

Количественный флуоресцентный анализ веществ

Порядок выполнения работы.

Прежде, чем приступать к выполнению практической части работы, следует изучить теорию количественного флуоресцентного анализа, обратив особое внимание на следующие вопросы:

1. Основные характеристики люминесценции.
2. Основные законы люминесценции. Тушение люминесценции.
3. Интенсивность люминесценции.
4. Основные элементы люминесцентных установок.
5. Применение метода люминесценции для качественного и количественного анализа.

Задание 1. Построить калибровочные графики для анализируемых соединений *A* и *B*.

Отформатировано: русский (Россия)

1. Используют образцы вещества с известными концентрациями готовят 6-8 образцов каждого вещества с известными концентрациями. Для этого используют концентрированный раствор с известной концентрацией (stock solution). Необходимые пробы готовят путем разбавления раствора *A* в 60-800 раз и вещества *B* в 40-400 раз.

Удалено: ¶

Отформатировано: По левому краю, Отступ: Первая строка: 1,35 см

Отформатировано: русский (Россия)

Пример. Пусть имеется концентрированный раствор вещества, концентрация которого равна $2,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Для приготовления раствора, имеющего концентрацию $2,5 \cdot 10^{-6}$ в пробирку, содержащую 2,5 мл растворителя добавляют 25 мкл концентрата stock solution.

Удалено: ⁵

Таким образом, концентрация приготовленного раствора будет равна $C = \frac{C_0}{n}$, где C_0 - концентрация stock solution, n - кратность разведения. Кратность разведения равна отношению добавляемого объема stock solution ΔV к общему объему полученного раствора ($\Delta V + V$):

$$n = \frac{\Delta V_0 + V}{\Delta V_0} = 1 + \frac{V}{\Delta V_0}.$$

Если $V \gg \Delta V$ (в нашем примере $V / \Delta V = 100$), то для определения кратности разведения можно пользоваться приближенной формулой:

$$n \approx \frac{V}{\Delta V_0}, \text{ где } V - \text{объем взятого растворителя.}$$

Для приготовления проб известной концентрацией на штативе располагают необходимое количество пробирок (6-8), в которые вначале добавляют по 2 мл растворителя.

Удобнее всего добавлять stock solution в пробирки с растворителем одинаковыми порциями, увеличивая содержание вещества в целое число раз (например, в 2, 3, 4 и т.д.).

2. Для набора веществ с известными концентрациями измеряют спектры флуоресценции при $\lambda_{\text{возб}} = 380$ нм.

3. Определяют интенсивность флуоресценции в максимуме каждого спектра.

4. Строят по полученным данным калибровочные графики для вещества A и B .

5. Определить чувствительность флуоресцентного метода по отношению к веществу A и B .

6. Определить концентрацию веществ A и B при их совместном присутствии в растворе.

6.1. Регистрируют спектр флуоресценции бинарной смеси определяемых веществ A и B , используя для возбуждения ту же длину волны, что и при построении калибровочных графиков ($\lambda_{\text{возб}}=380 \text{ нм}$).

6.2. Используя программу для анализа и разложения спектров «Picfit», убедиться, что спектры флуоресценции вещества A и B описываются лог-нормальным распределением. Для этого используют калибровочные спектры флуоресценции для средних концентраций A и B .

Отформатировано: русский (Россия)

Отформатировано: русский (Россия)

6.3. Определяют основные характеристики спектров флуоресценции A и B при их лог-нормальном представлении: положение максимума и полуширину.

Отформатировано: Шрифт: не курсив

6.4. Используя полученные параметры индивидуальных спектров A и B , произвести разложение спектров на две составляющие.

Отформатировано: Шрифт: не курсив

6.5. Используя данные разложения определяют интенсивности отдельных компонент, а затем на основании калибровочных графиков – концентрации анализируемых веществ A и B .

6.6. Вычислить погрешности измерения концентрации флуоресцентным методом.

Удалено: Концентрацию неизвестного раствора следует определять по методу калибровочного графика. Для построения калибровочного графика необходимо воспользоваться данными, полученными при выполнении Задания 1.¶
Определив по графику концентрацию, в

Удалено: .

Удалено: Калибровочный

Удалено: оптической плотности

Требования к отчету.

Отчет по данной работе должен содержать:

1. Калибровочные графики.
2. Таблицу, содержащую используемые концентрации и значения измеренной интенсивности флуоресценции вещества A и B .
3. Значения определяемых величин, записанных с учетом погрешностей измерений.
4. Расчет погрешностей измерений.

Удалено: — Разрыв страницы —
¶
Приложение ¶
Таблица¶
Коэффициенты Стьюдента, $t_{\alpha, n}$
¶
Число испытаний, n ... [1]

Приложение

Таблица

Коэффициенты Стьюдента, t_{np}

Число испытаний, n	Вероятность, P			
	0,5	0,9	0,95	0,99
2	1,60	6,31	12,7	63,7
3	0,82	2,92	4,30	9,92
4	0,77	2,35	3,18	5,94
5	0,74	2,13	2,78	4,60
6	0,73	2,02	2,57	4,03
7	0,72	1,94	2,45	3,71
8	0,71	1,89	2,36	3,50
9	0,71	1,86	2,31	3,36
10	0,70	1,83	2,26	3,25
15	0,69	1,76	2,14	2,98
20	0,69	1,73	2,09	2,86
∞	0,68	1,65	1,96	2,59