

# Спектрофлуориметрия

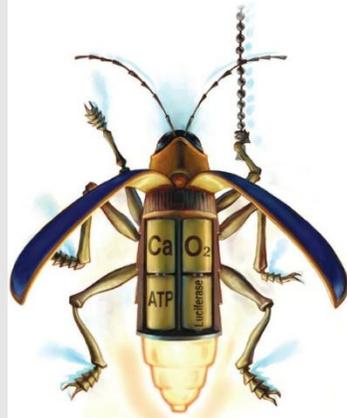


Попова Александра М8113

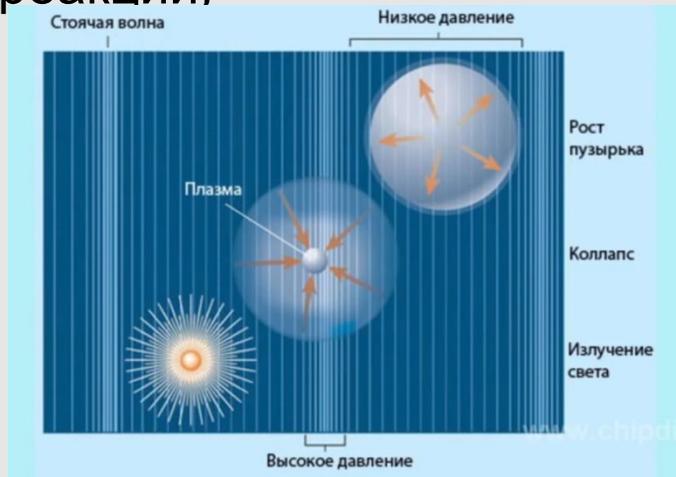
- Флуориметрия (молекулярная эмиссионная спектроскопия) это физико-химический метод исследования растворов и твёрдых веществ, основанный на изучении спектров излучения молекул в ультрафиолетовой (200-400 нм), видимой (400-760 нм) и инфракрасной (>760 нм) областях спектра которое возникает при облучении вещества светом с определенной длиной волны или в результате химической реакции.

Излучение, возбуждаемое каким-либо источником энергии и не обусловленное нагреванием веществ, продолжающееся в течение времени, значительно превышающего период световых колебаний, называют люминесценцией.

В зависимости от способа возбуждения люминофора различают:



**хемилюминесценция** – свечение вещества, возникающее под действием энергии химических реакций;



**сонолюминесценция** – свечение вещества, возникающее под действием ультразвука;



**фотолюминесценцию** – свечение вещества, возникающее под действием излучения в УФ и видимой областях спектра;



**радиолюминесценция** –  
свечение вещества в  
результате возбуждения  
ионизирующим излучением;



**электролюминесценция** –  
свечение под действием  
электрического поля.

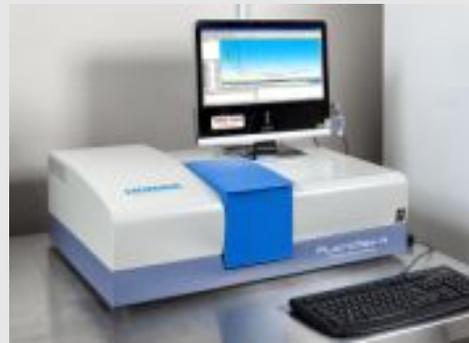
## Флуориметрия и спектрофлуориметрия.

- Под первым методом понимают количественный анализ при фиксированной длине волны возбуждающего излучения.
- Второй метод предполагает сканирование как по длине волны возбуждения, так и по длине волны флуоресценции.

Среди приборов также выделяют **флуориметры** (приборы, которые на канале возбуждения и/или флуоресценции имеют простой светофильтр)



**спектрофлуориметры** (приборы со сканирующими монохроматорами в обоих каналах).



# Общая схема спектрофлуориметра

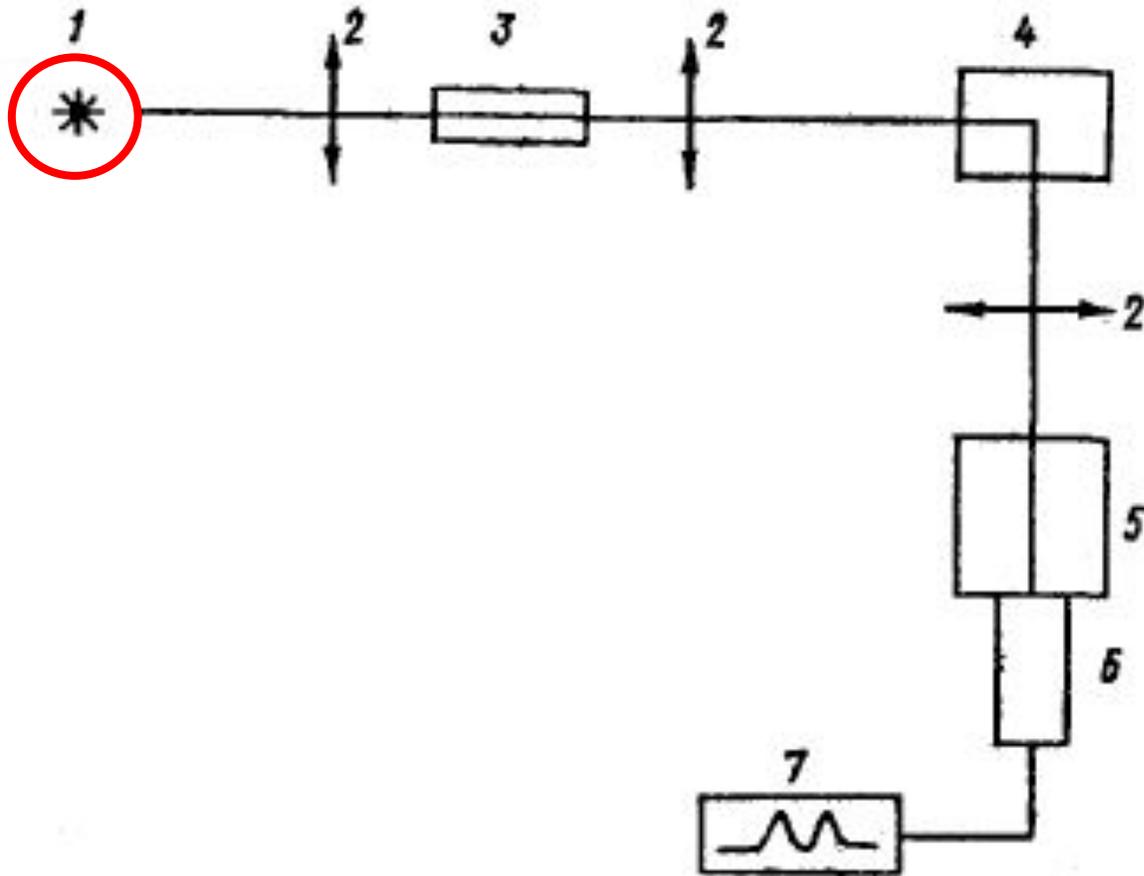


Рис. 3.6. Схема установки для измерения люминесценции: 1 — источник облучения; 2 — линзы; 3 — монохроматор возбуждения; 4 — кювета с исследуемым веществом; 5 — монохроматор испускаемого света; 6 — фотоумножитель, 7 — записывающее устройство

## Три типа образцов:

- а) разбавленные растворы или газы, для которых поглощение возбуждающего света мало для всех исследуемых длин волн; стеклообразные замороженные растворы;
- б) концентрированные растворы;
- в) непрозрачные твердые тела и кристаллические или замороженные при низкой температуре растекавшиеся растворы, непрозрачные жидкие растворы.

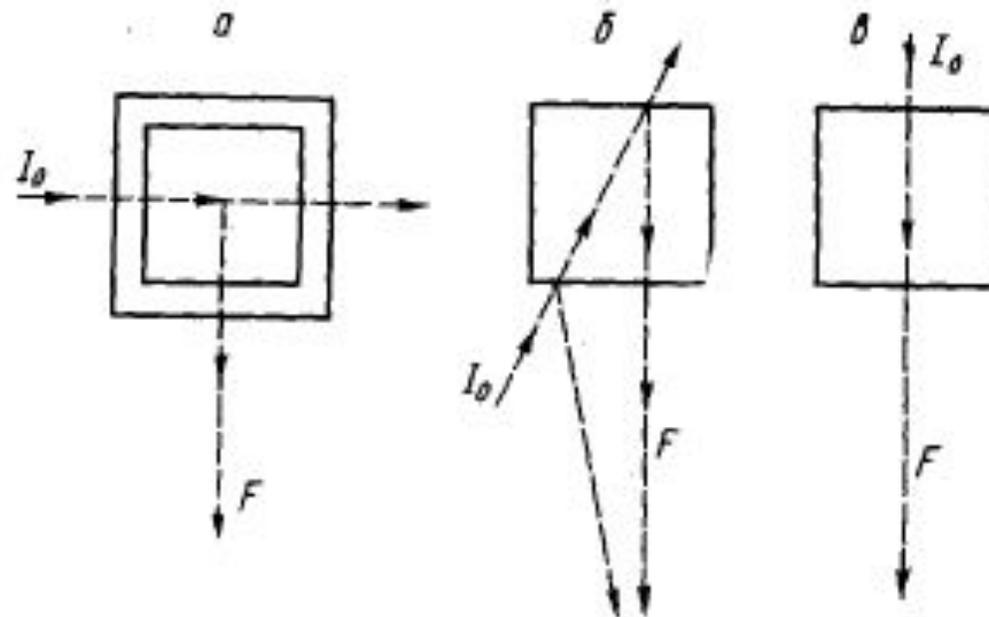


Рис. 3.7. Методы освещения и регистрации люминесценции: а — освещение под прямым углом; б — фронтальное освещение; в — освещение в линию

# Общая схема спектрофлуориметра

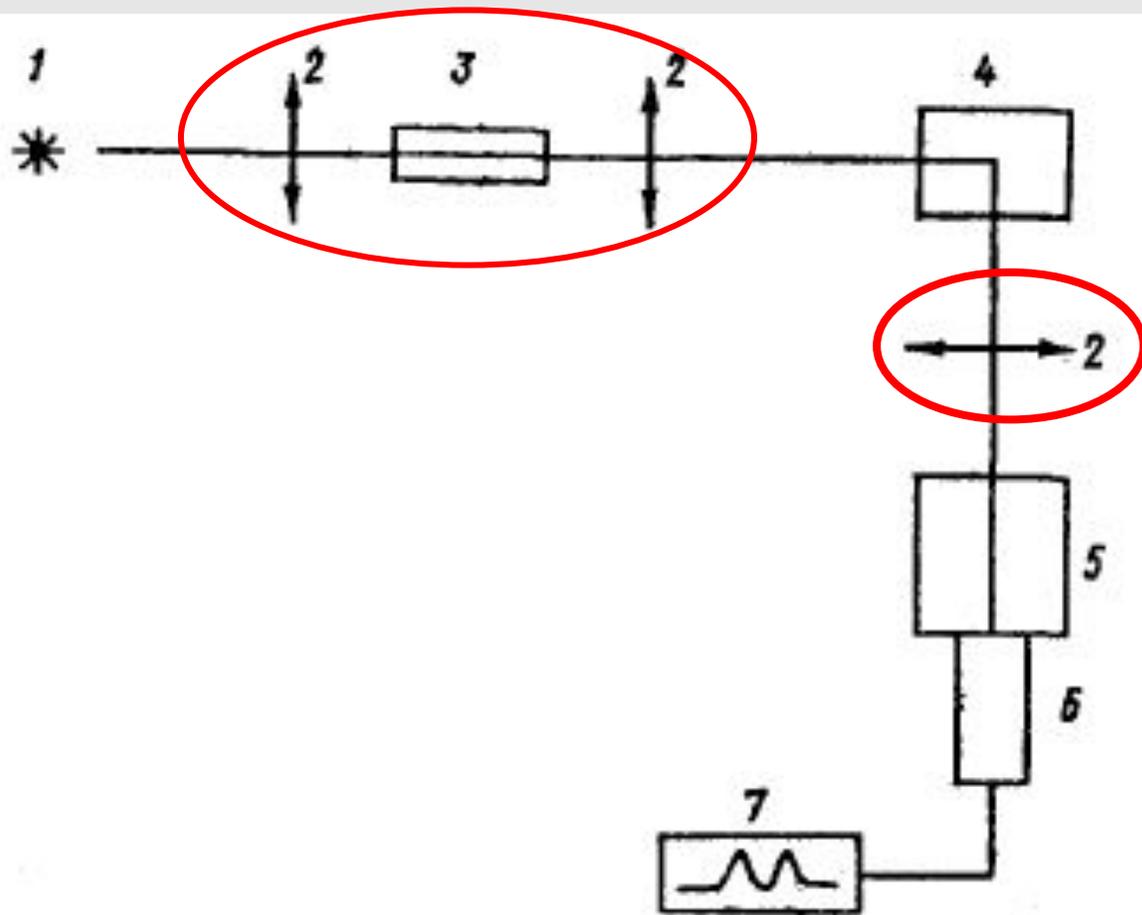


Рис. 3.6. Схема установки для измерения люминесценции: 1 — источник облучения; 2 — линзы; 3 — монохроматор возбуждения; 4 — кювета с исследуемым веществом; 5 — монохроматор испускаемого света; 6 — фотоумножитель, 7 — записывающее устройство

# • Монохроматор

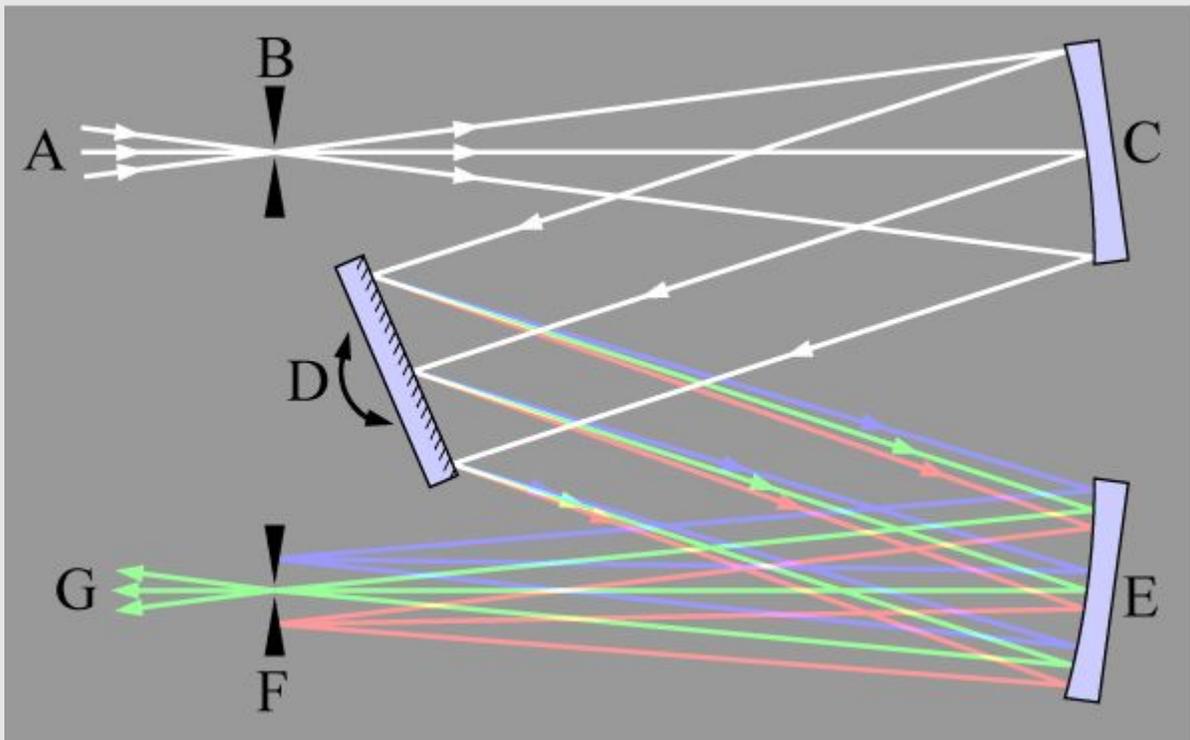


Схема монохроматора Черни-Тёрнера

$$\Delta\lambda = S/D_t,$$

где  $D_t$  — линейная дисперсия прибора, постоянная для данного прибора. При определении формы полосы люминесценции спектральная ширина щели должна быть в 5—7 раз меньше полуширины измеряемой спектральной полосы. Обычно  $\Delta\lambda$  достигает 5—10 нм. Для исследования структуры спектра и определения точного положения максимума  $\Delta\lambda$  должна быть уменьшена до 1—2 нм (а иногда и до нескольких десятых нанометра).

Формула для расчета размера щели

# Общая схема спектрофлуориметра

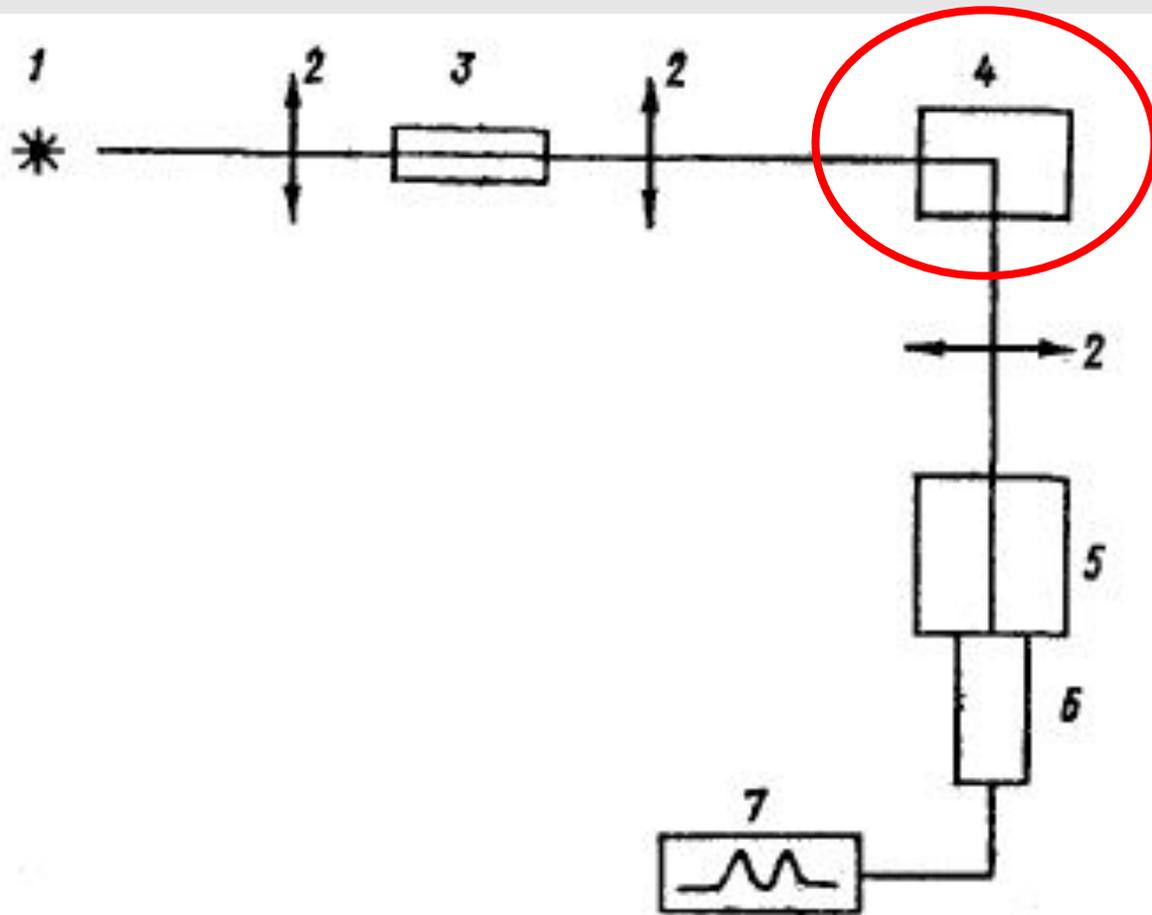
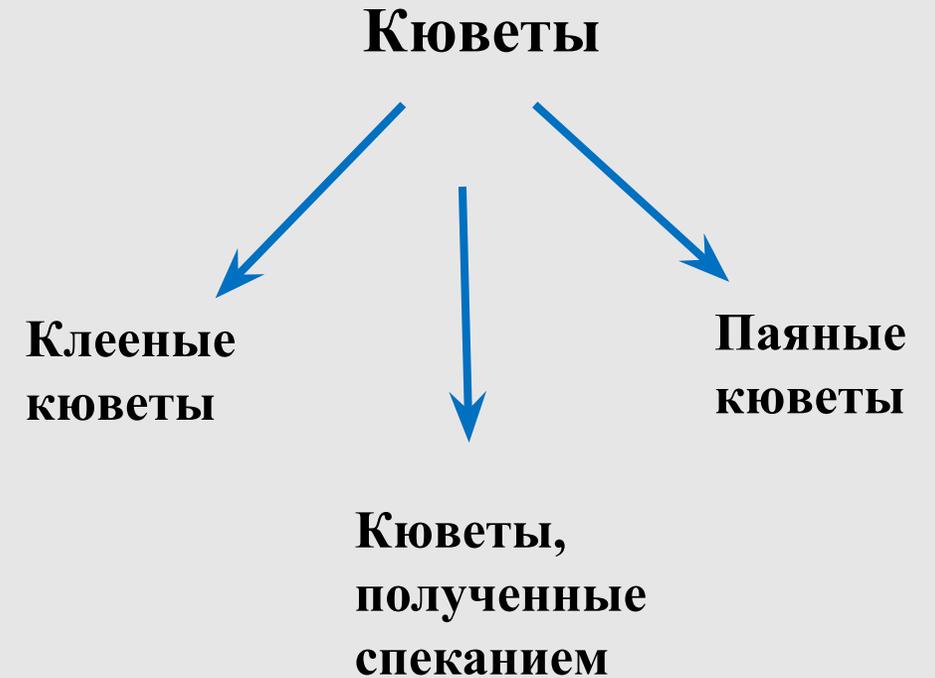


Рис. 3.6. Схема установки для измерения люминесценции: 1 — источник облучения; 2 — линзы; 3 — монохроматор возбуждения; 4 — кювета с исследуемым веществом; 5 — монохроматор испускаемого света; 6 — фотоумножитель, 7 — записывающее устройство



# Общая схема спектрофлуориметра

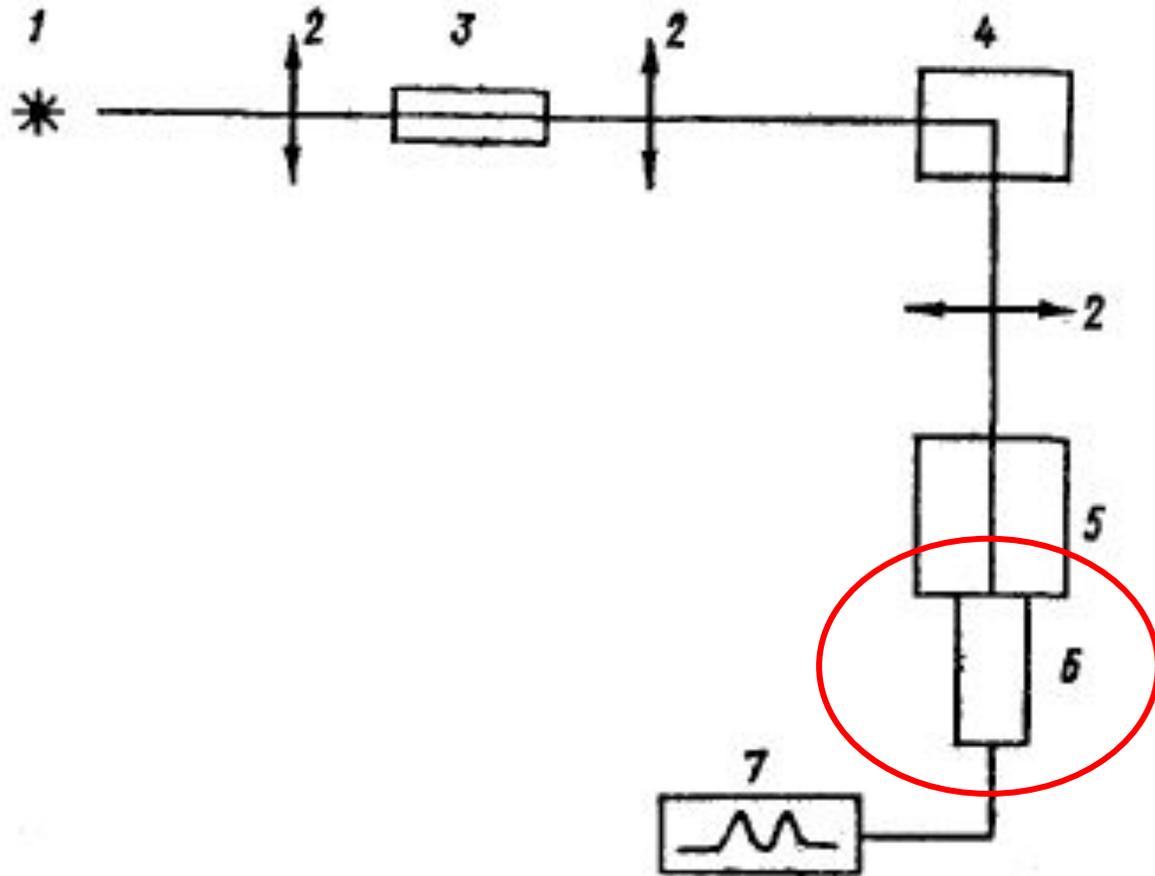


Рис. 3.6. Схема установки для измерения люминесценции: 1 — источник облучения; 2 — линзы; 3 — монохроматор возбуждения; 4 — кювета с исследуемым веществом; 5 — монохроматор испускаемого света; 6 — фотоумножитель, 7 — записывающее устройство



Фотоумножитель

# Общая схема спектрофлуориметра

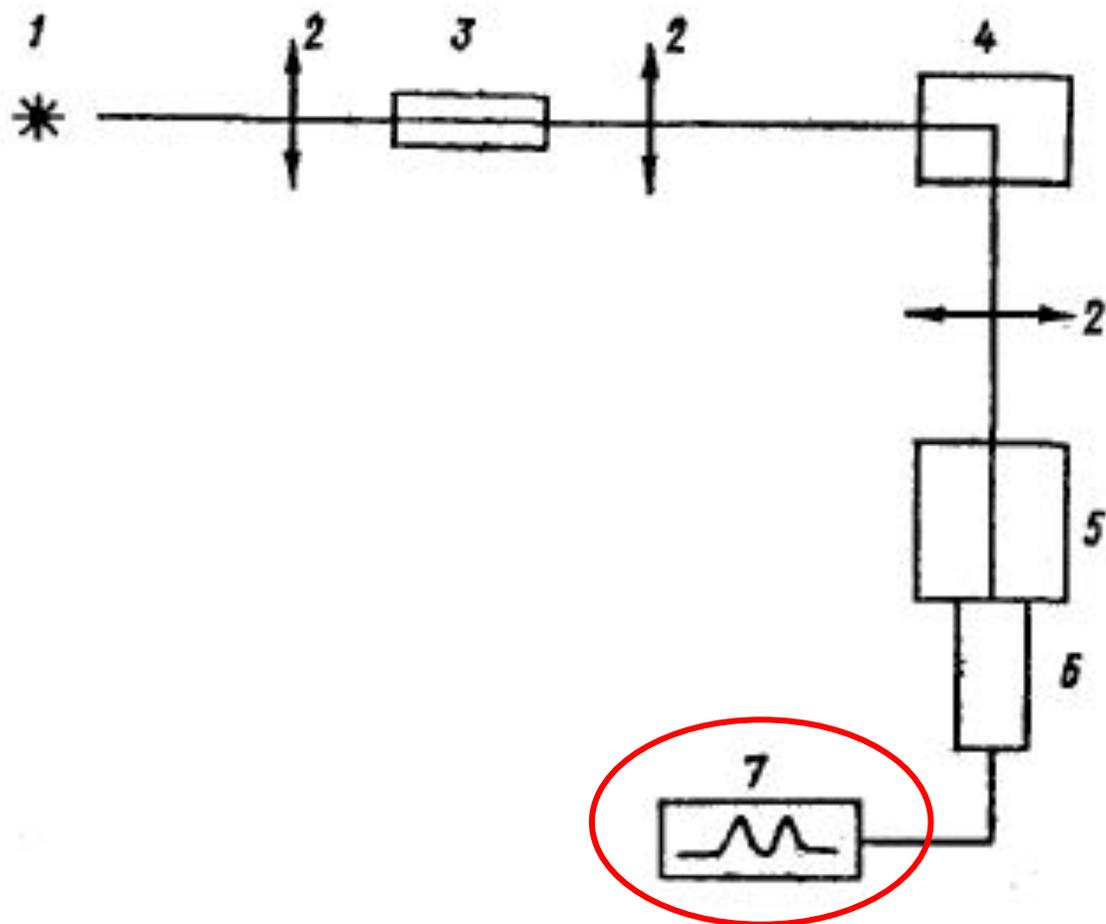
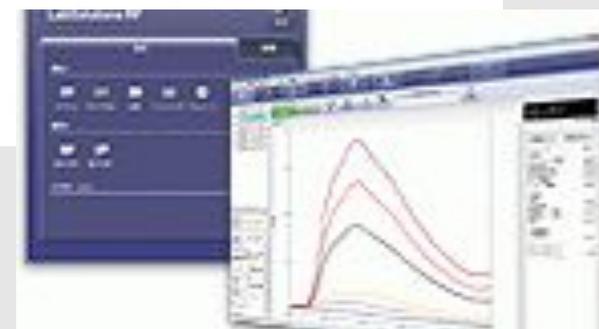


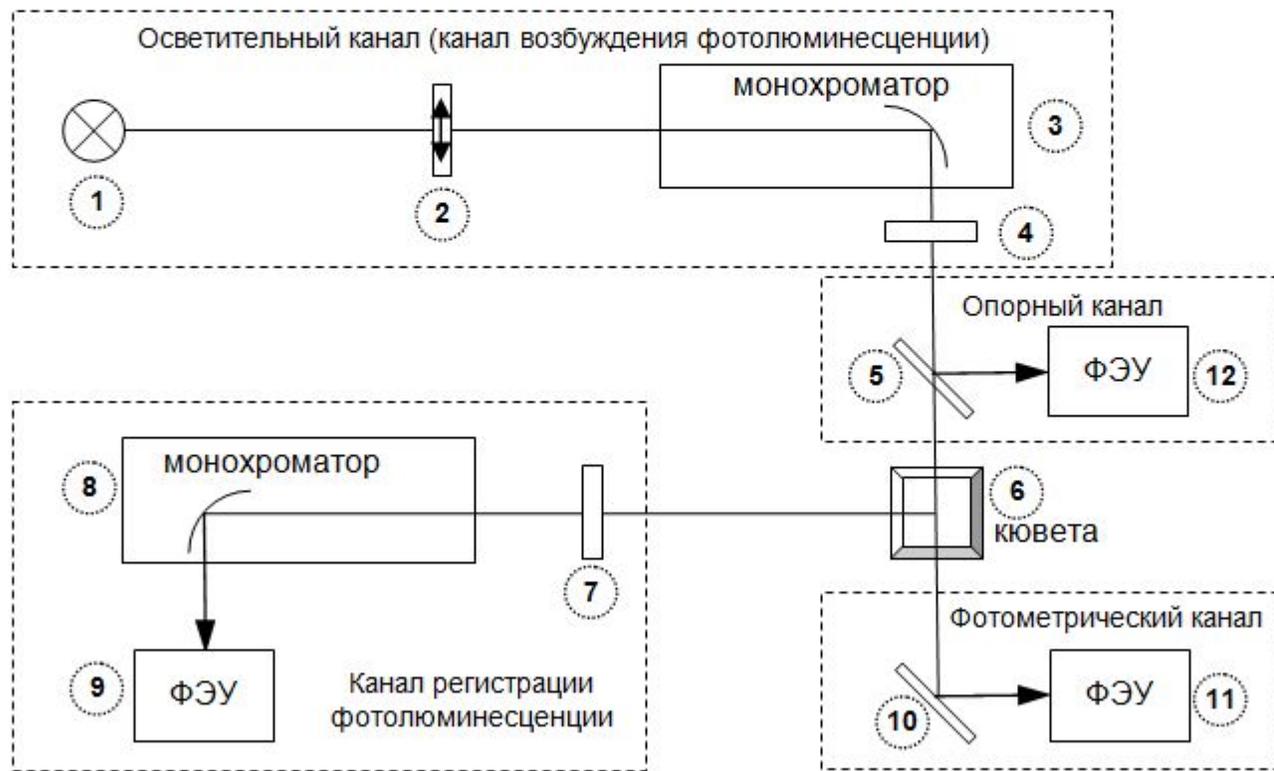
Рис. 3.6. Схема установки для измерения люминесценции: 1 — источник облучения; 2 — линзы; 3 — монохроматор возбуждения; 4 — кювета с исследуемым веществом; 5 — монохроматор испускаемого света; 6 — фотоумножитель, 7 — записывающее устройство



# Спектрофлуориметрия: практические аспекты

- Чувствительность фотоприемников зависит от длины волны света. Для получения истинного спектра флуоресценции измеренные зависимости интенсивности от длины волны должны быть исправлены с учетом спектральной чувствительности фотоприемника.
- Интенсивность возбуждающего света также зависит от длины волны. Для получения истинного спектра возбуждения флуоресценции прибор должен иметь канал сравнения, в который помещают вещество, играющее роль счетчика фотонов.
- Эффект внутреннего фильтра. Если оптическая плотность исследуемого образца мала ( $< 0.1$ ), то интенсивность флуоресценции примерно одинакова в любой точке вдоль пути возбуждающего света через образец.
- Вторичное поглощение. Еще один эффект, который может приводить к ошибкам измерения флуоресценции – вторичное поглощение (реабсорбция). Эффект реабсорбции возникает, если спектры поглощения и флуоресценции перекрываются и оптическая плотность образца в области перекрывания значительна.

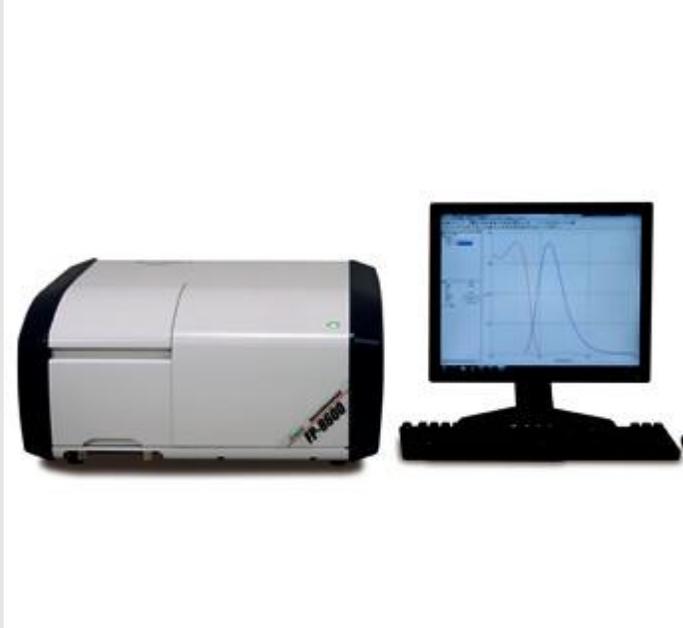
# Устройство спектрофлуориметра Флюорат-02-Панорама



1 - ксеноновая лампа;  
2 - отсекающее устройство;  
3, 8 - монохроматоры;  
4, 7 - светофильтры;  
5, 10 - светоделители;

6 - кювета;  
9 - фотоэлектронный умножитель;  
11 - ФЭУ фотометрического канала;  
12 - ФЭУ опорного канала

Программа Panorama Pro



**Спектрофлуориметр FP-8600** - это прибор исследовательского класса, работающий в ближнем ИК диапазоне для изучения новых материалов, таких как углеродные нанотрубки, красителей, флуоресцирующих в БИК области спектра, повышающих флуоресцентных стекол



**Спектрофлуориметр DeltaFlex**



**Спектрофлуориметр QuantaMaster**



**Cary Eclipse** разрабатывался как спектрофлуориметр широкого профиля для проведения исследовательских работ и рутинных измерений, обладающий максимальной чувствительностью, скоростью и мощным пакетом программного обеспечения, превосходящим все современные аналоги.

## Применение в различных областях

### Фармацевтика

Компонентный анализ пробы  
Контроль качества  
препарата или субстанции

### Направление Life Sciences

Спектральные  
свойства  
флуоресцентных  
проб

### Экология

Оценка загрязнений рек и почв

### Химия

Исследование механизма  
фотосинтеза  
Анализ кумарина  
в дизельных маслах

### Пищевая промышленность

Количественное  
определение добавок  
Контроль качества упаковки

### Электроника

Спектральные свойства  
флуоресцентных материалов  
Измерение квантового выхода  
и квантовой эффективности  
Анализ светодиодов,  
солнечных батарей и т.д.



### Судебная экспертиза



### Технолог ия

УДК 543.422: 54.412.2

## ВОЗМОЖНОСТИ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА «ФЛЮОРАТ-02-ПАНОРАМА» В АНАЛИЗЕ СМЕСИ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Е.М. Басова\*, В.М. Иванов, О.К. Апендеева\*

(кафедра аналитической химии; e-mail: sandro@analyt.chem.msu.ru)

Изучены спектры возбуждения и флуоресценции красителей, которые можно использовать для индикаторных исследований при разработке нефтяных месторождений (уранин, эозин, родамин С, родамин 6Ж и аминок-Г-кислота), на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» в разных режимах сканирования при разных значениях pH. Найдены оптимальные условия для одновременного раздельного определения: водные растворы с pH 9,18 (боратный буферный раствор),  $\lambda_{\text{возб}} = 300$  нм (5 красителей) или 490 нм (4 красителя) с регистрацией спектров флуоресценции (режим «по регистрации» с вырезанием части спектра в 480–580 и 500–600 нм соответственно);  $\lambda_{\text{возб}} = 300$  нм и  $\Delta\lambda = 25$  нм с регистрацией спектров в интервале 300–680 нм в режиме синхронного сканирования (4 красителя). Предложен алгоритм обработки спектров для разных способов регистрации. Концентрации красителей в смеси рассчитывали с помощью программного обеспечения прибора «Рапогата рго. Версия 2.1.0». Показана возможность одновременного раздельного определения в смеси от 2 до 5 красителей.

**Ключевые слова:** спектрофлуориметрия, режим по регистрации, синхронное сканирование, родаминовые и флуоресцентные красители, аминок-Г-кислота, водные растворы.

В настоящее время для исследования неоднородности пласта и контроля процесса вытеснения нефти нагнетаемой водой все нефтедобывающие компании используют индикаторные методы [1]. Поскольку при

в тепловых сетях, измерения горизонтального массопереноса и смешивания в гиполимнионе [2, 3]. В ООО «Люмэкс» разработана методика определения флуоресцеина в щелочных растворах по измерению



- **Преимущества и недостатки флуориметрии по сравнению со спектрофотометрией.**

- + В флуориметрах используется сравнительно простая электроника.

- + Спектрофлуориметрические методы обладают высокой чувствительностью и позволяют работать с крайне малыми концентрациями вещества

- + Чувствительность флуориметров легко менять в широком диапазоне, усиливая ток фотоумножителя.

- + Спектрофлуориметры обладают хорошей спектральной селективностью, поскольку благодаря стоксовому сдвигу можно использовать два монохроматора — один настроенный на длину волны возбуждающего света, а другой — на длину волны флуоресценции.

- Основная трудность, возникающая при флуориметрических измерениях, — это тушение флуоресценции, когда энергия возбуждения молекул переходит не в световую, а в тепловую энергию их движения.



**Спектрофотометр**



**Сканирующий спектрофлуориметр**

# Список литературы:

- <http://chem.msu.su/rus/vmgu/145/281.pdf> - ВОЗМОЖНОСТИ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА «ФЛЮОРАТ-02-ПАНОРАМА» В АНАЛИЗЕ СМЕСИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ Е.М. Басова\*, В.М. Иванов, О.К. Апендеева\*
- [http://referatwork.ru/category/obrazovanie/view/597138\\_spektrofluorimetry](http://referatwork.ru/category/obrazovanie/view/597138_spektrofluorimetry) - Спектрофлуориметрия: практические аспекты
- [Эмануэль Н.М., Кузьмин М.Г. Экспериментальные методы химической кинетики](#)
- <http://www.lumex.ru/catalog/flyuorat-02-panorama.php> - Анализатор жидкости «ФЛЮОРАТ®-02-ПАНОРАМА»
- <http://www.agilent.com/en-us/products/fluorescence/fluorescence-systems/cary-eclipse-fluorescence-spectrophotometer> - Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer
- <https://studfiles.net/preview/4372705/page:2/> - Спектрофлуориметры
- <https://megalektsii.ru/s16446t6.html> - Спектрофлуориметрия.
- <https://lektsia.com/7x482a.html> - Спектрофотометрия

## Перевод клиенту Сбербанка



На этой странице Вы можете посмотреть статус платежа. Также отследить ход выполнения операции можно в «Истории операций».



Статус платежа: **✓ Исполнен**

Номер документа: **420252**

Дата документа: **30.11.2017**

### Получатель

Номер карты получателя: **\*\*\*\* 1676**

ФИО: **ОЛЬГА ДМИТРИЕВНА М.**

### Перевод

Счет списания: **\*\*\*\* 7271 [Visa Classic] руб.**

Сумма списания: **495,00 руб.**

Комиссия: **0,00 руб.**

Приморское отделение №8635  
БИК: 040813608  
Корр. Счет: 30101810600000000608  
**Исполнено**  
30.11.2017

[Печать чека](#)

[Спасибо от Сбербанка](#)

- ▶ [Мои финансы](#)
- ▶ [Избранное](#)
- ▶ [Мои шаблоны](#)
- ▶ [Мои автоплатежи](#)

Мобильный банк и Мобильные приложения переехали на страницу Вашего профиля

### Помощь

[Часто задаваемые вопросы](#)



Поиск штрафов



Госуслуги



Кредит  
другого банка