі (ФЕП), які здатні реєструвати окремі фотони. За умови дуже низької інтенсивності світлового потоку на виході ФЕП виникає послідовність одиничних імпульсів, які обробляються за певним алгоритмом електронною схемою (*метод лічильника фотонів*).

В інфрачервоному діапазоні ($h\nu < kT$) головною перешкодою для реєстрації слабких сигналів виступає тепловий шум приймачів. Для суттєвого збільшення чутливості використовують нові спектральні прилади, у яких реалізовано *принцип селективної модуляції*. Збільшення світлосили здійснюється або за рахунок геометричного фактора (виграш Жакіно), або мультиплекс-фактора (виграш Фелжета), або обох одночасно. Серед спектральних приладів нового типу найбільше поширення мають фур'є-спектрометри.

У багатьох випадках спектральними методами досліджуються явища, які змінюються у часі. Використовують прилади зі *швидкою реєстрацією спектру*, наприклад, матричні спектрометри – звичайні дисперсійні спектральні прилади,

у вихідній площині яких розміщено світлочутливу матрицю швидкісної відеокамери.

Оптимізація емісійних вимірювань

Для забезпечення максимальної точності емісійної спектроскопії необхідно повністю використати всі апаратні можливості вимірювальної установки, як її оптичної частини, так і електронної.

Традиційний спектрометр, побудований на базі монохроматора, характеризується певною апаратною функцією - *нормованим розподілом світлового потоку, що виходить з вихідної щілини при скануванні спектра монохроматичного джерела*. Для спрощення аналізу розглянемо щілинну апаратну функцію (ЩАФ), яка зумовлена лише впливом ширини щілин на формування геометричного зображення. ЩАФ монохроматора являє собою згортку двох прямокутних функцій. Одна з функцій відповідає вихідній щілині, друга – зображенню вхідної щілини у вихідній площині (рис.4 а). ЩАФ монохроматора має при цьому форму трапеції, а в практично важливому випадку однакових щілин набуває трикутної форми (рис. 4 б). На вхід електронної схеми (фотоприймач + підсилювач) спектрометра поступає змінний сигнал, який у координатах потік/час має форму трикутника. Електронні підсилювачі змінного струму характеризуються сталою часу τ , яка відображує можливість накопичувати корисний сигнал та, відповідно,

впливає на співвідношення сигнал/шум: $\sqrt{\frac{S}{N}} \sim \tau$. За рахунок інерційності вхідний сигнал «розпливається», його нормований контур (рис. 4 в) визначає апаратну функцію спектрометра, в якій τ впливає і на роздільну здатність $R = \frac{\lambda}{\delta\lambda'_{sp}}$,

і на чутливість $\frac{S}{N}$.

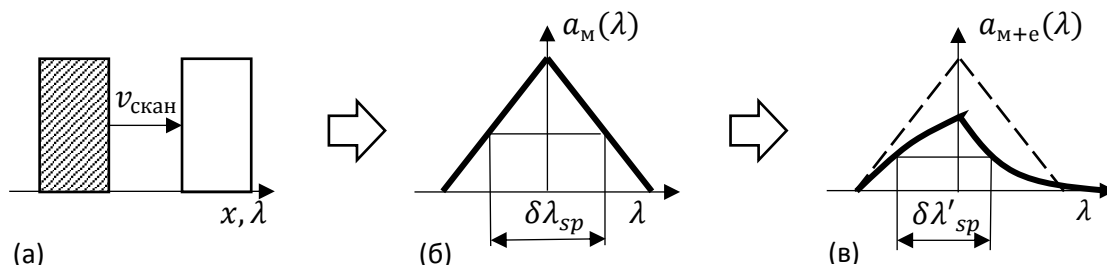


Рис.4 До означення апаратної функції монохроматора та спектрометра

При малих значеннях сталої часу τ зменшується чутливість, а при великих – роздільна здатність. Оптимізація емісійних вимірювань передбачає, в першу чергу, вибір сталої часу τ , яка б забезпечила надійну ресстрацію сигналу, в другу – швидкість сканування спектру $v_{scan} = \frac{\Delta\lambda}{\Delta t}$. Оптимальним можна вважати

співвідношення: $\nu_{scan}^{opt} \approx \frac{\delta\lambda_{sp}}{\tau}$, де $\delta\lambda_{sp}$ - спектральна ширина щілини, яка визначається параметрами оптичної схеми [1].

Атомно-емісійний спектральний аналіз

Спектральним аналізом називають фізичний метод аналізу хімічного складу речовини, у якому вивчаються оптичні спектри. *Емісійний спектральний аналіз* базується на дослідженні лінійчатих спектрів випромінювання атомів та іонів. Такі спектри не залежать від характеру хімічних сполук, із яких складається досліджувана речовина, а визначаються відсотковим вмістом елементів. Зазвичай, емісійні спектри реєструють у найбільш зручному оптичному діапазоні довжин хвиль від 200 нм до 1000 нм.

Розрізняють дві самостійні аналітичні задачі: *якісний спектральний аналіз (ЯСА)*, який має за мету встановити, які саме хімічні елементи входять у склад досліджуваної речовини, і *кількісний спектральний аналіз (КСА)*, який вирішує питання про кількісний (відсотковий) склад окремих хімічних елементів у зразку.

Основна ідея ЯСА полягає в тому, що присутність у спектрі характерних ліній того або іншого елемента є критерієм наявності цього елемента у зразку. Для ЯСА обирають характерні найбільш чутливі спектральні лінії даного елемента, які називають «останніми», оскільки вони зникають в спектрі останніми при зменшенні концентрації елемента. Виявлення в спектрі однієї з «останніх» ліній якогось елемента ще не свідчить про те, що цей елемент присутній у зразку, оскільки багато ліній різних елементів мають близькі довжини хвиль, які не розділяє спектрометр. Для отримання надійних результатів необхідно переконатися у наявності декількох характерних ліній, що належать одному елементу і знаходяться у різних ділянках спектру. Чутливість ЯСА для різних елементів є різною, та у середньому становить 10^{-6} - 10^{-8} %.

В основі КСА лежить однозначний зв'язок між концентрацією C_x досліджуваного елемента та відношенням інтенсивності ліній домішки I_x та лінії порівняння I_0 . Цей зв'язок визначається емпіричним співвідношенням (формула Ломакіна-Шайбе):

$$\frac{I_x}{I_0} = a \cdot C_x^b \quad (1.1)$$

Логарифмічна залежність відношення інтенсивності від концентрації представляє лінійну залежність (принаймні у невеликому діапазоні концентрацій):

$$\lg\left(\frac{I_x}{I_0}\right) = \lg a + b \lg C \quad (1.2)$$

Остання формула є математичним виразом для градуювального графіка. Коефіцієнти a та b залежать від умов експерименту і визначаються дослідним шляхом. Зокрема, коефіцієнт a характеризує процеси переходу речовини з конденсованого стану в газоподібний і є функцією складу зразка. Коефіцієнт b зумовлений процесами самопоглинання.

Лінія домішки (I_x) і лінія порівняння (I_0) складають *аналітичну пару*. Для аналітичної пари підбирають так звані *гомологічні* лінії, які відповідають певним вимогам (рис.5):

- Лінії повинні мати інтенсивності одного порядку ($I_0 \sim I_x$);
- Лінії повинні бути близькими за довжинами хвиль ($\lambda_0 \sim \lambda_x$);
- Їх відносна інтенсивність має бути малочутливою до умов збудження, тобто, лінії повинні мати однакові чи близькі потенціали збудження ($V_{36}^0 \approx V_{36}^x$) та іонізації ($V_i^0 \approx V_i^x$).

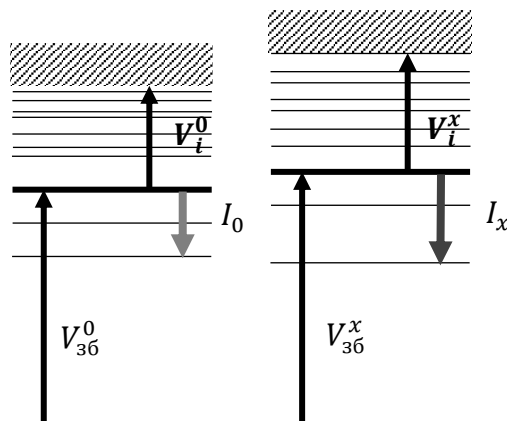


Рис.5 До критеріїв вибору аналітичної пари

Для проведення КСА необхідно мати комплект стандартних зразків, в яких вміст елементів, що визначаються, встановлено з похибкою значно меншою, ніж потрібно при виконанні даної методики аналізу.

Відношення $\frac{I_x}{I_0}$ визначається безпосередньо шляхом фотоелектричних вимірювань. Приклад градуювального графіку, побудованого за допомогою трьох стандартних зразків з концентраціями домішок C_1 , C_2 , C_3 , наведено на Рис.6. Для визначення невідомої концентрації C_x необхідно в спектрі проби виміряти відповідне значення $\lg\left(\frac{I_x}{I_0}\right)$, за градуювальним графіком визначити значення $\lg C_x$ і обчислити C_x .

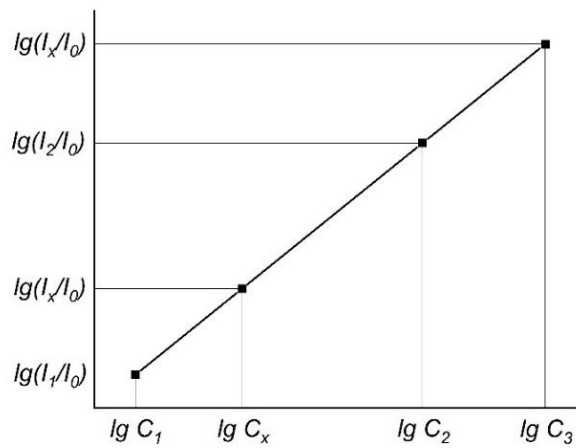


Рис.6 Приклад градуувального графіку для кількісного спектрального аналізу

Методи збудження спектрів емісії

А) *Полум'я*. Досліджуваний зразок вводиться у полум'я спеціального пальника безпосередньо за допомогою дрітної петлі або у вигляді розчину, що розпилюється. Тепло від полум'я випаровує розчинник і розриває внутрішньомолекулярні зв'язки з утворенням вільних атомів. Теплова енергія переводить атоми в збуджені електронні стани. Температура полум'я і, відповідно, максимальна енергія збуджених станів залежить від складу гарячої суміші. Наприклад, полум'я ацетилену з киснем має найвищу робочу температуру $\approx 3000^\circ \text{C}$. Однак цього замало для аналізу тугоплавких елементів.

Б) *Іскра та дуга*. Іскрова або дугова атомно-емісійна спектроскопія використовується для аналізу твердих зразків, які зазвичай руйнують та подрібнюють. Для непровідних матеріалів зразок подрібнюють разом з графітовим порошком. Електрична дуга або іскра пропускаються через зразок, нагріваючи його до високої температури. В дугових розрядах температура плазми досягає 6000°C , в іскрових – 12000°C , чого цілком достатньо для аналізу будь-яких елементів таблиці Менделєєва.

В) *Індуктивно-зв'язана плазма (ІЗП)*. ІЗП – це тип газового розряду, що збуджується зовнішнім змінним (1-100 МГц) магнітним полем за допомогою індукційної котушки. У розряд, який утворюється в атмосфері інертного газу (рис.7), подається досліджувана речовина у вигляді аерозолі. У високотемпературній плазмі ($7000 - 10000^\circ \text{C}$) крапельки аерозолі миттєво випаровуються і розпадаються на атоми та іони.

Головними перевагами атомно-емісійних спектрометрів зі збудженням за допомогою ІЗП вважаються дуже висока чутливість (низька границя виявлення елементу), лінійний динамічний діапазон по концентрації, довготривала і стабільна робота, відтворюваність умов збудження, практична відсутність явища самопоглинання. Певними недоліками можна вважати високу вартість та значні експлуатаційні витрати, а також той факт, що зразки мають бути у рідкому стані.

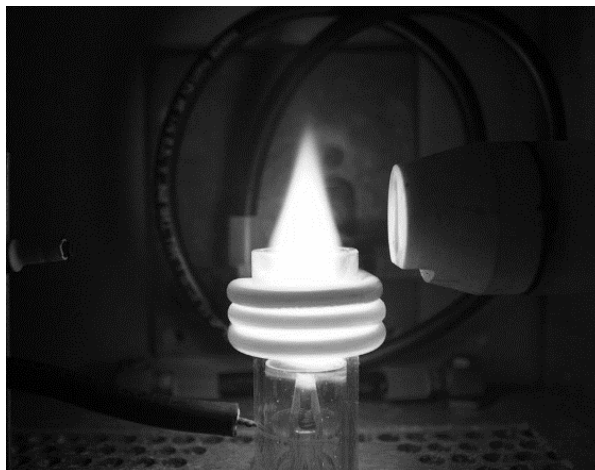


Рис.7 «Факел» індуктивно-зв'язаної плазми в аргоні

Прилади для емісійного спектрального аналізу

Для емісійного спектрального аналізу, у залежності від мети та технічних можливостей, використовують різні спектральні прилади.

Стилоскопи (від англ. *Steel* - сталь) - використовують для швидкого візуального якісного чи напівкількісного аналізу поширених марок сталей і сплавів.

Спектрографи – призначені для реєстрації спектрів на фотопластинку.

У *спектрометрах* – відбувається фотоелектрична реєстрація спектру при скануванні його в монохроматорі.

В умовах виробництва важливою може бути швидкість проведення емісійного спектрального аналізу. Зокрема, часто виникає необхідність здійснювати *експрес-аналіз* зразків під час технологічного процесу з можливістю вносити в сам процес певні корективи. Експрес-аналіз передбачає комп'ютеризацію всіх його етапів: вибору та забезпечення параметрів збудження та реєстрації, розшифровки спектру, обчислення відсоткового вмісту ідентифікованих елементів.

Для експрес-аналізу широке застосування знайшли *квантометри* – багатоканальні спектральні прилади із певною кількістю вихідних щілин, налаштованих на спектральні лінії потенційно можливих елементів (Рис.7). Сигнали з відповідних фотоприймачів надходять до електронно-обчислювального пристрою, на виході якого формується результат аналізу у зручному вигляді (таблиці або діаграми).

Сучасні прилади для емісійного експрес-аналізу використовують компактні аналоги спектрографів із фоточутливою матрицею у вихідній площині камерного об'єктиву. Відеосигнал з матриці поступає на комп'ютер, де він обробляється в реальному часі.

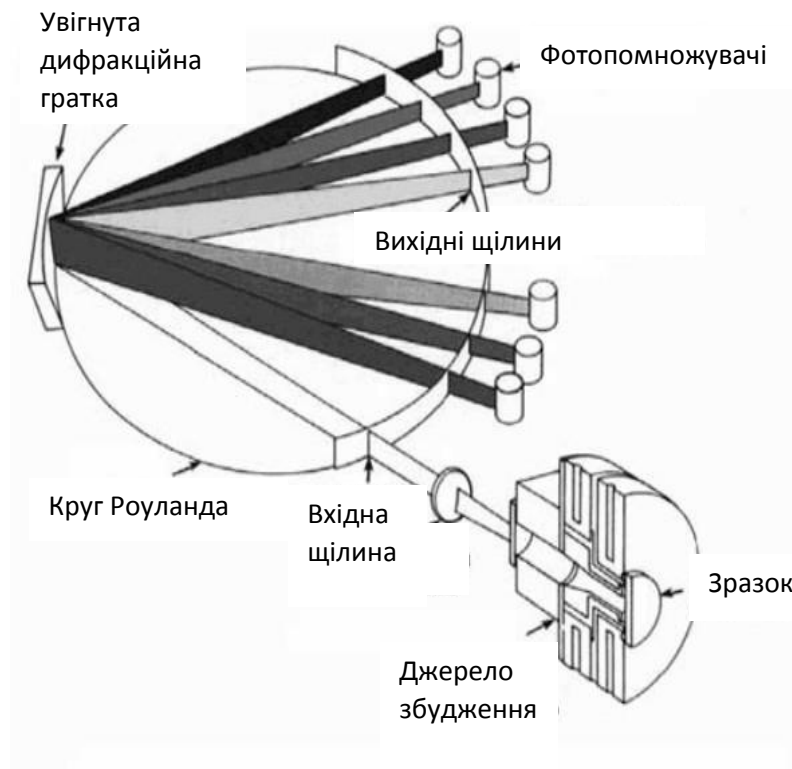


Рис. 7 Схема багатоканального спектрометра на базі увігнутої дифракційної ґратки для емісійного експрес-аналізу.

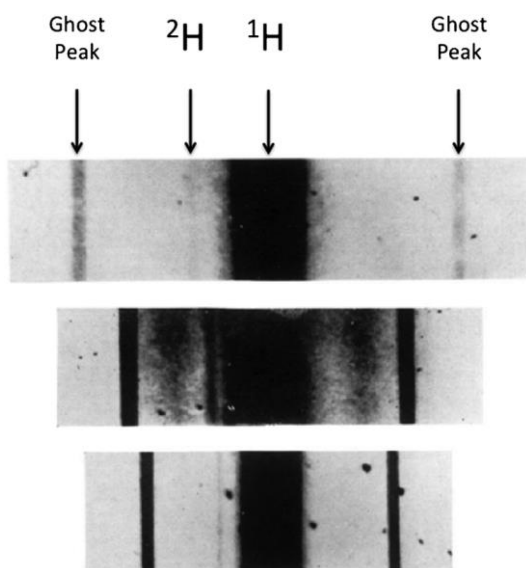
Додаток до Розділу 1. Деякі визначні спектри випромінювання, що увійшли в історію фізики

R.	O.	Y.	G.	B.	V.	
I	I	I	I			Silver.
	II	I	III			Copper.
I	II	I		III	I	Zinc.
	I	I			I	Mercury.
II	I	II	III	II		Platinum.
I		I				Gold.
	III	II	I			Antimony.
I	I	I	II		I	Bismuth.
I	II	III	I	I	I	Tin.
	II	II	III		II	Lead.
	I		III			Iron.
I		I	III			Brass.

Таблиця спектральних ліній з першої в історії статті з емісійного спектрального аналізу (1854 р.)

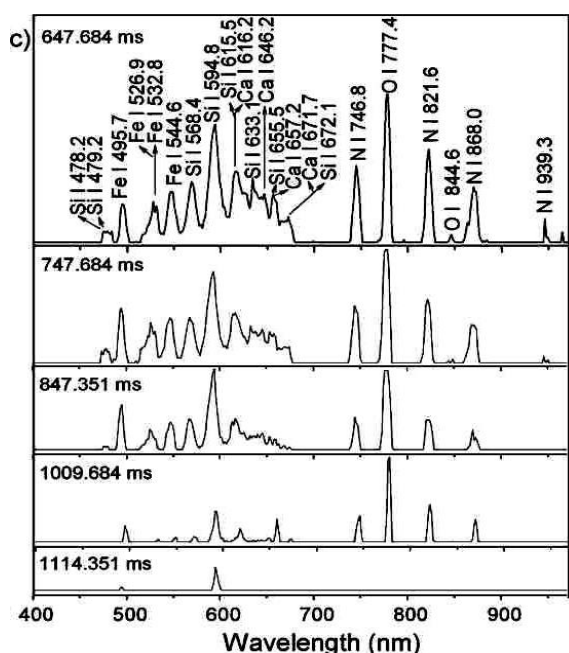
В статті – на основі візуальних спостережень - наведено таблицю спектральних ліній різних кольорів дванадцяти металів. Також показано, що лінії латуні відповідають лініям міді та цинку.

1. Вважається, що ідентифікацію хімічних елементів за оптичними спектрами атомів було запропоновано у 1859 році Кірхгофом та Бунзенем. Але ще у 1854 році лікар та винахідник Девід Альтер з міста Фріпорт, штату Пенсильванія (США) надрукував наукову працю «Про деякі фізичні властивості світла, що виникають при спалюванні різних металів в електричній іскрі, заломленій призмою», де висунув припущення, що кожен елемент має свій власний спектр випромінювання.



Спектр випромінювання розряду водню із лінією дейтерію, отриманий Г.К.Юрі

2. Спектр випромінювання розряду водню, на якому можна побачити лінію дейтерію, вперше спостерігав Г.К.Юрі у 1930 р. На той час було відомо, що лише один атом водню з 4500 є важким ізотопом. Для того, щоб отримати достовірне свідчення присутності лінії ізотопу в спектрі, досліджуваний зразок був підданий складній технології збагачування. На фотографіях, які відповідають різним умовам експерименту, чітко видно «духи» дифракційної ґратки – симетричні сателіти основної лінії водню. Дуже слабка лінія зліва від основної належить дейтерію.



Спектри кульової блискавки у різні моменти часу

3. Спектри випромінювання кульової блискавки було вперше зафіксовано у 2012 р. китайськими вченими. Використовувався швидкісний безщілинний спектрограф, у якому джерелом служить не вхідна щілина, а зображення віддаленого об'єкту, що утворилося у передній фокальній площині коліматора. Прилад дозволяє зареєструвати одночасно спектри кількох об'єктів із невідомим наперед положенням у просторі.

2. АБСОРБЦІЙНА СПЕКТРОСКОПІЯ

Закон Бугера-Ламберта-Бера

Абсорбційна спектроскопія досліджує спектри поглинання, тобто встановлює співвідношення між довжиною хвилі (частотою, хвильовим числом або енергією) випромінювання та зменшенням його інтенсивності при проходженні через досліджуване середовище.

Закон послаблення світлового потоку при проходженні ним шару речовини встановлено Бугером, Ламбертом і Бером. Він формулюється у наступний спосіб: кожний нескінченно тонкий шар усередині однорідного середовища поглинає певну частину падаючого світлового потоку, пропорційну його товщині; поглинання даним тонким шаром однорідного середовища пропорційне концентрації поглинаючих центрів (молекул):

$$\frac{dI}{I} = -\alpha C dl, \quad (2.1)$$

де α – показник поглинання, розрахований на одиницю концентрації речовини та на одиницю товщини шару, він не пов'язаний з інтенсивністю падаючого світла та концентрацією речовини, але залежить від довжини хвилі світла.

Інтегруючи вираз від 0 до l отримаємо

$$I = I_0 e^{-\alpha C l} \quad (2.2)$$

де I_0 – інтенсивність падаючого світла, I – інтенсивність світла, що пройшло через зразок. Величину $T = \frac{I}{I_0}$ називають коефіцієнтом пропускання або просто –

пропусканням. Також користуються величинами $k = \alpha \cdot C$ – коефіцієнтом поглинання та $D = \alpha \cdot C \cdot l$ – оптичною густиною. Оптична густина рідкого розчину, що складається з не взаємодіючих компонентів дорівнює сумі оптичних густин цих компонентів.

Зазначені параметри містять різну інформацію, зокрема: $D(\lambda)$, $T(\lambda)$ – є характеристиками конкретного зразка, наприклад, скляного світлофільтру; $k(\lambda)$ – характеризує матеріал, на основі якого виготовлено зразок (скло із певною концентрацією центрів забарвлення); $\alpha(\lambda)$ – характеристика центрів поглинання. Задачею спектрофотометрії є визначення залежності пропускання (поглинання, оптичної густини) від довжини хвилі.

Параметри поглинання можуть бути однаковими у всьому діапазоні досліджуваного спектру, наприклад, у скляних фільтрів марки НС, а можуть помітно залежати від довжини хвилі. Відповідні спектри характеризуються певною структурою, яка, в окремих випадках, може розділятися на окремі смуги. Згідно з

квантовими уявленнями, наявність смуг у спектрах поглинання зумовлена переходами молекул з основного стану у збуджені (Рис. 11):

Встановлення зв'язку між спектрами поглинання та структурою енергетичних рівнів є основною дослідницькою задачею абсорбційної спектроскопії. До прикладних задач можна віднести аналіз та ідентифікацію хімічних сполук, вимірювання характеристик барвників та світлофільтрів для промислових та метрологічних потреб, дослідження фотохімічних реакцій, тощо.

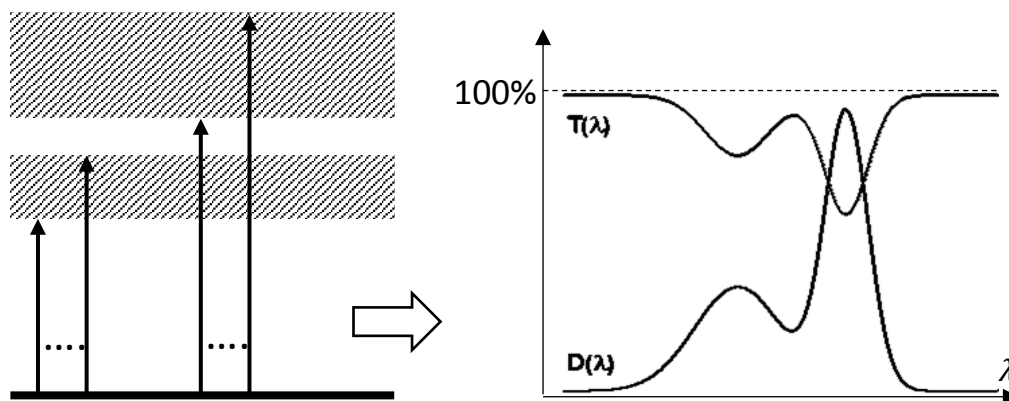


Рис.11 Зв'язок спектрів поглинання/пропускання та конфігурації електронних рівнів. Множина коротких стрілок, які символізують квантові переходи при поглинанні, формує довгохвильову смугу поглинання, довгі стрілки – короткохвильову.

Відхилення від закону Бугера-Ламберта.

Відхилення від закону Бугера-Ламберта можуть бути зумовлені як природою та геометрією зразка, так і особливостями вимірювального приладу.

Закон Бугера-Ламберта справедливий для монохроматичного випромінювання. Оскільки для дослідження спектрів поглинання використовують джерела із неперервним спектром, а спектральні щілини приладів мають скінченну ширину, то ця вимога порушується. Якщо напівширина смуги поглинання менше за спектральну ширину щілини, то у спектрі ця смуга буде характеризуватись більшою шириною та меншою інтенсивністю.

За умови $I_0 \gg 0$, що характерно для лазерного випромінювання, можуть виникнути нелінійні явища, за рахунок чого коефіцієнт поглинання зменшується (самоіндукована прозорість), рис 12-а. Якщо у досліджуваному середовищі існує можливість фотохімічних перетворень, неелементарна залежність коефіцієнту поглинання від інтенсивності може проявитися і при достатньо низькій інтенсивності світлового потоку.

За умови $d \sim \lambda$, що характерно для інфрачервоного діапазону, на спектри можуть накладатися інтерференційні смуги, створюючи додаткову «паразитну структуру», рис 12-б.

Незалежність показнику поглинання від концентрації справедливе лише за умови низької концентрації центрів поглинання. При великій концентрації у рідких розчинах можливе утворення молекулярних асоціатів, які мають інші спектральні характеристики. Схильність до утворення асоціатів можна прослідкувати

по деформації спектрів зі зміною концентрації центрів поглинання (Рис.12-в). Довжина хвилі, на якій показник поглинання не залежить від концентрації має назву «ізобестичної точки».

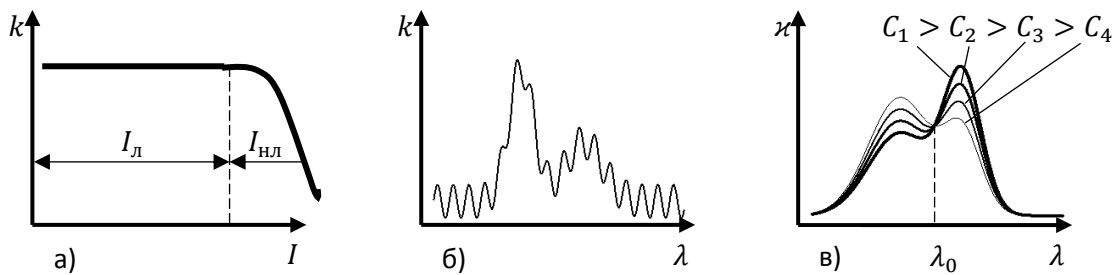


Рис. 12 Приклади відхилення від закону Бугера-Ламберта та відповідні спектри поглинання: (а) при великій інтенсивності світлового потоку, (б) при дуже тонких зразках, (в) при високих концентраціях

Відхилення від закону Бугера-Ламберта може бути також наслідком розсіювання та флуоресценції.

Наприклад, біологічні об'єкти, що містять макромолекули або інші надмолекулярні агрегати, розсіюють світло. Втрати світлового потоку, зумовлені розсіюванням, пропорційні до λ^{-4} (релеєвське розсіювання), і можуть проявлятися як додаткове фонове поглинання, яке збільшується зі зменшенням довжини хвилі.

Якщо центри поглинання схильні до флуоресценції, їх випромінювання може потрапити на детектор та спричинити відхилення від дійсного спектра. Але, оскільки флуоресцентне випромінювання спрямоване в усі боки, у той час, як падаюче світло зорієнтовано вздовж оптичної осі, небажаний вплив можна зменшити, якщо розташувати детектор на певній відстані від зразка.

Загальні принципи побудови СП для вимірювання спектрів поглинання

Все розмаїття схем спектральних приладів, призначених для вимірювання спектрів поглинання, можна звести до невеликої кількості структурних схем, у яких присутній ряд основних функціональних елементів (рис. 13). Кожна схема містить джерело випромінювання із суцільним спектром, монохроматор, фотоелектричний приймач, підсилювач та вузол реєстрації.

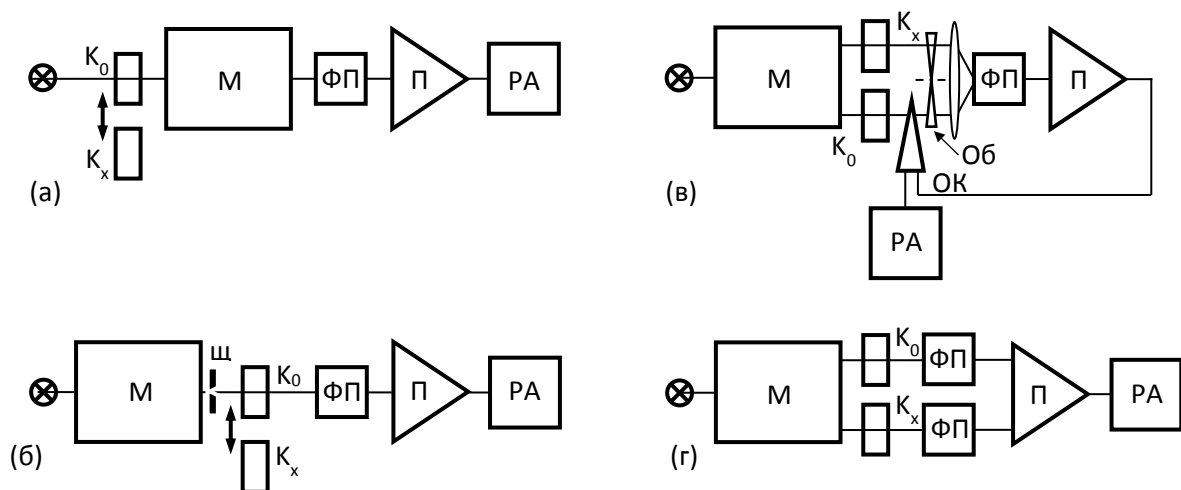


Рис.13 Схеми різних варіантів побудови спектрометрів для вимірювань поглинання: М - монохроматор, K_x - зразок (кювета з досліджуваним розчином), K_0 – кювета порівняння, ФП – фотоприймач, П – підсилювач, РА – реєструвальна апаратура, ОК – оптичний компенсатор, Об – об'єктор.

Найпростіший прилад можна побудувати на базі універсального спектрометра (а). Процедура вимірювання спектру пропускання складається з трьох етапів (рис.14): (1) – реєстрація спектру джерела $I_0(\lambda)$, (2) – реєстрація спектру випромінювання, що пройшло через досліджуваний зразок $I(\lambda)$, (3) – обчислення

спектру пропускання $T(\lambda) = \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)}$. Відносна похибка пропускання визначається

співвідношенням:

$$\frac{\Delta T}{T} \approx \frac{\Delta I_0}{I_0} + \frac{\Delta I}{I}. \quad (2.3)$$

На краях робочого діапазону точність вимірювань суттєво погіршується за рахунок зменшення значення I_0 . Для приладів видимого спектру таке зменшення зумовлене у довгохвильовій області – низькою чутливістю фотоприймача (за рахунок існування червоної границі фотоефекту), у короткохвильовій – поглинанням в оптичних елементах схеми (лінзах, призмах). У випадку досліджень розчинів до цих чинників додаються поглинання стінок кювети та розчинника, які можуть впливати на точність в усьому діапазоні.

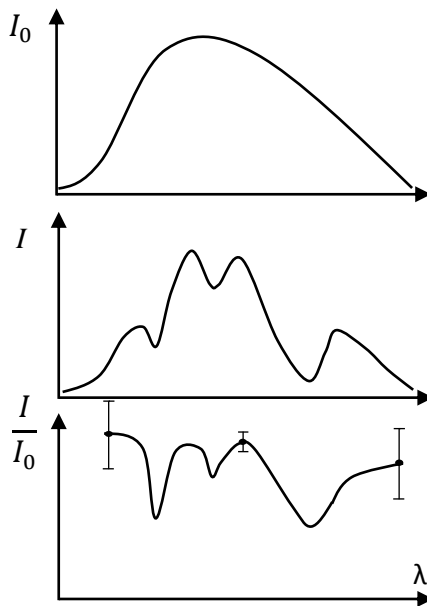


Рис.14 До процедури вимірювання спектру пропускання на стандартному спектрометрі

Для забезпечення однакової точності вимірювань поглинання в усьому робочому діапазоні використовують спеціальні спектральні прилади – спектрофотометри, у яких здійснюється ручна, або автоматична корекція світлового потоку в залежності від довжини хвилі.

При «ручній» реєстрації спектра в однопроменевому спектрофотометрі (Рис.8 б) на кожній довжині хвилі виконують певну послідовність операцій. Для кювети порівняння (з чистим розчинником) встановлюють 100% пропускання шкали шляхом зміни чутливості фотоприймача або змінюючи ширину щілини. Потім під промінь встановлюють кювету з досліджуваним розчином і повторюють вимірювання. Для переміщення кювети прилади, як правило, обладнують спеціальним пристосуванням (кареткою). На Рис.15 показано зовнішній вигляд та оптичну схему спектрофотометра СФ-26 - сучасну модифікацію популярних у недалекому минулому приладів СФ-4 та СФ-16.

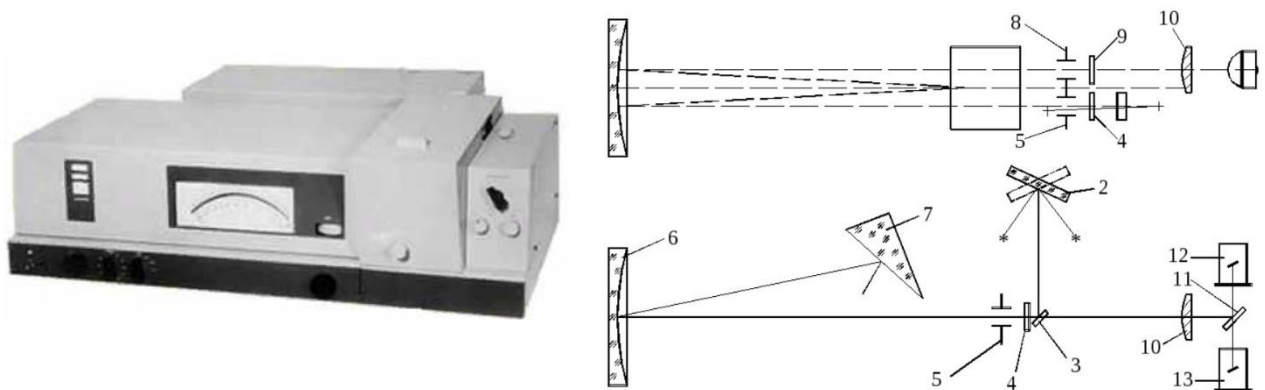


Рис. 15 Однопроменевий спектрофотометр СФ-26 та його оптична схема (у двох проекціях): 1 – дейтерієва лампа, 1' – лампа розжарювання, 2, 3 – плоскі дзеркала, 4, 9 – лінзи, 5 – вхідна щілина, 6 – увігнуте дзеркало, 7 – призма Літрова, 8 – вихідна щілина, 10 – фокусувальна лінза, 11 – поворотне дзеркало, 12, 13 – фотоприймачі.

В двопробених спектрофотометрах реєстрація спектрів поглинання відбувається автоматично. На Рис.13в показано схему двопробеного спектрофотометра з автоматичною оптичною компенсацією. Світловий пучок після монохроматора розщеплюється на два: один подається на досліджуваний зразок, другий на кювету порівняння, на одній оптичній осі з якою встановлюється оптичний компенсатор – пристрій з регульованим коефіцієнтом пропускання. Обидва пучки проходять через обтюратор – механічний модулятор, який перетворює їх у світлові потоки, промодульовані із частотою f_{mod} та різницею фаз 90° . На вході фотоприймача сумарний потік матиме ту ж частоту модуляції, а його амплітуда визначатиметься різницею амплітуд двох потоків. Підсилений електричний сигнал подається на двигун, що регулює пропускання оптичного компенсатора. Зворотній зв'язок примушує компенсатор вирівнювати амплітуди світлових потоків у двох пучках. При скануванні монохроматора через зразок послідовно проходять монохроматичні складові робочої ділянки спектра, різне значення пропускання на різних довжинах хвиль зумовлює відповідні сигнали розузгодження. Сигнал, що керує роботою компенсатора, записується реєструвальною апаратурою і представляє собою криву пропорційну до спектра пропускання.

У таблиці наведено інформацію про найбільш уживані у країнах колишньої СНД спектрофотометри лінійки СФ.

Назва	Тип	Спектральний діапазон	Оптична схема
СФ-26	Однопробеней	186-1100 нм	Автоколімаційна схема Літрова
СФ-10	Двопробеней	400-700 нм	Подвійний монохроматор на схемі Харді
СФ-8	Двопробеней	190-2500 нм	Попередня монохроматизація на основі схеми Літрова, основний монохроматор – дифракційна схема Еберта-Фасті.

У сучасних портативних спектрофотометрах часто використовується схема прямого порівняння двох потоків (Рис. 13г): два пучки, що пройшли зразок і кювету порівняння подаються на два фотоприймачі. Електричні сигнали з них, пропорційні до значення пропускання, поступають на два входи диференційного підсилювача. Якщо підсилювач здійснює додаткову функцію логарифмування, то на його виході отримують сигнал пропорційний до оптичної густини ($T_0 = 1$):

$$U_{\text{вих}} = \lg U_0 - \lg U_x = \lg \frac{U_0}{U_x} \sim \lg \frac{T_0}{T_x} = D \quad (2.4)$$

Оптимізація вимірювання спектрів поглинання

Визначимо умови експерименту, при яких точність реєстрації спектрів поглинання буде максимальною. Для відносної похибки коефіцієнта поглинання, застосовуючи стандартну процедуру оцінки похибки функції, можна записати:

$$\frac{\Delta k}{k} = \frac{1}{D} \cdot \left(\frac{\Delta I}{I} + \frac{\Delta I_0}{I_0} \right) \sim \frac{1}{D} \cdot (1 + e^D) \quad (2.5)$$

Графік відповідної функції показано на рис. 16, з якого випливає, що задовільна точність одержується, якщо крізь зразок проходить від 20% до 70% світла.

Рис. 17 демонструє якість спектрів пропускання зразків з одного матеріалу, але при різних значеннях оптичної густини: $D_1 \ll D_{opt} \ll D_2$. Для надійного заповігання концентраційному відхиленню від закону Бугера, слід брати мінімальну концентрацію центрів поглинання і підбирати відповідну до оптимальної оптичної густини товщину шару (кювети).

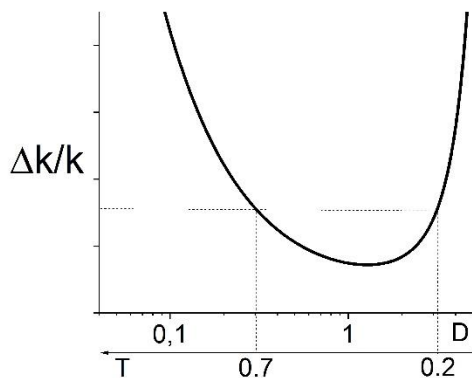


Рис.16 Залежність відносної похибки визначення коефіцієнта поглинання від оптичної густини та оптичного пропускання

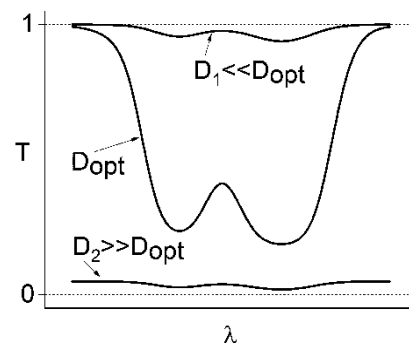


Рис.17 Спектри пропускання зразків з однакового матеріалу, але різною оптичною густиною

Особливості вимірювань поглинання в інфрачервоному діапазоні

ІЧ-спектроскопія поглинання - один із двох основних методів *коливальної спектроскопії*. Поглинанням в ІЧ-діапазоні характеризуються молекули, дипольні моменти яких змінюються при збудженні коливальних рухів ядер. Коливальні рухи, що супроводжуються зміною довжини зв'язку, називають *валентними*, а ті, що призводять до зміни кутів між зв'язками – *деформаційними*.

Застосування ІЧ-спектроскопії для дослідження будови речовини базується на використанні характеристичних смуг поглинання, пов'язаних з валентними та/або деформаційними коливаннями зав'язків типових функціональних груп в молекулах.

Особливості роботи в інфрачервоній області спектру визначається малою інтенсивністю джерел випромінювання із суцільним спектром, які працюють при

відносно низькій температурі – 1400-1600°C. Мала інтенсивність світлових потоків змушує використовувати широкі входні щілини, що призводить до спотворень спектральних смуг та зменшення точності вимірювань коефіцієнту поглинання. Типові спектри характеризуються слабо вираженою структурою, часто вимагають комп'ютерного розділення та аналізу і описуються переважно за допомогою якісних оцінок – «сильна смуга», «слабка смуга» тощо.

Аналіз інфрачервоних спектрів поглинання ускладнюється відсутністю прозорих розчинників та матеріалів кювет, а також наявністю смуг поглинання молекул повітря. Тому широке застосування знайшли саме двопроменеві прилади, які не лише допомагають автоматизувати процедуру вимірювань, але й виключити потрапляння у спектр смуг поглинання розчинників, матеріалу кювет та молекул атмосфери.

На Рис.18 показано зовнішній вигляд та оптичну схему ІЧ-спектрофотометра ИКС-52 - сучасною модифікацією приладів ИКС-12, ИКС-24.

В ІЧ-спектроскопії широке застосування знаходять спектрометри з перетворенням Фур'є. Перед традиційними дисперсійними спектрометрами вони мають наступні переваги:

- Одночасна реєстрація усього робочого діапазону спектру;
- Значно більша світлосила за рахунок відсутності щілин (Виграш Жакіно);
- Можливість реєстрації спектрів в режимі накопичення, коли багатократно міряється спектр одного зразка. В результаті математичного усереднення інтенсивність випадкового шуму стає нижчою у порівнянні з робочим спектром (Виграш Фелжета).
- Малий час запису одного спектру. Фур'є-спектрометри дають можливість записати кілька десятків спектрів за секунду, у той час, як дисперсійний спектрограф витрачає десятки хвилин на запис одного спектру.

У той же час Фур'є-спектрометри для ІЧ діапазону зазвичай однопроменеві, що робить неможливим компенсацію впливу на вимірювані спектри матеріалу кювет, розчинників та атмосфери. В останні роки набувають поширення двопроменеві Фур'є-спектрометри.

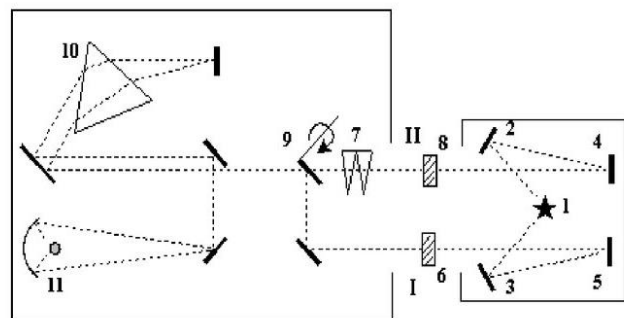


Рис. 18 ІЧ-спектрофотометр ИКС-52 та його оптична схема: 1 – глобар, 2-5 - дзеркала, 6, 8 – робоча кювета, кювета порівняння, 7 – оптичний компенсатор («гребінець»), 9 – дзеркальний обтюратор, 10 – монохроматор на основі автоколімаційної схеми Уолша, 11 – тепловий приймач.

Особливості підготовки зразків для ІЧ-спектроскопії поглинання.

Реєстрацію ІЧ-спектрів рідких речовин зазвичай здійснюють на тонких плівках, розміщених між стеклами з матеріалів, прозорих у необхідному спектральному діапазоні. Широкі смуги прозорості мають галогеніди лужних металів, проте вони є гігроскопічними та уразливими до механічних ушкоджень. Для відтворення прозорих однорідних поверхонь їх необхідно час від часу полірувати.

Точні кількісні вимірювання вимагають використання спеціальних комірок із фіксованими або змінними прокладками між стекл. Меншу точність дають зразки, де краплю рідини наносять на одне скло і притискають регульованим зусиллям іншим склом.

Також для реєстрації спектрів рідких речовин їх розчиняють у відповідному розчиннику. Для цього краще підходять рідини, що складаються із симетричних молекул, оскільки вони дають мінімальну кількість смуг поглинання (сірководень, чотирихлористий вуглець).

Вимірювання ІЧ-спектрів біологічних зразків можуть вимагати розчинення досліджуваних речовин у воді, смуги поглинання якої накладаються на значну кількість коливальних смуг білків та ДНК. Для кращого розділення спектрів зразки розчиняють у важкій воді (D_2O), у якої смуги поглинання зміщені.

Зразки твердих речовин зазвичай отримують шляхом подрібнення та пресування або диспергування у прозорій матриці.

Спектроскопія відбивання

В абсорбційній спектроскопії часто використовуються методи та прилади, що базуються на вимірюваннях відбитого досліджуваним середовищем випромінювання. В цих методах вимірюють *спектр відбивання* – залежність коефіцієнту

відбивання $r = \frac{I_{ref}}{I_0}$ (I_0 – інтенсивність падаючого світла, I_{ref} – інтенсивність світла, що відбилося від поверхні) від частоти (довжини хвилі). За умови нормального падіння світла на межу двох середовищ, одне з яких поглинає світло і характеризується комплексним показником заломлення $n - i \cdot \chi$, а друге – прозоре з показником заломлення n_0 коефіцієнт відбивання дорівнює:

$$r = \frac{(n - n_0)^2 + \chi^2}{(n + n_0)^2 + \chi^2} \quad (2.6)$$

де $\chi = \frac{k(\nu)}{4\pi\nu}$, а $k(\nu)$ - коефіцієнт поглинання, який залежить від частоти ν (довжини хвилі λ). Отже, спектр відбивання містить у собі і спектральний розподіл поглинання. Проте, залежність коефіцієнту відбивання від показнику заломлення дещо ускладнює процедуру ідентифікації та аналізу спектрів.

Одним із сучасних методів спектроскопії відбивання є метод порушеного повного внутрішнього відбивання (ППВВ). Він базується на явищі повного внутрішнього відбивання (ПВВ), що спостерігається на певних кутах розповсюдження світла із середовища з більшою оптичною густиною в середовище з меншою оптичною густиною. За цих умов процес відбивання від межі двох середовищ супроводжується частковим потраплянням випромінювання у середовище з меншою оптичною густиною. Якщо це середовище поглинає світло, відбувається послаблення інтенсивності світлового потоку (тобто, порушується ПВВ: $r < 1$), що може бути зареєстровано.

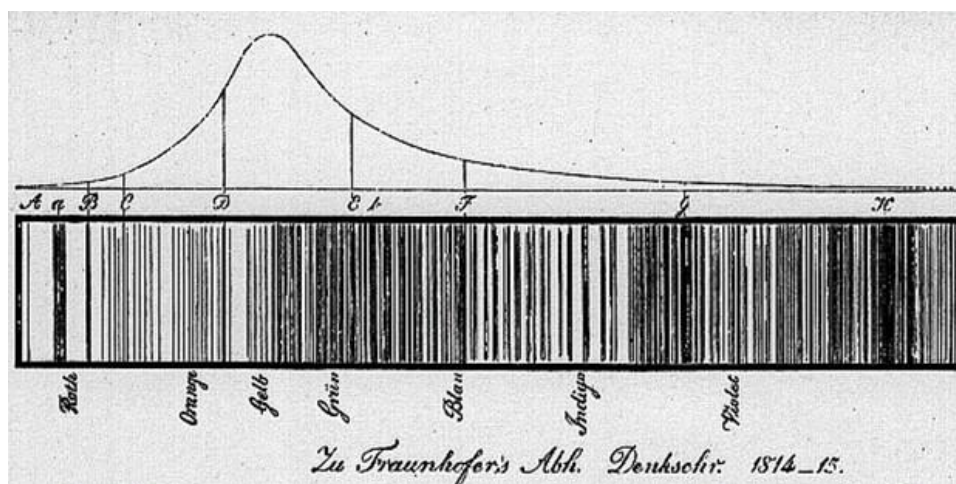
Метод ППВВ доповнює традиційні методи абсорбційної спектроскопії, оскільки значно розширює клас досліджуваних матеріалів за рахунок речовин не прозорих для ІЧ випромінювання та таких, які вимагають складного підготовчого процесу для вимірювань поглинання. До того ж, вимірювання відбивання є неруйнівним методом досліджень, який можна застосовувати безконтактно в природніх умовах.

Додаток до Розділу 2. Сонячний спектр з лініями поглинання

У 1802 р. англійський вчений В.Г.Волластон, суттєво вдосконаливши схему Ньютона, побудував один з перших спектрометрів зі скляною призмою. За його допомогою він спостерігав темні лінії у сфокусованому спектрі Сонця. Сам В.Г.Волластон вважав, що ці лінії є природніми кордонами між кольорами.

Й.Фраунгофер у 1814 р. побудував свій спектрометр, замінивши призму дифракційною ґраткою, що дало змогу міряти довжини хвиль спектральних ліній. Порівнявши спектри від різних джерел, він прийшов до висновку, що темні лінії є характерними саме для сонячного спектру.

У 50-ті рр. ХІХ ст. Г.Р.Кірхгоф показав, що темні лінії в спектрах Сонця та інших зірок виникають внаслідок поглинання випромінювання, що йде від гарячого центру, хімічними елементами у поверхневих шарах.



Ілюстрація з трактату Й.Фраунгофера (1817 р.)

3. ЛЮМІНЕСЦЕНТНА СПЕКТРОСКОПІЯ

Основні поняття.

Люмінесценцію можна визначити як спонтанне випромінювання, надлишкове над тепловим, що має скінчену тривалість, і яке виникає при спектроскопічних переходах атомів, молекул, кристалів із збуджених електронних станів в основний стан. Збуджені стани можуть бути отримані у різний спосіб, зокрема, при збудженні світлом у смузі поглинання речовини (фотолюмінесценція).

Енергетичні стани молекули та можливі переходи між ними можна представити у вигляді схеми рівнів енергії (діаграми Яблонського), де кожний електронний рівень розщеплюється на ряд коливальних підрівнів (Рис. 19).

При поглинанні кванту світла молекула переходить з нижнього коливального підрівня основного стану S^0 на один із коливальних підрівнів збудженого електронного стану S^* . За рахунок явища внутрішньої конверсії енергії (термалізації) за час $(10^{-12} - 10^{-13})\text{с}$ молекула переходить на нижній коливальний підрівень. Саме з нього при переході на будь-який коливальний підрівень основного електронного стану відбувається випромінювання – *флюоресценція*.

З такого представлення випливає, що спектр флюоресценції $I_{flu} = f(\lambda)$ та квантовий вихід флюоресценції $\varphi = \frac{n_{flu}}{n_{abs}}$ (де n_{flu} та n_{abs} - число квантів флюоресценції і тих, що поглинулись) не залежать від довжини хвилі збуджуючого світла (Закон Вавілова).

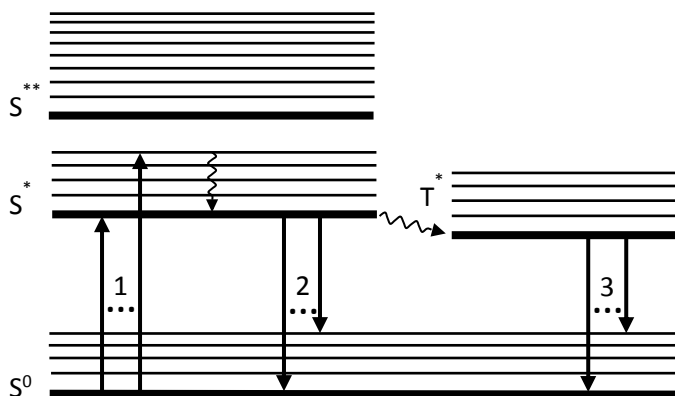


Рис.19 Енергетична схема рівнів молекули (Діаграма Яблонського). 1 – поглинання, 2 – флюоресценція, 3 – фосфоресценція.

Оскільки енергія кванта, що зазнав поглинання, частково витрачається на теплові коливання, енергія кванту флюоресценції виявляється меншою, тобто спектр флюоресценції зсунутий у довгохвильовий бік відносно найбільш довгохвильової смуги поглинання (Закон Стокса).

Форма смуг флюоресценції визначається розподілом коливальних підрівнів основного стану, тобто відображує коливальну структуру основного стану. Для багатьох молекул розподіл коливальних підрівнів по енергіях в основного та збудженого станів однаковий; отже смуги флюоресценції та поглинання будуть дзеркально-симетричними відносно переходу $S^*(v=0) \rightarrow S^0(v=0)$. (Правило дзеркальної симетрії Льовшина).

З огляду на діаграму Яблонського, спектри люмінесценції надають інформацію не лише про структуру енергетичних рівнів молекули, а й про механізми перетворення енергії у молекулярних системах. Параметри спектрів залежать від багатьох факторів: концентрації центрів свічення, типу матриці (розчинника), температури тощо.

Вимірювання спектрів флуоресценції.

Вимірювання флуоресценції можна виконати за допомогою універсального спектрометра. На Рис. 20 показано поширену схему вимірювань спектру флуоресценції відносно прозорого зразка (розчину). Головною вимогою до джерела збудження (Д) є достатня спектральна потужність випромінювання в області поглинання зразка.

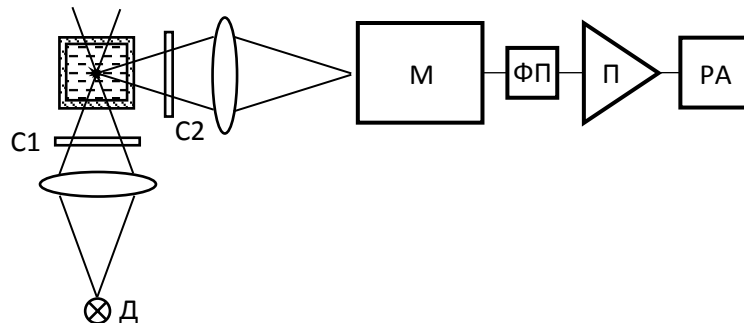


Рис.20 Традиційна схема вимірювань спектрів флуоресценції. Позначення ті ж, що на Рис.13.

У якості джерела використовують газорозрядні лампи високого та надвисокого тиску (Hg, Хе) або лазери із необхідною довжиною хвилі генерації (N_2 , Ar^+). У випадку використання ламп необхідну ділянку спектру відфільтровують світлофільтром С1. Світлофільтр С2 служить для перешкоджання потраплянню розсіяного збуджуючого світла у спектрометр.

Якщо досліджуваний об'єкт сильно поглинає чи розсіює збуджуюче світло або взагалі непрозорий, використовують відповідну орієнтацію зразка відносно напрямків збудження та реєстрації (Рис. 21).

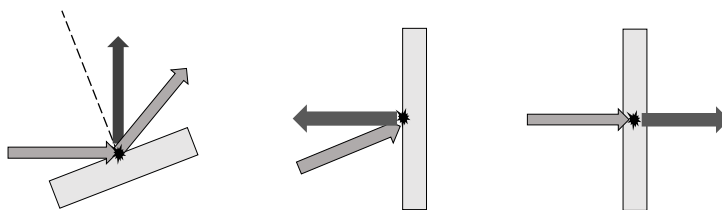


Рис.21 Варіанти розміщення зразка відносно напрямків збудження та реєстрації

Флуоресцентний аналіз.

Флуоресцентний аналіз дає змогу визначити якісний та кількісний склад речовин. Головна особливість методу - висока чутливість, яка дозволяє ідентифікувати речовину при її відсотковому вмісту до $10^{-7} \%$, а при застосуванні спеціальних методів - до $10^{-10} \%$. Аналіз може бути застосовано для дослідження понад 3000 органічних сполук, які мають власну люмінесценцію, а також флуоресціюючих неорганічних сполук: солей уранілу, лантанідів, комплексних галогенідів важких металів.

Кількісний флуоресцентний аналіз (флуориметрія) – визначення концентрації речовини за інтенсивністю флуоресценції. За умови стаціонарного (неперервного) збудження та відсутності домішок, що спричиняють гасіння, інтенсивність флуоресценції дорівнює:

$$I_{flu} = k \cdot I_0(1 - T) \cdot \varphi, \quad (3.1)$$

де k - деяка константа, I_0 - інтенсивність збуджуючого світла, T - коефіцієнт пропускання, φ - квантовий вихід. При невеликих концентраціях C центрів поглинання:

$$I_{flu} = k \cdot I_0(1 - e^{-\alpha C l}) \approx k \cdot I_0 \cdot \alpha \cdot C \cdot \varphi \sim C. \quad (3.2)$$

Тобто, за таких умов, інтенсивність флуоресценції лінійно залежить від концентрації, що є основою кількісного аналізу.

Флуоресцентний аналіз має суттєву перевагу перед фотометричними методами аналізу, які базуються на вимірюванні поглинання. У фотометрії мінімальна концентрація, яку можна визначити, обмежена точністю вимірювання різниці між двома величинами I_0 та I . У флуориметрії мінімальна концентрація визначається чутливістю (але не точністю!) детектора.

Проблема, з якою часто зустрічаються при використанні флуоресценції в кількісному аналізі, і яка може суттєво позначитись на його точності, є *гасіння* - зменшення інтенсивності чи квантового виходу. Розрізняють:

– *концентраційне* гасіння, коли зменшується не тільки інтенсивність, а й сам спектр. Причин цьому явищу може бути декілька. Зокрема, зі збільшенням кількості молекул збільшується ймовірність взаємодії між ними, що призводить до утворення асоціатів, які мають менший квантовий вихід флуоресценції. При

високих концентраціях проявляється також ефект внутрішнього фільтру, коли при проходженні світла через розчин інтенсивність падає.

– *домішкове* гасіння. Деякі сторонні речовини, зокрема, іони важких атомів, перехідних металів та ін., навіть у мізерній концентрації сприяють безвипромінювальним процесам, наприклад, полегшують перехід $S^* \rightarrow T^*$.

– *температурне* гасіння. У більшості випадків підвищення температури зменшує квантовий вихід флуоресценції. Зі збільшенням температури збільшується частота та енергія зіткнень молекул у розчині, а також амплітуда внутрімолекулярних коливань, що призводить до збільшення безвипромінювальної релаксації збуджених рівнів, і, відповідно, до гасіння флуоресценції.

Оскільки спектри флуоресценції молекул часто мають вигляд широких слабо структурованих смуг, можливості якісної ідентифікації складних багатокомпонентних речовин за допомогою флуоресцентного аналізу обмежені. Для вивчення таких систем застосовують спеціальні прийоми, що збільшують селективність (вибірковість) аналізу.

Спектри фотозбудження.

Спектр фотозбудження – це залежність інтенсивності флуоресцентного випромінювання на певній довжині хвилі від довжини хвилі збудження. Інтенсивність флуоресценції визначається співвідношеннями (3.1) та (3.2). Звідки випливає, що $I_{flu}(\lambda) \sim I_0(\lambda) \cdot \alpha(\lambda)$. Якщо забезпечити $I_0(\lambda) \approx const$ в робочому діапазоні, то спектр фотозбудження у першому наближенні буде відтворювати спектр поглинання. Спектри фотозбудження використовують тоді, коли не має можливості точно поміряти поглинання (Рис.17) або коли такі вимірювання взагалі неможливі, наприклад, у випадку непрозорих зразків.

На практиці ідентичність форми спектрів фотозбудження і поглинання спостерігається рідко. Ці спектри можуть відрізнятися через відмінності хімічних і фізичних властивостей молекули в збудженому стані у порівнянні з основним. Наприклад, молекули в збудженому стані можуть мати іншу геометрію та характеризуватись іншими міжатомні відстанями (а значить, і дипольними моментами). Тобто, спектри фотозбудження надають додаткову інформацію про досліджувані молекулярні системи.

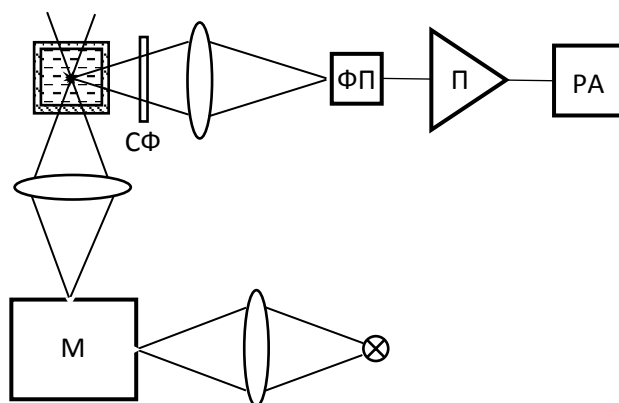


Рис. 22 Схема вимірювань спектрів фотозбудження. Позначення ті ж, що на Рис.13.

Вимірювання спектрів фотозбудження здійснюють на спеціальних спектральних установках (Рис.22). Джерелом світла служить ксенонова лампа, яка випромінює інтенсивний неперервний спектр у видимій та УФ області. Для виділення певної довжини хвилі світловий пучок пропускають через світлосильний монохроматор. Світлофільтр СФ виділяє необхідну ділянку спектра для реєстрації сигналу флуоресценції.

У сучасних спектральних комплексах схеми вимірювання флуоресценції та фотозбудження об'єднують в один прилад – *спектрофлуориметр* (рис.23).

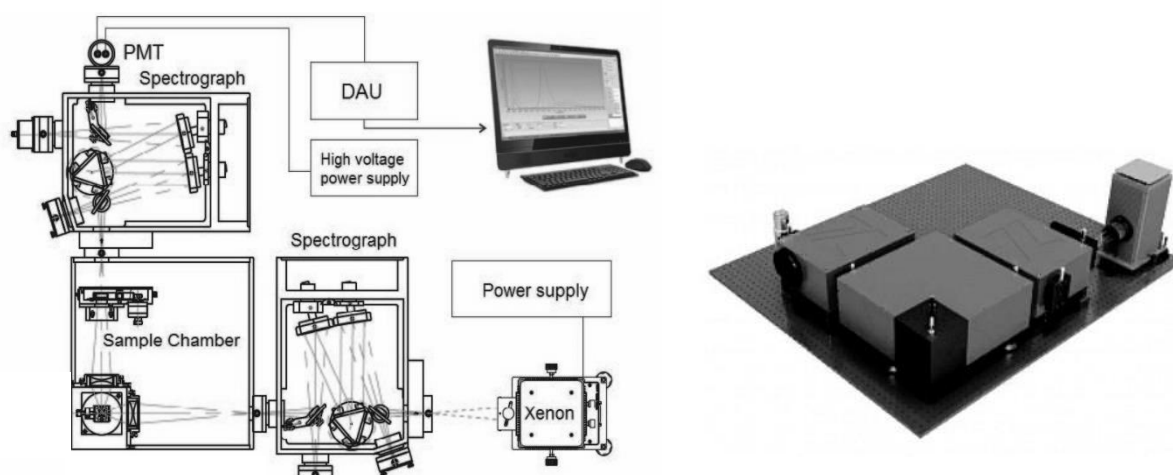


Рис. 23 Сучасний спектральний комплекс для повного циклу люмінесцентних вимірювань

Вимірювання спектрів фосфоресценції.

Одним із шляхів безвипромінювальної дезактивації збудженої молекули (Рис.19) є інтеркомбінаційна конверсія в триплетний стан: $S^* \rightarrow T^*$. Випромінювальний перехід $T^* \rightarrow S^0$, який є забороненим по спіну, призводить до мало інтенсивного випромінювання - *фосфоресценції* зі смугою, розташованою у більш довгохвильовій області, ніж смуга флуоресценції. Крім інтенсивності та поло-

ження спектрів флуоресценції та фосфоресценції відрізняються часом випромінювання. Для флуоресценції характерним є час порядку $\tau_{flu} \sim (10^{-8} - 10^{-9})\text{с}$, для фосфоресценції $\tau_{phos} > 10^{-5}\text{с}$. Відповідно, співвідношення їх інтенсивності визначається виразом $\frac{I_{flu}}{I_{phos}} \sim \frac{\tau_{phos}}{\tau_{flu}} > 10^3$, що фактично унеможливлює пряму реєстрацію спектрів фосфоресценції на тлі флуоресценції. Для вимірювань застосовують спеціальні методи спектроскопії, у яких використовується значна різниця у часі випромінювання: $\tau_{phos} \gg \tau_{flu}$.

Один з поширених методів *спектроскопії розділення у часі* полягає у використанні імпульсного збудженням люмінесценції та відповідному керуванні режимом роботи фотоелектронного приймача (рис.24). Джерелом збудження служить лазер, випромінювання якого модулюється через блок живлення (БЖ1) прямокутними імпульсами (1) від генератора (ГПІ). Той же генератор через лінію затримки (ЛЗ) підключено до блоку живлення (БЖ2) фотоелектронного підсилювача. ФЕП приймає світловий сигнал лише у ті інтервали часу, коли на блок живлення подається прямокутний імпульс (2).

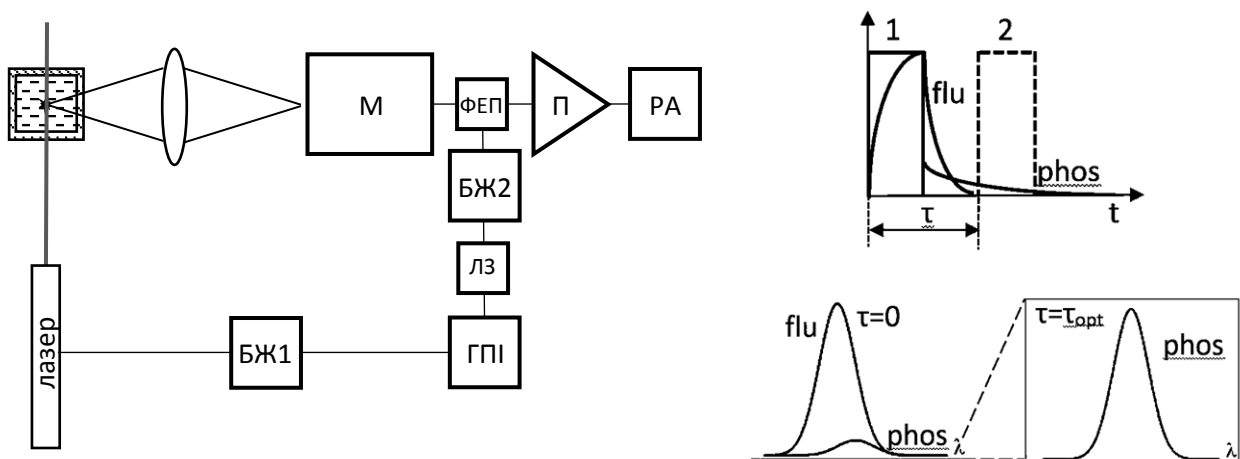
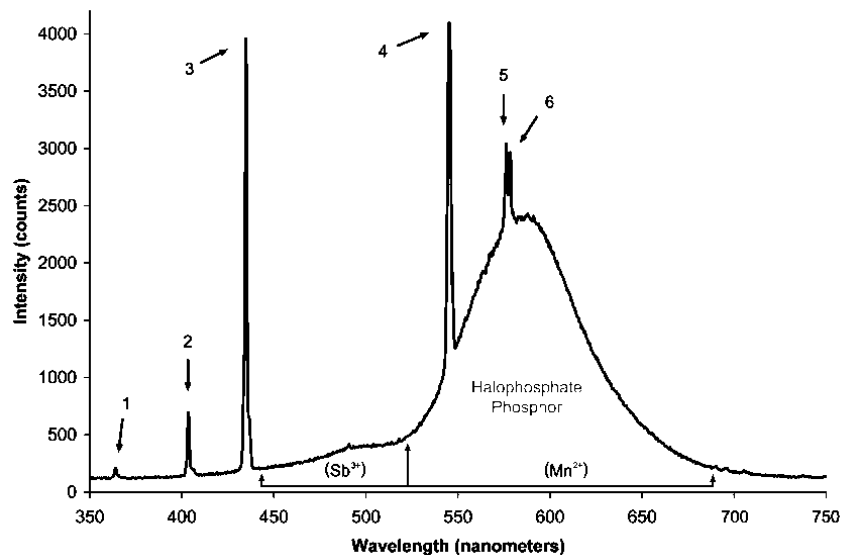


Рис. 24 Схема, в якій реалізовано метод спектроскопії розділення у часі (БЖ1 – блок живлення лазера, БЖ2 – блок живлення фотоелектронного підсилювача, ГПІ – генератор прямокутних імпульсів, ЛЗ - лінія затримки; інші позначення – як на Рис.13).

Якщо цей імпульс подається з певною затримкою, більшою за час випромінювання флуоресценції ($\tau > \tau_{flu}$), ФЕП реєструє лише фосфоресценцію.

Додаток до Розділу 3. Люмінесцентні лампи

Винахідником лампи денного світла вважається Едмунд Джермер, який у 1926 р. запатентував новий тип газорозрядних ламп на парах ртуті. Стінки колби мали покриття флуоресцентною речовиною, яка перетворювала ультрафіолетове світло, що випромінював дуговий розряд, у біле світло зі спектром у видимій області. Фірма General Electric викупила патент Е. Джермера, і з 1938 р. розпочала серійне виробництво ламп денного світла.



Спектр випромінювання перших серійних люмінесцентних ламп (40-і рр. XX ст.). Стрілками вказані лінії випромінювання розряду парів ртуті.

4. СПЕКТРОСКОПІЯ РОЗСІЯННЯ СВІТЛА

Основні положення

Розповсюдження світлових хвиль у речовині супроводжується їх розсіянням – вторинним випромінюванням, зумовленим вимушеним коливанням електронів в атомах, іонах або молекулах середовища під дією електричної компоненти. Розсіяння світла може відбуватись як без зміни довжини хвилі (пружне), так і з її зміною (непружне). Предметом оптичної спектроскопії є дослідження спектрів neprужного розсіяння. Проміжне положення між пружним та neprужним займає квазіпружне розсіяння, яке супроводжується надзвичайно малою зміною довжини хвилі, і яку неможливо зареєструвати оптичними спектральними приладами. Проте, дослідження таких явищ теж формально (із певними застереженнями) відносять до спектроскопічних.

Характер розсіювання залежить від частоти (довжини хвилі) світла, природи, розмірів та поведінки відповідних центрів (Рис.25).



Рис.25 Класифікація типів розсіювання світла

Спектроскопія квазіпружного розсіювання світла (СКРС).

СКРС (синоніми: динамічне лазерне розсіювання, спектроскопія оптичного змішування, лазерна кореляційна спектроскопія) – метод дослідження систем з рухомими центрами розсіювання (оптичними неоднорідностями): колоїдних розчинів, суспензій наночастинок, рідких полімерів, біологічних рідин тощо. Квазіпружне розсіювання можна спостерігати і в чистих рідинах та газах, де неоднорідності виникають внаслідок флуктуацій густини, концентрації та ін. (молекулярне розсіювання).

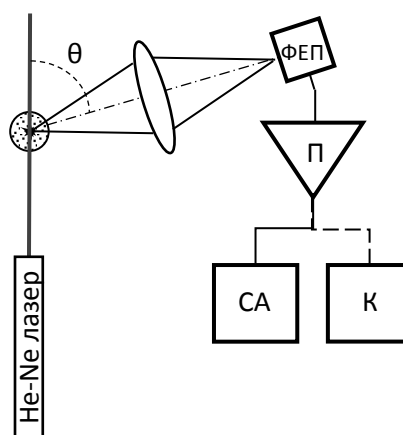


Рис. 26 Базова схема для дослідження квазіпружного розсіювання світла (СА – спектроаналізатор, К – корелятор)

Базову схему для вимірювань параметрів квазіпружного розсіювання показано на Рис. 26. Джерелом світла служить гелій-неоновий лазер зі стабілізованою

частотою, у якого ширина спектральної лінії визначається нестабільністю частоти. Для точних вимірювань необхідно використовувати лазери з $\Delta\nu < 10\text{Hz}$.

Розсіяне світло реєструється під деяким фіксованим кутом Θ . Сигнал після ФЕП та підсилювача подається на одну зі схем його подальшого аналізу. Існують два рівнозначні методи обробки сигналу.

1. При розсіянні когерентного лазерного випромінювання на мікронеоднорідностях, що перебувають, наприклад, в стані Броунівського руху, відбувається не лише зміна напрямку розповсюдження та поляризації вторинного випромінювання, як у пружного розсіяння, але і зміна частоти хвилі за рахунок ефекту Доплера. Спектр вторинної хвилі розширюється на величину порядку

$$\frac{\Delta\nu}{\nu} \sim \frac{v}{c} \sim 10^{-10} \div 10^{-13} \quad (4.1)$$

де ν - середня швидкість переміщення центру розсіяння, c - швидкість світла. Таке розширення не може бути спостережене за допомогою традиційних спектральних приладів, навіть із максимально досяжною роздільною здатністю ($R \sim 10^7$).

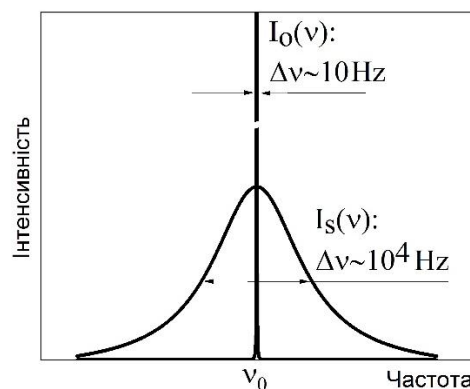


Рис. 27 Спектр квазіпружного розсіяння на монодисперсних сферичних частинках

Для реєстрації спектрів квазіпружного розсіяння використовують *метод оптичного змішування*, який, у свою чергу, базується на властивостях квадратичного детектування. Типовий фотоприймач (фотодіод, фотопомножувач) реєструє сигнал, пропорційний до квадрату амплітуди електричної компоненти світлової хвилі: $U_{\text{вих}} \sim |\vec{E}|^2$. При потраплянні на приймач світлових хвиль різних частот на виході утворюється електричний сигнал, промодульований різницевиими частотами. Оскільки у випадку квазіпружного розсіяння ці частоти є близькими, сигнал має характер биття, спектр потужності якого однозначно зв'язаний зі спектром розсіяння. Цей спектр розташований в діапазоні низьких частот і може бути проаналізований вже не оптичними, а радіотехнічними засобами – низько-частотними аналізаторами спектру, які мають роздільну здатність $\sim 0.1\text{Hz}$. Зокрема, якщо розсіяння відбувається на монодисперсних сферичних частинках, фо-

рма спектру описується функцією Лоренца (Рис.27), при цьому напівширина контуру пропорційна до коефіцієнту дифузії: $\Delta\nu \sim D$, який, у свою чергу, визначається через параметри середовища та розміри частинок.

2. Інший варіант аналізу полягає в обчисленні автокореляційної функції (АКФ) флуктуацій інтенсивності розсіяного світла (звідси одна з назв методу – *лазерна кореляційна спектроскопія*):

$$G(\tau) \sim \int_0^T I(t) \cdot I(t - \tau) dt, \quad (4.2)$$

де $I(t)$ - інтенсивність розсіяного світла, яке зазнає флуктуацій, T - час спостереження, τ - час кореляції. Флуктуації виникають внаслідок інтерференції когерентного світла, розсіяного на рухомих центрах, і містять інформацію про характерні масштаби часу. Із плином часу $G(\tau)$ затухає, причому це затухання буде швидшим у менших за розмірами центрів. По формі АКФ можна відтворити розподіл монодисперсної суміші частинок по розмірах. У загальному випадку розділення повної АКФ на складові здійснюється за спеціальними алгоритмами, що дозволяє відтворити розподіл по розмірах полідисперсної суміші частинок (Рис.28).

Автокореляційну функцію інтенсивності можна отримати через Фур'є-перетворенням спектра потужності. Тобто, обидва методи тісно зв'язані і однаково добре виконують свою основну задачу - аналіз розподілу частинок за розмірами в розчинах та суспензіях, вивчення динаміки оптично неоднорідних середовищ, а також вимірювання швидкості потоків рідин та газів.

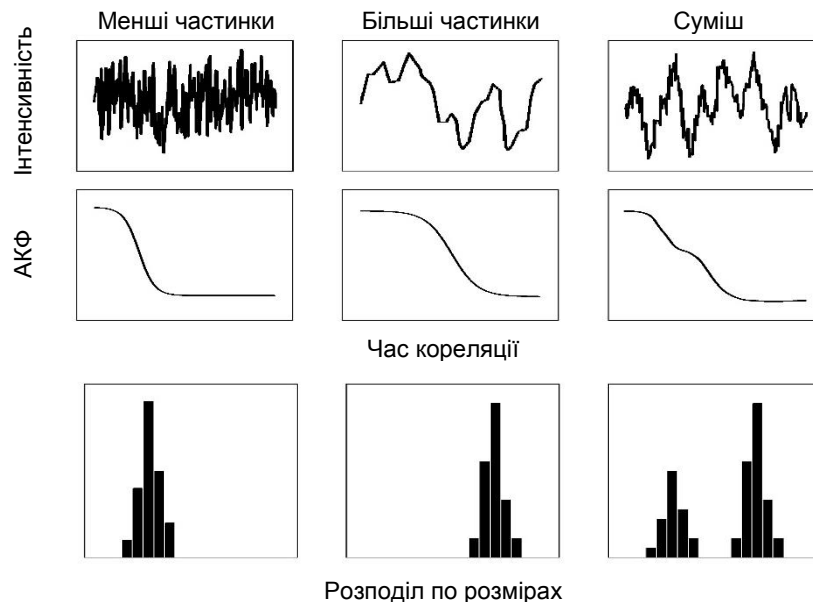


Рис.28 До кореляційного аналізу квазіпружно розсіяного світла

Формально, СКРС можна віднести до методів «спектроскопії без спектральних приладів», які широко використовуються в молекулярній фізиці, фізичній хімії, біофізиці тощо.

Спектроскопія розсіяння Мандельштама-Бріллюена (РМБ)

Розсіянням Мандельштама - Бріллюена називають розсіяння оптичного випромінювання конденсованими середовищами (твердими тілами і рідинами) в результаті його взаємодії з власними пружними коливаннями цих середовищ. Достатньо сильна взаємодія між частинками призводить до того, що флуктуації густини поширюються у вигляді пружних (акустичних) хвиль зі швидкістю, що дорівнює швидкості поширення звуку. Ці хвилі мають різні частоти і поширюються у різних напрямках. Будь-яку акустичну хвилю можна розкласти за теоремою Фур'є на плоскі монохроматичні хвилі, дифракція світла на яких призводить до явища розсіяння.

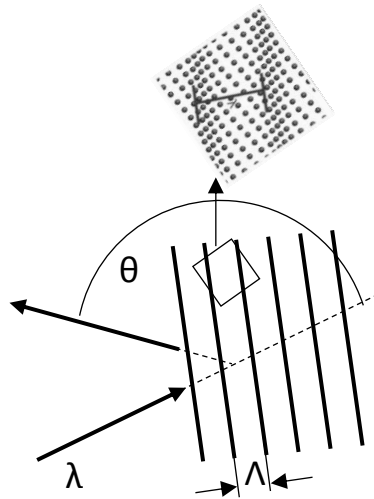


Рис.29 До пояснення механізму РМБ

Якщо на середовище спрямувати паралельний пучок монохроматичного світла з довжиною хвилі λ , а розсіяне світло реєструвати під деяким кутом Θ , то існує практично єдина плоска пружна хвиля з довжиною Λ , на якій відбувається дифракція (Рис.29). Зв'язок між довжинами хвиль та кутом дифракції визначається умовою Брегга:

$$2n\Lambda \sin \frac{\Theta}{2} = \lambda, \quad (4.3)$$

де n – показник заломлення. У той же час світло дифрагує на хвилях частоти $\Omega_{зв}$, що розповсюджуються зі швидкістю звуку $v_{зв}$. Внаслідок ефекту Допплера частоту розсіяного світла ω буде збільшено чи зменшено на величину $\Omega_{зв}$, в залежності від напрямку розповсюдження пружної хвилі. Таким чином, в спектрі розсіяного світла будуть присутні дві компоненти з частотами $\omega + \Omega_{зв}$ та $\omega - \Omega_{зв}$. Відносне зміщення частоти (відповідно, і довжини хвилі) буде дорівнювати:

$$\frac{\Delta\omega}{\omega} = \frac{\Delta\lambda}{\lambda} = \pm 2n \frac{v_{зв}}{c} \sin \frac{\Theta}{2}. \quad (4.4)$$

У твердих тілах спектр розсіяного світла може містити декілька компонент, зумовлених повздовжніми та поперечними звуковими хвилями.

Підстановка числових значень дає $\frac{\Delta\lambda}{\lambda} \sim 10^{-5} \div 10^{-6}$. Такі зміщення можна зареєструвати за допомогою спектральних приладів високої роздільної здатності - інтерферометрів Фабрі-Перо (Рис.27)

По спектру РМБ можна визначити акустичні параметри середовища: по відстані між компонентами - швидкість звуку, а по ширині спектральних смуг - коефіцієнт його поглинання.

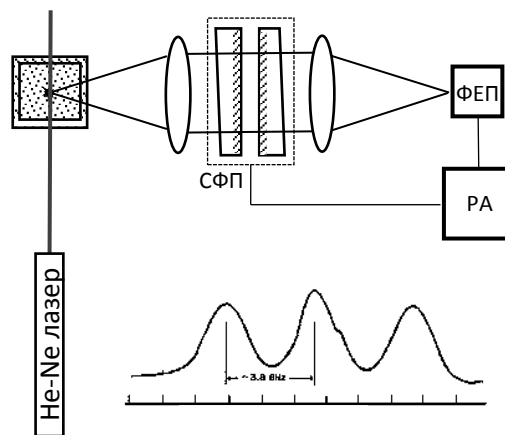


Рис.27 Проста схема спостереження спектрального розщеплення при розсіянні Мандельштама-Брілюєна. (СФП – спектрометр Фабрі-Перо). Як приклад наведено спектр РМБ води.

Спектроскопія комбінаційного (Раманівського) розсіяння.

Спектроскопія комбінаційного розсіяння (КР) – разом із ІЧ-спектроскопією поглинання є двома основними методами коливальної спектроскопії. У той час, як ІЧ смуги виникають внаслідок зміни дипольного моменту молекули, КР спектр формується завдяки зміні поляризованості молекули.

В рамках класичних уявлень, під дією електричної компоненти світлової хвилі, що має частоту ν_0 , у молекули виникає індукований дипольний момент, який спричинює коливання з тою ж частотою ν_0 . Ці вимушені коливання молекулярного диполя і є причиною звичайного релеевського розсіяння світла. Однак на вимушені коливання електронів, внаслідок взаємодії з ядрами молекули, накладаються коливання цих ядер. Коливання ядер відбуваються значно повільніше, ніж коливання електронів. Відповідно, змінюється поляризованість молекули і, як наслідок – частота розсіяного світла. В його спектрі буде реєструватись не лише одна компонента релеевського розсіяння з частотою ν_0 , а й складові з комбінаційними частотами: $\nu_0 + \nu_v$ та $\nu_0 - \nu_v$ де ν_v - частота коливань ядер.

Явище комбінаційного розсіяння світла можна також пояснити і з квантових уявлень, згідно з якими, молекула характеризується сукупністю енергетичних станів: електронних, коливальних та обертальних, а її взаємодія з електромагнітною хвилю супроводжується квантовими переходами між цими станами (Рис. 28 а).

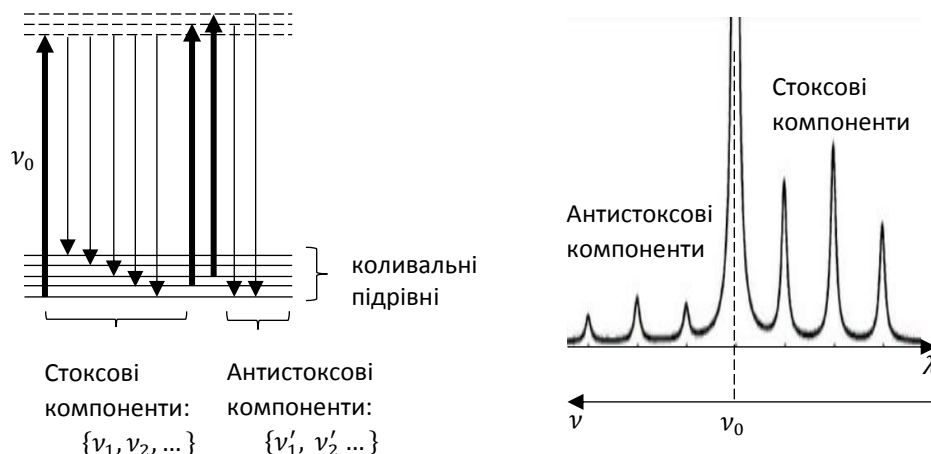


Рис. 28 До пояснення комбінаційного розсіяння світла за допомогою квантових уявлень

Молекула, що перебуває в незбудженому стаціонарному стані, під дією кванта світла з енергією $h\nu_0$ через проміжний (синоніми: нестаціонарний, віртуальний) електронний стан випромінює «непружно розсіяний» квант $h\nu'$. Якщо на початку процесу молекула перебувала в незбудженому коливальному стані ($\nu = 0$), то вона може повернутись в один зі збуджених ($\nu = 1, 2, \dots$) коливальних станів. Відповідно, розсіяні кванти матимуть енергію: $h\nu' = h\nu_0 - \frac{E_{\nu 1}}{h}, h\nu_0 - \frac{E_{\nu 2}}{h}, \dots$ та формуватимуть *стоксів спектр* комбінаційного розсіяння.

Якщо ж молекула перебувала в збудженому стані, то при neprужному розсіянні вона може перейти і в незбуджений стан. Тоді розсіяні (*антистоксові*) кванти матимуть енергію, більшу за початкову: $h\nu' = h\nu_0 + \frac{E_{\nu 1}}{h}, h\nu_0 + \frac{E_{\nu 2}}{h}, \dots$

Співвідношення інтенсивностей антистоксових та стоксових компонент залежить від температури. За умови теплової рівноваги його можна визначити із розподілу Больцмана:

$$\frac{I_{as}}{I_s} = \exp\left(-\frac{E_v}{kT}\right). \quad (4.5)$$

Якщо система не перебуває у стані теплової рівноваги, то відношення інтенсивностей можна використати для визначення відхилення системи від рівноваги.

Таким чином, спектр комбінаційного розсіяння містить по обидва боки від лінії збудження ν_0 набір ліній з частотами $\{\nu_1, \nu_2, \nu_3, \dots\}$ (Рис. 28 б). Сукупність значень різниць частот $\Delta\nu_i = |\nu_0 - \nu_i|$ є характерною для певної речовини, а відповідні

різниці збігаються з частотами (хоча, і не з усіма можливими) коливань молекул цієї речовини. За спектрами комбінаційного розсіяння можна проводити структурні та аналітичні дослідження. Параметри ліній спектру (частота, інтенсивність, ширина тощо) однозначно визначаються будовою розсіюючих молекул та їхньою взаємодією з середовищем. Можна визначити власні частоти молекули, робити висновки про характер молекулярної симетрії, про величину внутрімолекулярних сил тощо.

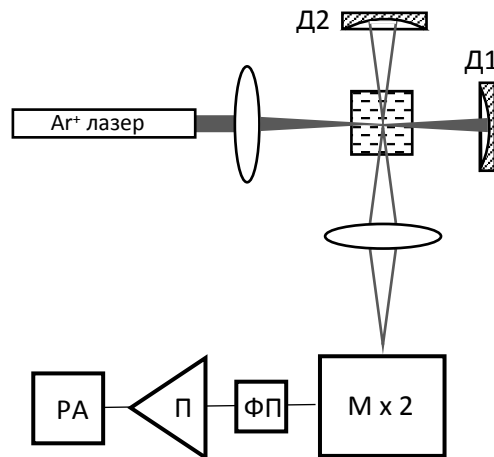


Рис. 29 Схема для вимірювання спектрів комбінаційного розсіяння. (Д1, Д2 – увігнуті дзеркала, М x 2 – подвійний монохроматор)

Типову установку для вимірювання спектрів КР прозорих зразків показано на Рис. 29. Випромінення лазера фокусується у центрі досліджуваного зразка, заповнюючи деяку область простору, у якій відбувається розсіяння світла. Дзеркало Д1 повертає промені лазера, що пройшли крізь зразок, назад в область розсіяння, що збільшує ефективність збудження майже вдвічі. Дзеркало Д2 збільшує світловий потік розсіяного світла, яке збирається на входній щілині подвійного монохроматора.

Інші варіанти розташування зразка відносно лазерного пучка аналогічні до випадку вимірювання флуоресценції (Рис.21).

Мікро-раманівська спектроскопія

Можливість сфокусувати лазерний пучок на ділянці мікронних розмірів дозволяє вимірювати спектри мікроразків. Відповідно, серед спектральних методів виділяється окремий напрямок - мікро-раманівська спектроскопія.

Типові мікро-раманівські комплекси (Рис. 30) містять лазер, мікроскоп з можливістю відеозйомки, систему фільтрації для відокремлення непружно розсіяного світла, дифракційний спектрометр, а також матричний детектор, інтегрований у спектрометр, для оцифрування спектру. Зазвичай це CCD-камера.

У залежності від можливостей мікроскопа та способу його інтеграції в раманівський спектрометр, обираються схеми розміщення мікроразків, їх освітлення та контролю параметрів. Також залучаються додаткові інструменти з арсеналу традиційної мікроскопії: метод темного поля, фазового контрасту, поляризації, тощо. Сучасні мікро-раманівські спектрометри використовують конфокальну оптику, завдяки чому суттєво збільшується роздільна здатність по трьох координатах. Це, зокрема, дозволяє аналізувати окремі шари мікроразка.

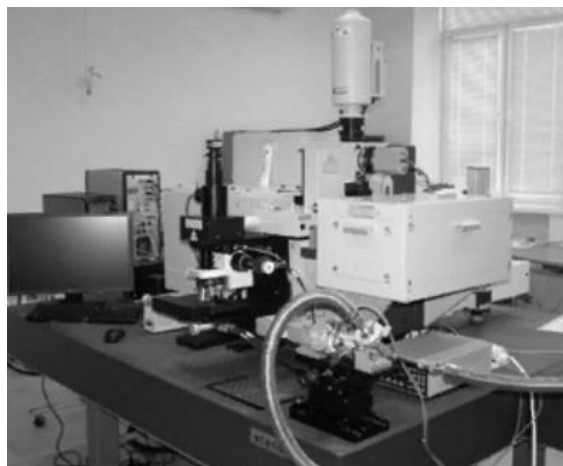
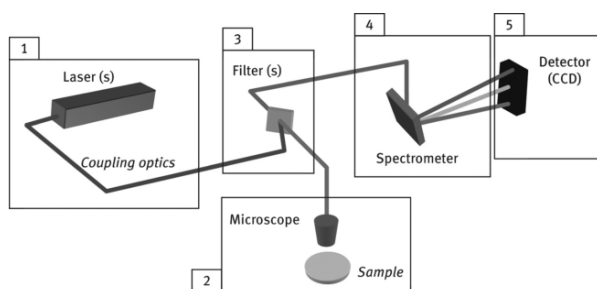


Рис. 30 Мікро-раманівський спектрометр.

Порівняння методів коливальної спектроскопії.

Для вимірювання повного коливального спектру, який містить частоти усіх коливань, вважається за необхідне спільне використання ІЧ та КР методів. Хоча деякі частоти можуть проявлятися в обох спектрах, ці два методи базуються на різних фізичних принципах і підкоряються своїм правилам відбору. Інформація, яку вони надають, залежить від симетрії та полярності молекул. Симетричні коливання та неполярні групи краще вивчати методом КР, антисиметричні та полярні групи – за допомогою ІЧ-спектроскопії.

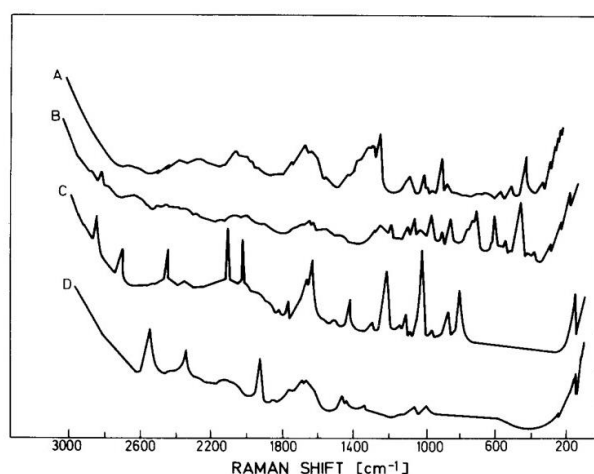
У таблиці для порівняння переваг та недоліків КР- та ІЧ- спектроскопії наведено відповідну інформацію стосовно обладнання, зразків та можливостей застосування.

	<i>KP</i>	<i>ГЧ</i>
Неприйнятні типи зразків та їх властивості	Забарвлення, флуоресценція	Монокристали, метали, водні розчини
Кювети	Прості (скляні)	Складні (галогеніди лужних металів)
Дослідження мікророзривів ($d < 1 \text{ мкг}$)	Ефективне	Ускладнене
Спектральний діапазон $\Delta\nu$ (см^{-1})	10-4000	10-400, 200-4000 (інший прилад або інша елементна база)
Дослідження водних розчинів	Ефективне	Ускладнене
Дослідження низькочастотних ($\nu < 100 \text{ см}^{-1}$) коливань	Ефективне	Ускладнене

Додаток до розділу 4. Раманівські спектри живих клітин.

Використання раманівського розсіяння світла дозволяє не лише визначити частоти молекулярних коливань, а й дослідити колективні збудження в надмолекулярних системах, зокрема, живих. Канадському досліднику С.Дж.Уеббу вдалося поміряти раманівські спектри синхронізованих живих клітин, які перебували в стані активної життєдіяльності. Виявилось, що структура спектрів залежала від фази клітинкового циклу, співвідношення інтенсивності стоксових і антистоксових компонент свідчило про принципову термодинамічну нерівноважність системи, а лінії у зареєстрованих спектрах мали частоти, які не відповідали жодним молекулярним групам. Пізніше ці досліді вдалося відтворити групі київських вчених під керівництвом академіка М.П.Лисиці.

За однією з гіпотез, в раманівських спектрах синхронізованих живих клітин проявляються колективні нелінійні збудження (т.з., *давидівські солітони*), які забезпечують транспорт енергії по білкових молекулах.



Раманівські спектри синхронізованої культури клітин *E.coli* у різних фазах життєвого циклу: А. 0-20 хв., В. 20-40 хв., С. 40-60 хв., D. 65-85 хв.

Зміст

ВСТУП	2
ОСНОВНІ ВІХИ ІСТОРІЇ СПЕКТРОСКОПІЧНИХ МЕТОДІВ	3
1. ЕМІСІЙНА СПЕКТРОСКОПІЯ.....	4
<i>Основні поняття.....</i>	4
<i>Деякі особливості вимірювання емісійних спектрів.....</i>	6
<i>Оптимізація емісійних вимірювань</i>	7
<i>Атомно-емісійний спектральний аналіз</i>	8
<i>Методи збудження спектрів емісії.....</i>	10
<i>Прилади для емісійного спектрального аналізу</i>	11
<i>Додаток до Розділу 1. Деякі визначні спектри випромінювання, що увійшли в історію фізики.....</i>	12
2. АБСОРБЦІЙНА СПЕКТРОСКОПІЯ.....	14
<i>Закон Бугера-Ламберта-Бера.....</i>	14
<i>Відхилення від закону Бугера-Ламберта.....</i>	15
<i>Загальні принципи побудови СП для вимірювання спектрів поглинання</i>	16
<i>Оптимізація вимірювання спектрів поглинання</i>	20
<i>Особливості вимірювань поглинання в інфрачервоному діапазоні</i>	20
<i>Особливості підготовки зразків для ІЧ-спектроскопії поглинання.</i>	22
<i>Спектроскопія відбивання.....</i>	22
<i>Додаток до Розділу 2. Сонячний спектр з лініями поглинання</i>	23
3. ЛЮМІНЕСЦЕНТНА СПЕКТРОСКОПІЯ.....	24
<i>Основні поняття.</i>	24
<i>Вимірювання спектрів флуоресценції.....</i>	25
<i>Флуоресцентний аналіз.....</i>	26
<i>Спектри фотозбудження.</i>	27
<i>Вимірювання спектрів фосфоресценції.</i>	28
<i>Додаток до Розділу 3. Люмінесцентні лампи</i>	29
4. СПЕКТРОСКОПІЯ РОЗСІЯННЯ СВІТЛА.....	30
<i>Основні положення</i>	30
<i>Спектроскопія квазіпружного розсіяння світла (СКРС).....</i>	31
<i>Спектроскопія розсіяння Мандельштама-Брілюєна (РМБ)</i>	34
<i>Спектроскопія комбінаційного (Раманівського) розсіяння.....</i>	35
<i>Мікро-раманівська спектроскопія.....</i>	38
<i>Порівняння методів коливальної спектроскопії.</i>	38
<i>Додаток до розділу 4. Раманівські спектри живих клітин.</i>	39

Література

Основна:

1. О.В.Макаренко, В.А.Одарич, Л.В.Поперенко, А.В.Якунов. *Прикладна оптика. Спектральні прилади та методи спектральних вимірювань*. 2013, Пульсар: Київ.
2. М.У.Білий, Б.А.Охріменко, *Атомна фізика*. 2009, Знання, Київ.
3. А.В.Якунов. *Техніка та методи спектральних досліджень: спеціальний фізичний практикум*. 2007, ВПЦ "Київський університет", Київ.

Додаткова

1. В.Лебедева. *Экспериментальная оптика*. 1994, Изд-во МГУ, М.
2. В.Шмидт. *Оптическая спектроскопия для химиков и биологов*. 2007, М.: Техносфера.
3. В.Капустянок, В.Мокрий. *Прикладна спектроскопія*. 2009, Львів, Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка.
4. G.Gaiglitz, D.S.Moore. *Handbook of spectroscopy*. 2014: Wiley-VCH Weinheim, Germany.
5. I.Ionita. *Condensed matter optical spectroscopy: an illustrated introduction*. 2014: CRC Press.
6. Ю.Бёккер. *Спектроскопия*. 2017: Litres.