

**Институт фундаментального образования
Кафедра естественнонаучных дисциплин
имени профессора В.М. Финкеля**

**Нефелометрическ
ий анализ**

Подготовил: ст. гр. ММ-153,
Овчинников Кирилл Александрович
Руководитель: ст.пр. Зенцова
Светлана Витальевна

Группа в контакте «Живая Химия» :

<http://vk.com/sibsiukoax>

Сайт кафедры:

<http://www.sibsiu.ru/koax/>

Термины и определения

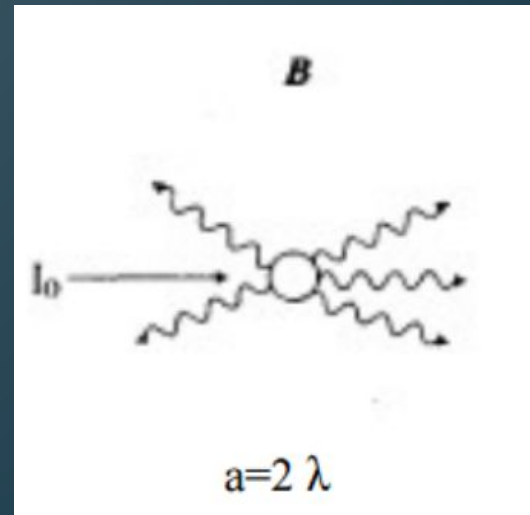
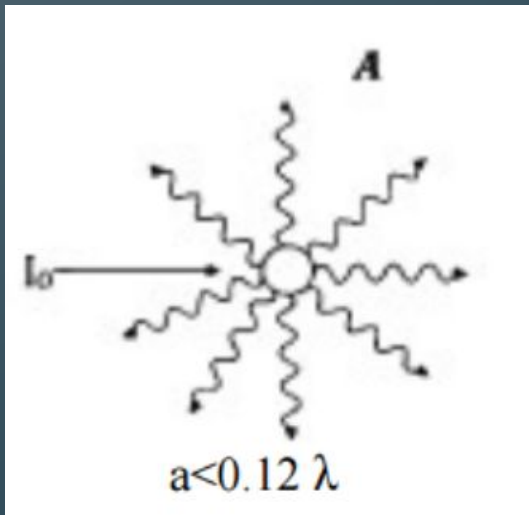
- **Нефелометрический анализ, метод** химического количественного анализа, основанный на измерении интенсивности света, рассеянного дисперсными системами (см. Нефелометрия). Первоначально применялся для анализа некоторых естественно мутных объектов (например, речной воды). Позже для определения концентрации растворённых веществ стали использоваться искусственные суспензии, например, для определения сульфатов в воде получают при помощи BaCl_2 суспензию BaSO_4 , интенсивность светорассеяния которой измеряют в нефелометре, а затем по калибровочному графику находят концентрацию ионов SO_4^{2-} .

Цели и задачи метода

- Метод применяется для определения нефтепродуктов в воде, при анализе фармацевтических, пищевых и др. продуктов. Нефелометрический анализ пригоден для определения веществ в области концентраций 10^{-5} — 10^{-4} % с точностью около $\pm 5\%$. Для нефелометрического анализа используются специальные приборы — нефелометры, в которых на окуляр попадает рассеянный свет, направленный под углом 90° к пучку падающего света.
- Кроме того, в фотоэлектрических колориметрах (например, ФЭК-Н-57, ФЭК-56-2) предусмотрены приспособления для использования их как

Классификация, структура метода

- Можно выделить два наиболее значимых случая рассеяния света (на рисунке) Рэлеевское или симметричное (случай А) рассеяние имеет место, когда размер частиц не превышает 0,1 от длины волны λ .



Классификация, структура метода

- Классификация фотометрических методов
- 1. Классификация по спектральным характеристикам оптического излучения:
 - а) Фотометрические – методы, применяющие для исследования световой поток с широким диапазоном длин волн.
 - б) Спектрофотометрические – методы, использующие световой поток с узким диапазоном длин волн ($\Delta\lambda < 10$ нм).
- 2. Классификация по виду взаимодействия вещества с излучением:
 - а) Абсорбционная фотометрия – методы изучающие поглощение светового потока при его прохождении через биообъект.
 - б) Нефелометрия – методы изучающие рассеивание света в объекте.
 - в) Турбидиметрия – метод анализа мутных сред, основанный на измерении интенсивности света прошедшего через исследуемый объект.
 - г) Рефлектометрия – метод анализа основанный на измерении интенсивности света отраженного от исследуемого объекта.
 - д) Эмиссионная фотометрия – методы, изучающие излучение света веществом.
 - е) Люминисцентная фотометрия – методы, изучающие собственное свечение вещества при его возбуждении различными способами.
- 3. Классификация методов по объектам исследования:
 - а) Методы исследования биопробы и жидкости (аналитические)
 - б) Методы, предназначенные для исследования организма.

Основные законы метода

- Интенсивность рассеянного света подчиняется закону Рэлея

$$I_p = k^1 \cdot I_0 \cdot \frac{V^2 \cdot C}{d \cdot \lambda^4} \cdot \left(\frac{n_1^2 - n_2^2}{n_1^2 - 2n_2^2} \right)^2,$$

где I_p - интенсивность рассеянного света;

k^1 - коэффициент пропорциональности;

I_0 - интенсивность падающего света;

V - средний объем коллоидных частиц;

C - концентрация коллоидных частиц в растворе;

d - плотность вещества, из которого состоит частица;

λ - длина волны падающего света;

n_1 - показатель преломления вещества, из которого состоят частицы;

n_2 - показатель преломления растворителя.

Оборудование, приборы, реактивы метода

- Аппаратура для нефелометрических исследований представляет собой специализированные спектрофотометры для измерения интенсивности рассеянного света под углом к направлению падающего на раствор светового потока.
- Приборы, предназначенные для нефелометрических исследований, называются нефелометрами. Длины волн, используемые в большинстве нефелометров, находятся в диапазоне 340—650 нм.

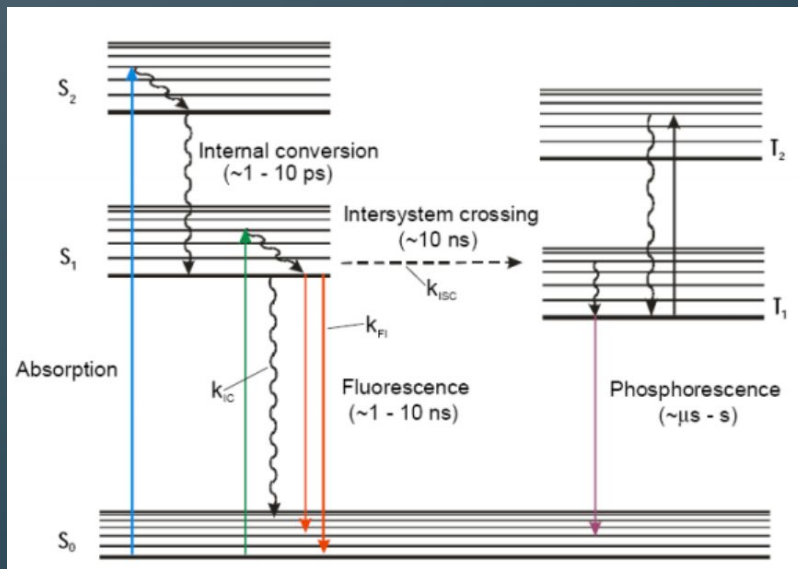


Схема энергетических переходов в молекуле при возникновении люминесценции.

Определение предельно низких значений

- 1. Измерительные ячейки должны быть тщательнейшим образом очищены.
- 2. Ячейки должны быть помечены.
- 3. Удаление пузырьков.
- Микропузырьки могут быть источниками положительных ошибок при определении мутности. Лучший способ избавиться от них это дать образцу выстоять несколько минут, чтобы пузырьки всплыли. Если образец необходимо перемешать – аккуратно медленно переверните несколько раз. Это позволит перемешать образец, но не внести в него пузырьки воздуха, которые скажутся на измерениях.

Определение предельно низких значений

- 4. Хранить ячейки отполированными.
- 5. По возможности, использовать только одну ячейку.
- Идеально чистую ячейку желательно использовать для работы со всеми образцами. При установке ячейки в одинаковой ориентации влияние самой ячейки исключается, и можно точно сравнивать мутность различных образцов. Если необходимо несколько ячеек, следует ввести поправки. Для получения поправок используйте лучшую ячейку. Сохраняйте ее для работы с образцами самой низкой мутности.

Определение больших значений мутности

- При определении сверхвысокой мутности измерительная ячейка сильно влияет на точность. Ячейка не является идеально круглой, а толщина стенки непостоянна. Эти два фактора оказывают значительное влияние на определение мутности и особенно на определение по обратному рассеянию. Чтобы уменьшить влияние ячейки, необходимо выполнять несколько измерений при различной ориентации ячейки. Рекомендуются положения 0, 90, 180 и 270 градусов относительно метки. Измерения необходимо выполнять, используя одинаковую методику подготовки пробы. Измерения следует проводить через одинаковые интервалы времени после перемешивания пробы, чтобы достичь максимальной воспроизводимости измерений. Полученные значения необходимо усреднять, и принимать за истинное значение усредненную величину.
- Для определения зависимости между мутностью и различными условиями протекания процесса пробу разбавляют и определяют мутность при каждом разбавлении. Строят график зависимости мутности от разбавления. Наклон аппроксимирующей прямой показывает природу зависимости. Если наклон большой (больше 1), значит соответствие хорошее и потенциальные помехи измерениям минимальны. Если наклон маленький (меньше 0,1), значит существуют помехи, влияющие на измерения. В этом случае образец следует разбавлять до тех пор, пока наклон не начнет возрастать.
- Если же наклон близок к нулю или отрицательный, значит мутность слишком велика, либо помехи слишком сильны. Образец опять же следует разбавить.

Ошибки метода

- Основной вклад в общую погрешность вносят методические погрешности, в которые входят
 - - погрешности отбора пробы (60 %), - переведение пробы в удобную для анализа форму (например, сплавление и растворение),
 - - погрешности операции концентрирования и разделения компонентов (30 %);
 - - погрешности, обусловленные природой химической реакции, взятой в основу методики определения компонента;
 - - инструментальные погрешности или погрешности метода измерения составляют 10 %.

Применение метода

- Нефелометрический анализ может быть использован для определения концентрации антигенов, поскольку при добавлении к ним антител образуются иммунные комплексы, которые рассеивают свет. Нефелометрия позволяет с высокой точностью определить концентрацию белков. Этот метод подходит для определения белков в низкой концентрации, например IgE, уровень которого в сыворотке не превышает 1 мкг /мл. В настоящее время многие лаборатории используют нефелометрию как стандартный метод количественного определения иммуноглобулинов.
- Методом нефелометрии также определяют содержание трансферрина для современной диагностики анемий.
- нефелометрический анализ пригоден для определения веществ в области концентраций 10^{-5} - $10^{-4}\%$ с точностью около 5%

Спасибо за внимание!