

Министерство образования Республики Беларусь
Учреждение образования «Витебский государственный
университет имени П.М. Машерова»
Кафедра химии

О.М. Балаева-Тихомирова, Е.А. Гусакова

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ
СИСТЕМ И ЛАБОРАТОРНЫЙ
МОНИТОРИНГ**

Методические рекомендации

*Витебск
ВГУ имени П.М. Машерова
2017*

УДК 577.1(076.5)
ББК 2.072я73
Б20

Печатается по решению научно-методического совета учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова». Протокол № 5 от 19.06.2017 г.

Авторы: заведующий кафедрой химии ВГУ имени П.М. Машерова, кандидат биологических наук, доцент **О.М. Балаева-Тихомирова**; доцент кафедры общей и физколлоидной химии УО «ВГМУ», кандидат биологических наук **Е.А. Гусакова**

Рецензент:
профессор кафедры химии ВГУ имени П.М. Машерова, доктор биологических наук,
профессор *А.А. Чиркин*

Балаева-Тихомирова, О.М.

Б20 Физико-химические методы исследования физиологических процессов биологических систем и лабораторный мониторинг : методические рекомендации / О.М. Балаева-Тихомирова, Е.А. Гусакова. – Витебск : ВГУ имени П.М. Машерова, 2017. – 50 с.

Методические рекомендации к выполнению самостоятельных работ подготовлены в соответствии с учебной программой по дисциплине «Физико-химические методы анализа и лабораторный мониторинг» для студентов биологического факультета специальности 1-33 01 01 «Биоэкология»

УДК 577.1(076.5)
ББК 2.072я73

© Балаева-Тихомирова О.М., Гусакова Е.А., 2017
© ВГУ имени П.М. Машерова, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Тема 1. Основные понятия физико-химических методов анализа ...	5
Тема 2. Абсорбционные спектрометрические методы анализа	11
Тема 3. Эмиссионные спектрометрические методы анализа	17
Тема 4. Гибридные методы анализа. ЯМР-спектроскопия. Масс-спектрометрия. Иммунохимические методы анализа	22
Тема 5. Электрохимические методы анализа	28
Тема 6. Хроматографические методы анализа	33
Тема 7. Основные принципы проведения лабораторного мониторинга	40
Тема 8. Влияние различных факторов окружающей среды на устойчивость организмов	46

ВВЕДЕНИЕ

Методические рекомендации к выполнению самостоятельных работ «Физико-химические методы исследования физиологических процессов биологических систем и лабораторный мониторинг» предназначены для студентов биологического факультета специальности 1-33 01 01 «Биоэкология».

Для повышения качества образования и углубленного изучения тем, на которые аудиторные часы не выделены или выделены в не достаточном объеме по дисциплине «Физико-химические методы исследования и лабораторный мониторинг» были разработаны данные методические рекомендации. Структура издания построена согласно учебной программе и учебному плану по дисциплине.

Методические рекомендации включают 8 тем, которые состоят из четырех частей: теоретические задания, тестовые задания, расчетные задачи и вопросы для самоподготовки. Теоретические задания включают в себя вопросы по основным понятиям рассматриваемой темы, принципам метода, строению приборов, способам получения, фиксирования и расчета аналитического сигнала, областей применения метода. Тестовые задания состоят из 15 вопросов для закрепления материала, рассмотренного в теоретической части. Раздел расчетные задачи включает 3 части: алгоритм решения типовых задач, расчетная задача и задачи для самостоятельного решения. Вопросы для самоподготовки содержат основные вопросы темы, требующие дополнительного изучения для лучшего усвоения материала.

Методические рекомендации рассматриваются основные темы дисциплины: основные понятия физико-химических методов анализа, основные принципы абсорбционных и эмиссионных спектрометрических методы анализа, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрографии, ИХМА, электрохимических методов анализа, хроматографических методов анализа, основные принципы лабораторного мониторинга и влияние различных факторов окружающей среды на устойчивость организмов.

В результате работы с методическими рекомендациями, студент должен научиться выполнять теоретические задания по основным вопросам курса, решать типовые задачи по алгоритму и самостоятельно, закреплять полученные знания на занятиях с помощью тестов.

ТЕМА 1. Основные понятия физико-химических методов анализа

Цель: изучить основные понятия физико-химических методов анализа; сформировать целостное представление о значении физико-химических методов анализа для экологического мониторинга окружающей среды.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Принцип анализа _____

Метод анализа _____

Методика анализа _____

Химические методы _____

Физические методы _____

Биологические методы _____

Физико-химические методы _____

Аналитический сигнал _____

Полезный сигнал _____

Сигнал фона _____

Единичное определение _____

Параллельные определения _____

Эталонные методы _____

Безэталонные методы _____

Стандартные образцы _____

Стандартные вещества _____

2. Укажите методы расчета концентрации вещества по величине аналитического сигнала: _____

3. Опишите, на чем основан метод градуировочного графика:

4. Опишите сущность метода стандартов:

5. Опишите сущность метода добавок:

6. Охарактеризуйте понятия неопределенность и погрешности измерений:

7. Укажите, основные методы математической статистики, используемые в аналитической химии:

8. Охарактеризуйте основные характеристики методики анализа: воспроизводимость, правильность, чувствительность, предел обнаружения, предел определения и границы определяемых содержаний:

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Интенсивность света, выходящего из раствора, в 5 раз меньше интенсивности падающего света. Величина пропускания (%) равна:

а) 2; б) 20; в) 50; г) 10.

2. Согласно основному закону светопоглощения зависимость между оптической плотностью и концентрацией поглощающего вещества:
- а) прямо пропорциональная; б) обратно пропорциональная;
 - в) логарифмическая; г) степенная.
3. Измерения оптической плотности исследуемого раствора проводят в кюветах с различной толщиной поглощающего слоя. При какой его величине (мм) оптическая плотность раствора минимальна:
- а) 5; б) 10; в) 20; г) 50.
4. Удельный коэффициент поглощения вещества равен 1000, молярная масса – 500 г/моль. Величина молярного показателя поглощения данного вещества составляет: а) 1000; б) 50000; в) 8000; г) 20000.
5. Отклонения от основного закона светопоглощения, обусловленные различием показателей преломления исследуемого раствора и растворителя, называются:
- а) истинными; б) кажущимися; в) инструментальными; г) химическими.
6. Источником излучения в приборе для атомно-эмиссионной спектроскопии является: а) дейтериевая лампа; б) лампа накаливания; в) лампа с полым катодом; г) возбуждённые атомы определяемого элемента.
7. В атомно-эмиссионной спектроскопии не используется атомизатор:
- а) пламенный; б) электротермический; в) дуговой; г) искровой.
8. Прибор для атомно-эмиссионной спектроскопии, в котором используется фотохимическое детектирование, называется:
- а) спектроскоп; б) фотометр; в) спектрофотометр; г) спектрограф.
9. В атомизаторе с индуктивно связанной плазмой используется газ:
- а) аргон; б) водород; в) ацетилен; г) метан.
10. Метод атомно-эмиссионной спектроскопии используется:
- а) только в качественном анализе; б) только для количественного определения веществ; в) как для идентификации, так и для количественного определения; г) в структурном анализе.
11. Является гибридным методом анализа:
- а) гравиметрия; б) экстракционная фотометрия;
 - в) вольтамперометрия; г) атомно-абсорбционная спектроскопия.
12. Является безэталоным методом анализа:
- а) атомно-эмиссионная спектроскопия; б) кулонометрия;
 - в) потенциометрическое титрование; г) ИК-спектроскопия.
13. Среднее значение результатов измерения физической величины в заключительной стадии анализа, функционально связанное с содержанием определяемого компонента, называется:
- а) результатом единичного определения; б) результатом анализа;
 - в) аналитическим сигналом; г) сигналом контрольного опыта.
14. С помощью относительного стандартного отклонения характеризуют:
- а) правильность; б) чувствительность;
 - в) селективность; г) воспроизводимость.

15. Сравнение средних значений двух результатов анализа проводят с помощью: а) критерия Стьюдента; б) критерия Фишера; в) Q-критерия; г) относительного стандартного отклонения.

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Расчетные задачи

1. Алгоритм решения типовых задач

Задача. При определении потенциометрическим методом концентрации (мг/дм^3) нитрат-ионов в образце природной воды получены следующие результаты: 5,15; 5,10; 5,12; 4,20; 5,18. 1. Определите, присутствуют ли среди полученных результатов промахи. 2. Рассчитайте среднее значение, дисперсию, стандартное отклонение, стандартное отклонение среднего арифметического, границы доверительного интервала для среднего арифметического ($\alpha = 0,05$) и относительное стандартное отклонение результатов анализа. 3. Сравните воспроизводимость результатов определения нитрат-ионов с результатами, полученными при анализе такого же образца воды другим химиком-аналитиком (среднее значение результата анализа – 5,30 мг/л ; $S^2 = 1,00 \cdot 10^{-2}$; $n = 4$). 4. Сравните средние значения результатов анализа, полученные двумя химиками-аналитиками.

Решение. 1. Для того чтобы определить содержатся ли среди результатов параллельных определений промахи, пользуются Q-критерием. Значение 4,00 заметно отличается от других и может быть промахом. Рассчитаем для него величину Q-критерия:

$$Q = \frac{x_2 - x_1}{x_n - x_1} = \frac{5,10 - 4,20}{5,18 - 4,20} = 0,92. \text{ Для } n = 5 \text{ и } \alpha = 0,05 \text{ } Q_{\text{крит}} = 0,64. \text{ Так как } Q_{\text{эксп}} >$$

$Q_{\text{крит}}$, то результат «4,20» является промахом и его необходимо исключить.

2. При статистической обработке получаем результаты:

выборочное среднее $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{5,15 + 5,10 + 5,12 + 5,18}{4} = 5,14$	дисперсия $S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} = \frac{0,01^2 + (-0,04)^2 + (-0,02)^2 + 0,04^2}{3} = 1,23 \cdot 10^{-3}$
стандартное отклонение $S = \sqrt{S^2} = \sqrt{1,23 \cdot 10^{-3}} = 3,50 \cdot 10^{-2}$	стандартное отклонение выборочного среднего $S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}} = \frac{3,50 \cdot 10^{-2}}{2} = 1,75 \cdot 10^{-2};$
границы доверительного интервала $\Delta \bar{x} = t S_{\bar{x}} = 3,18 \cdot 1,75 \cdot 10^{-2} = 0,06$	относительное стандартное отклонение $S_r = \frac{S}{\bar{x}} = \frac{3,50 \cdot 10^{-2}}{5,14} = 6,81 \cdot 10^{-3};$

Концентрация нитрат-ионов в образце воды равна $(5,14 \pm 0,06)$ мг/л.

3. Для того чтобы сравнить воспроизводимость результатов, полученных двумя химиками-аналитиками, рассчитаем экспериментальное значение F -критерия: $F = \frac{S_2^2}{S_1^2} = \frac{1,00 \cdot 10^{-2}}{1,23 \cdot 10^{-3}} = 8,13$. Критическое значение F -критерия для $\alpha = 0,05$; $f_1 = f_2 = 3$ равно 9,28. Поскольку экспериментальное значение F -критерия меньше критического, то статистически достоверные различия в воспроизводимости результатов, полученных двумя аналитиками, отсутствуют.

4. Рассчитаем величину $t_{\text{эксп}}$. Так как $n_1 = n_2$, то
$$\bar{S}^2 = \frac{S_1^2 + S_2^2}{2} = \frac{1,23 \cdot 10^{-3} + 1,00 \cdot 10^{-2}}{2} = 5,6 \cdot 10^{-3}; \quad t_{\text{эксп}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\bar{S}^2}} \sqrt{\frac{n}{2}} = \frac{|5,14 - 5,30|}{\sqrt{5,6 \cdot 10^{-3}}} \sqrt{\frac{4}{2}} = 3,0.$$

Критическое значение t для $\alpha = 0,05$; $f = 6$ равно 2,45. Поскольку экспериментальное значение t -критерия больше критического, то статистически достоверные различия в средних значениях результатов анализа имеются.

2. Расчётная задача

При определении концентрации (мг/дм³) общего железа в образце воды получены такие результаты: 0,109; 0,120; 0,112; 0,286; 0,115. Рассчитайте среднее значение, дисперсию, стандартное отклонение, стандартное отклонение среднего арифметического, границы доверительного интервала для среднего арифметического ($\alpha = 0,05$) и относительное стандартное отклонение результатов анализа.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. При определении массы (мг) определяемого вещества в пробе с использованием первой методики были получены такие результаты: 5,1,

5,7; 5,3; 5,5; 5,9. В случае анализа такой же пробы с помощью второй методики ($n = 4$) оказалось, что $\bar{m} = 6,2$ мг, $S^2 = 0,15$. Сравните средние значения результатов анализа, полученных с использованием двух методик.

2. При анализе стандартного образца, массовая доля определяемого вещества в котором равна 1,00%, были получены результаты (%): 0,99; 0,96; 0,98; 0,99; 0,96. Соответствует ли средний результат анализа паспортному содержанию вещества в стандартном образце?

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Общая характеристика понятия аналитический сигнал (полезный, сигнал фона, единичное и параллельные определения, эталонные и безэталонные методы, стандартные образцы и вещества).

2. Методы расчета концентрации вещества по величине аналитического сигнала: метод градуировочного графика; метод стандартов; метод добавок.

3. Неопределенность и погрешности измерений.

4. Основные положения математической статистики, используемые в аналитической химии.

5. Основные характеристики методики анализа: воспроизводимость; правильность; предел обнаружения, предел определения и границы определяемых содержаний; чувствительность.

ТЕМА 2. Абсорбционные спектроскопические методы анализа

Цель: изучить принципы абсорбционных спектроскопических методов анализа; в рамках экологического аспекта изучения темы сформировать целостное представление о значении абсорбционных спектрометрических методов анализа для экологического мониторинга окружающей среды.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Спектроскопические методы анализа _____

Электронно-микроскопическое исследование _____

Метод рентгенографии _____

Спектор испускания _____

Спектор поглощения _____

ИК-спектроскопия _____

УФ-спектроскопия _____

Анизотропия _____

2. Укажите, какие возможны сдвиги и эффекты возможны при спектрофотометрии. В чем они заключаются:

3. Охарактеризуйте УФ-спектроскопию как метод анализа (принцип метода, способ получения аналитического сигнала):

4. Охарактеризуйте ИК-спектроскопию как метод (принцип метода, способ получения аналитического сигнала):

5. Дайте общую характеристику абсорбционным спектроскопическим методам анализа:

6. Перечислите и сформулируйте основные законы абсорбционной спектроскопии:

7. Запишите объединенный закон Бугера-Ламберта-Бера, расшифруйте обозначения:

8. Запишите схему строения фотоэлектрокалориметра:

9. Запишите схему строения спектрофотометра:

10. Перечислите основные типы классификации спектроскопических методов анализа:

11. Укажите области практического применения спектрофотометрии:

12. Перечислите основные приемы спектрофотометрического анализа и их классификацию:

13. Укажите основные принципы характеристика ИК-спектров:

14. Укажите области практического применения ИК-спектроскопии:

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Интенсивность света, выходящего из раствора, в 10 раз меньше интенсивности падающего света. Оптическая плотность раствора равна:
а) 0,01; б) 0,1; в) 0,5; г) 1,0.
2. Не является линейной зависимость между оптической плотностью и:
а) концентрацией; б) пропусканием;
в) толщиной поглощающего слоя; г) удельным показателем поглощения.
3. Измерения оптической плотности исследуемого раствора проводят в кюветах с различной толщиной поглощающего слоя. При какой его величине (мм) пропускание раствора максимально:
а) 5; б) 10; в) 20; г) 30.
4. Молярный коэффициент поглощения вещества равен 10000, молярная масса – 200 г/моль. Величина удельного показателя поглощения данного вещества составляет: а) 500; б) 5000; в) 10000; г) 20000.
5. Какие из составных частей спектрофотометра обозначены цифрами 1, 2 и 3: источник излучения – 1 – 2 – 3 – регистрирующее устройство
а) 1 – детектор, 2 – кюветное отделение, 3 – монохроматор;
б) 1 – детектор, 2 – монохроматор, 3 – кюветное отделение;
в) 1 – кюветное отделение, 2 – монохроматор, 3 – детектор;
г) 1 – монохроматор, 2 – кюветное отделение, 3 – детектор.
6. С помощью фотоэлектроколориметра невозможно измерить оптическую плотность раствора: а) бензола в гексане; б) тиоцианатного комплекса железа (III); в) аммиачного комплекса меди; г) метилового оранжевого.
7. В качестве источника видимого излучения в спектрофотометре используют: а) лампу с полым катодом; б) дейтериевую лампу;
в) штифт Нернста; г) лампу накаливания.

8. В качестве детектора спектрофотометр и фотоэлектроколориметр содержат:

а) фотоэлемент; б) фотоумножитель; в) фотопластинку; г) пневмодетектор.

9. Можно использовать в качестве растворителя при спектрофотометрическом определении вещества, поглощающего при длине волны 220 нм: а) воду; б) толуол; в) пиридин; г) хлороформ.

10. Если в спектре поглощения вещества имеются полосы при длинах волн 400–800 нм, то данное вещество:

а) обладает интенсивной флуоресценцией; б) окрашено;

в) может относиться к алканам;

г) не может быть углеводородом.

11. Фотоэлектроколориметр принципиально отличается от спектрофотометра тем, что: а) не имеет источника излучения;

б) имеет набор светофильтров, а спектрофотометр – монохроматор;

в) имеет монохроматор, а спектрофотометр – набор светофильтров;

г) в качестве детектора имеет фотоэлемент.

12. В качестве источника УФ-излучения в спектрофотометре используют:

а) лампу с полым катодом; б) дейтериевую лампу;

в) штифт Нернста;

г) глобар.

13. В спектрофотометрии не используется кювета:

а) стеклянная; б) кварцевая; в) термостатированная; г) электротермическая.

14. Укажите вещество, которое не поглощает электромагнитное излучение с длиной волны больше 200 нм:

а) ацетон; б) бензол; в) хлороформ; г) *n*-гексан.

15. Выберите неверное утверждение. При измерении оптической плотности раствора бензола в гексане при 254 нм: а) раствор помещают в кварцевую кювету; б) в качестве детектора используют фотоэлемент с сурьмяно-цезиевым катодом; в) в качестве источника излучения применяют дейтериевую лампу; г) в качестве монохроматора используется стеклянная призма.

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Расчетные задачи

1. Алгоритм решения типовых задач

Задача. При фотометрическом определении меди в водном растворе в виде аммиачного комплекса были получены такие результаты зависимости оптической плотности раствора от концентрации определяемого вещества (c , мг/50 см³ раствора):

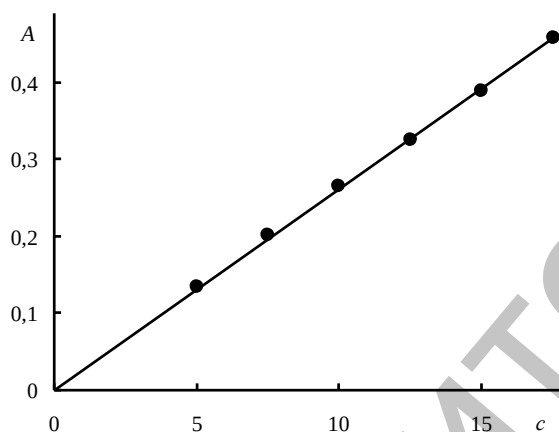
c	5,00	7,50	10,0	12,5	15,0	17,5
A	0,134	0,202	0,268	0,326	0,389	0,458

Постройте градуировочный график зависимости A от c . Рассчитайте уравнение градуировочной зависимости методом наименьших квадратов и определите концентрацию ионов меди в растворе, при анализе которого величина оптической плотности оказалась равной 0,290.

Решение. При использовании метода градуировочного графика готовится серия стандартных растворов с разными концентрациями вещества, которые считаются точно известными. Затем для каждого приготовленного раствора в одинаковых условиях получают соответствующую величину аналитического сигнала. Линейная градуировочная зависимость описывается уравнением (1), если полученная прямая не проходит через начало координат, и (2), если проходит: $y = a + bx$ (1); $y = bx$ (2).

Градуировочная зависимость описывается уравнением:

$$A = 0,0262 c.$$



Уравнения (1) и (2) рассчитывают методом наименьших квадратов: коэффициенты a и b должны быть такими, чтобы сумма квадратов отклонений реальных значений от рассчитанных по полученному уравнению была минимальной. Расчёт параметров градуировочной зависимости можно проводить с помощью электронных таблиц Microsoft Excel или аналогичной компьютерной программы.

Концентрация меди в анализируемом растворе равна:

$$c = \frac{0,290}{0,0262} = 11,1 \text{ мг/50 см}^3.$$

2. Расчётная задача

При фотометрическом определении общего железа по реакции с сульфосалициловой кислотой были получены такие результаты зависимости оптической плотности раствора от массы железа в пробе:

$m, \text{мг}$	0,020	0,050	0,10	0,15	0,20	0,25
A	0,056	0,140	0,275	0,420	0,550	0,700

Постройте градуировочный график зависимости A от m (рассчитайте уравнение градуировочного графика методом наименьших квадратов) и определите массу общего железа в пробе, при анализе которой оптическая плотность оказалась равной 0,440.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Раствор хинина в 0,05 М H_2SO_4 с концентрацией растворённого вещества 0,40 мкг/мл имеет интенсивность флуоресценции 120 ед., а раствор с концентрацией этого вещества 0,60 мкг/см³ – 170 ед. Какая масса (мкг) хинина содержится в 100 мл раствора, который в таких же условиях имеет интенсивность флуоресценции 140 ед?
2. Оптическая плотность раствора с неизвестным содержанием вещества равна 0,400. При добавлении к анализируемому раствору 10,0 мкг этого же вещества оптическая плотность увеличилась до 0,500. Рассчитайте массу определяемого вещества в исходном растворе.

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Общая характеристика абсорбционных спектроскопических методов анализа. Характеристика спектра поглощения. Принцип метода.
2. Основные законы абсорбционной спектроскопии.
3. Классификация абсорбционных спектроскопических методов: методы инфракрасной, ультрафиолетовой спектроскопии. Общая характеристика.
4. Применение абсорбционной спектроскопии. Достоинства и ограничения метода. Приборы, их строение и применение в абсорбционной спектроскопии.
5. Основные приемы в спектрофотометрическом анализе, их классификация.
6. ИК-спектроскопия. Принцип метода. Общая характеристика ИК-спектров. Схема ИК-спектрометра. Аналитического сигнала при ИК-спектроскопии.
7. Практическое применение ИК-спектроскопии. Обнаружение и идентификация веществ методом ИК-спектроскопии

ТЕМА 3. Эмиссионные спектрометрические методы анализа

Цель: изучить теоретические основы эмиссионных спектроскопических методов анализа; рассмотреть ведущие направления использования эмиссионных методов анализа для исследования биологических систем.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Ионизационные буферы _____

Люминесценция _____

Эмиссионные спектры _____

Спектр возбуждения _____

Спектром люминесценции _____

Правило (закон) Стокса _____

Хемилюминесценцией _____

Биохемилюминесценция _____

Флуоресцентными метками _____

Флуоресценцию _____

Фосфоресценцию _____

2. Укажите, основные характеристики линий эмиссионного спектра:

3. Перечислите способы регистрация атомных эмиссионных спектров:

4. Охарактеризуйте метод эмиссионной фотометрии пламени:

5. Запишите схему эмиссионного спектрометра:

6. Запишите уравнение Ломакина–Шайбе и расшифруйте обозначения:

7. Укажите причины отклонения от линейной зависимости $I = aC$:

8. Перечислите основные виды классификации люминесценции:

9. Перечислите основные способы применения люминесценции:

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Вариант атомно-эмиссионной спектроскопии, в котором в качестве излучения используется пламя, называется: а) флуориметрией; б) фосфориметрией; в) люминометрией; г) пламенной фотометрией.

2. Наиболее эффективным атомизатором в атомно-эмиссионной спектроскопии является:

а) пламя; б) искра; в) дуга; г) индуктивно связанная плазма.

3. Квантометр – это прибор для атомно-эмиссионной спектроскопии, в котором используется:

а) фотохимическая детекция; б) фотоэлектрическая детекция;
в) источник излучения, дающий непрерывный спектр; г) кварцевая оптика.

4. Зависимость между аналитическим сигналом и концентрацией определяемого вещества не является линейной в:

а) атомно-абсорбционной спектроскопии; б) УФ-спектрофотометрии;

- в) атомно-эмиссионной спектроскопии; г) рефрактометрии.
5. Только один пик имеет ПМР спектр:
- а) этилового спирта; б) уксусной кислоты; в) хлороформа; г) этилацетата.
6. Показатель преломления воды при 20 °С и длине волны 589 нм равен:
- а) 0,5325; б) 10,33; в) 1,3333; г) 2,0000.
7. Электромагнитное излучение является возбуждающим фактором при:
- а) фотолюминесценции; б) хемилюминесценция;
в) сонолюминесценция; г) биолюминесценция.
8. Вторичный монохроматор при измерении флуоресценции пропускает свет с большей длиной волны, чем первичный. Это следует из:
- а) независимости спектра флуоресценции от длины волны возбуждающего света; б) закона Стокса-Ломмеля;
в) уравнения Штерна-Фольмера; г) закона Вавилова.
9. Эффектом «внутреннего фильтра» называется уменьшение:
- а) интенсивности флуоресценции при увеличении температуры;
б) квантового выхода флуоресценции в присутствии тушителей;
в) энергетического выхода флуоресценции при увеличении длины волны возбуждающего света;
г) интенсивности флуоресценции при увеличении оптической плотности.
10. В качестве детектирующего устройства в спектрофлуориметре используется:
- а) фотоэлемент; б) фотоумножитель; в) пневмодетектор; г) фотопластинка.
11. Методом поляриметрии можно провести количественное определение:
- а) этилового спирта; б) бензола; в) уксусной кислоты; г) глюкозы.
12. Спектром флуоресценции называется зависимость:
- а) интенсивности флуоресценции от длины волны возбуждающего излучения; б) интенсивности флуоресценции от длины волны испускаемого излучения; в) длины волны возбуждающего излучения от длины волны испускаемого излучения; г) длины волны испускаемого излучения от длины волны возбуждающего излучения.
13. Почему измерение флуоресценции обычно проводят под прямым углом по отношению к возбуждающему свету: а) такой приём позволяет избежать наложения возбуждающего света на излучаемый;
б) для более эффективной монохроматизации возбуждающего излучения;
в) для повышения квантового выхода флуоресценции;
г) для увеличения длительности свечения молекул.
14. Спектрофлуориметр принципиально отличается от флуориметра:
- а) не имеет источника излучения; б) в качестве детектора содержит фотоэлемент; в) имеет монохроматоры излучения; г) всегда является нерегистрирующим.
15. По сравнению с возбуждением измерение флуоресценции проводится:
- а) при большей длине волны; б) при меньшей длине волны;
в) при большем волновом числе; г) при большей частоте.

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Расчетные задачи

1. Алгоритмы решения типовых задач

Задача. Оптическая плотность раствора, содержащего два вещества, при 280 нм равна 0,538, а при 340 нм – 0,306. Рассчитайте концентрации каждого вещества в данном растворе (мкг/мл), если удельные коэффициенты поглощения первого вещества при 280 и 340 нм равны соответственно 560 и 120, а второго – 180 и 420. Все измерения проводились в кювете с толщиной слоя 1,00 см.

Решение. Выберем две длины волны с максимальной разностью коэффициентов поглощения и измерим оптическую плотность раствора при данных длинах волн. Оптическая плотность анализируемого раствора при длине волны λ_1 равна A^{λ_1} , а при длине волны λ_2 – A^{λ_2} . Составим систему из двух уравнений:

$$\begin{cases} A^{\lambda_1} = (k_1^{\lambda_1} c_1 + k_2^{\lambda_1} c_2) \ell; \\ A^{\lambda_2} = (k_1^{\lambda_2} c_1 + k_2^{\lambda_2} c_2) \ell, \end{cases} \quad \begin{array}{l} \text{где } k - \text{коэффициенты поглощения данных} \\ \text{веществ (молярные или удельные - в} \\ \text{зависимости от единиц измерения концентрации)} \\ \text{при данных длинах волн.} \end{array}$$

Если решить данную систему уравнений, то можно найти неизвестные концентрации c_1 и c_2 :

$$c_1 = \frac{k_2^{\lambda_2} A^{\lambda_1} - k_2^{\lambda_1} A^{\lambda_2}}{(k_1^{\lambda_1} k_2^{\lambda_2} - k_1^{\lambda_2} k_2^{\lambda_1}) \ell}; \quad C_2 = \frac{k_1^{\lambda_1} A^{\lambda_2} - k_1^{\lambda_2} A^{\lambda_1}}{(k_1^{\lambda_1} k_2^{\lambda_2} - k_1^{\lambda_2} k_2^{\lambda_1}) \ell}$$

$$c_1 = \frac{420 \cdot 0,538 - 180 \cdot 0,306}{(560 \cdot 420 - 120 \cdot 180) \cdot 1,00} = 8,00 \cdot 10^{-4} \text{ (г/100 мл) или } 8,00 \text{ мкг/мл.}$$

$$c_2 = \frac{560 \cdot 0,306 - 120 \cdot 0,538}{(560 \cdot 420 - 120 \cdot 180) \cdot 1,00} = 5,00 \cdot 10^{-4} \text{ (г/100 мл) или } 5,00 \text{ мкг/мл.}$$

2. Расчётная задача

Пробу массой 25,0 мг образца масляного концентрата синтетического ретинола растворили в 5 мл пентана, полученный раствор разбавили до 1000,0 см³ 2-пропанолом. Оптическая плотность раствора при длине волны 326 нм и толщине поглощающего слоя 1,00 см оказалась равной 0,699. Рассчитайте содержание витамина А в 1 г испытуемого образца в МЕ. Фактор пересчёта удельного показателя поглощения сложных эфиров ретинола в МЕ/г равен 1900.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Навеску растворимого кофе массой 2,5000 г растворили в воде, получив 500 мл раствора. Затем 25,0 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 500 мл, добавили 25,0 мл 0,1 М H_2SO_4 , осветлили и довели объём раствора водой до метки. Оптическая плотность этого раствора при 272 нм и толщине поглощающего слоя 1,00 см оказалась равной 0,360. Рассчитайте массу кофеина в 100 г растворимого кофе. Удельный коэффициент поглощения кофеина при условиях измерения оптической плотности равен 510.
2. Оптическая плотность раствора с неизвестной концентрацией окрашенного вещества, измеренная относительно раствора этого же вещества с концентрацией $2,00 \cdot 10^{-5}$ моль/дм³, равна 0,700. Рассчитайте молярную концентрацию окрашенного вещества в исследуемом растворе, если известно, что его молярный коэффициент поглощения в условиях измерения оптической плотности равен $9,00 \cdot 10^4$. Все измерения проводились в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1,00 см.

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Атомно-эмиссионная спектроскопия. Процессы, приводящие к возникновению аналитического сигнала. Практическое применение метода. Устройство и принцип работы атомно-эмиссионного спектрометра.
2. Молекулярная люминесцентная спектроскопия. Классификация видов люминесценции. Основные характеристики и закономерности люминесценции.
3. Факторы, влияющие на интенсивность флуоресценции растворов. Тушение люминесценции. Преимущества люминесцентной спектроскопии.
4. Устройство и принцип работы спектрофлуориметров и флуориметров.
5. Практическое применение люминесцентной спектроскопии и основные приёмы, используемые в ней.

ТЕМА 4. Гибридные методы анализа. ЯМР-спектроскопия. Масс-спектроскопия. Иммунохимические методы анализа

Цель: изучить принципы гибридных методов анализа; рассмотреть основные направления использования гибридных методов анализа для исследования биологических систем.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса _____

ЯМР-интроскопии _____

Атомизация _____

Электротермическая атомизация _____

Иммунологическая специфичность _____

Аффинность _____

Антиген _____

Антитело _____

Масс-спектрометрия _____

Масс-спектр _____

2. Расшифруйте сокращения:

ИХМИ _____

ДЯМР _____

ЯМР _____

ПМР _____

ЯМР ^{13}C _____

ЭПР _____

TMS ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$) _____

3. Перечислите методы, используемые для атомизации веществ:

4. Запишите схему строения ЯМР-спектрометра:

5. Укажите суть метода протонного магнитного резонанса:

6. Укажите суть метода ЯМР на ядрах изотопа ^{13}C (ЯМР ^{13}C):

7. Укажите сущность традиционного метода ЯМР-спектроскопии:

8. Перечислите недостатки традиционный метода ЯМР-спектроскопии:

9. Укажите сущность современных методов ЯМР-спектроскопии (импульсной спектроскопии):

10. Укажите сущность метода ЯМР-интроскопии (или магнитно-резонансной томографии):

11. Перечислите основные характеристиками спектров ЯМР:

12. Укажите принцип иммунологических методов исследования:

13. Перечислите метки используемые в ИХМИ:

14. Перечислите физико-химические закономерности взаимодействия «антиген-антитело»:

15. Укажите подходы, используемые для определения константы скорости диссоциации комплекса «антиген-антитело»:

16. Перечислите методы иммунохимического тестирования:

17. Укажите стадии иммунохимического анализа:

18. Перечислите классификацию методов иммуноферментного анализа:

19. Запишите схему строения масс-спектрометра:

20. Перечислите способы ионизации органических веществ:

21. Перечислите способы ионизации неорганических веществ:

22. Перечислите области применения масс-спектрометрии, ИХМА:

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Относится к физическим методом анализа: а) рефрактометрия; б) потенциометрическое титрование; в) иодометрическое титрование; г) экстракционная фотометрия.
2. Относится к физико-химическим методом анализа: а) рефрактометрия; б) потенциометрическое титрование; в) иодометрическое титрование; г) гравиметрия.
3. Погрешность, которая в ходе измерения одной и той же величины остаётся постоянной или изменяется закономерным образом, называется: а) систематической; б) случайной; в) грубой; г) относительной
4. Относится к спектроскопическим метод анализа: а) кондуктометрия; б) масс-спектропия; в) поляриметрия; г) ионометрия.
5. Наименьшее содержание аналита, которое по данной методике с заданной доверительной вероятностью можно отличить от сигнала контрольного опыта, называется: а) диапазоном определяемых содержаний; б) чувствительностью; в) пределом определения; г) пределом обнаружения.
6. Критерий Фишера используется при: а) сравнении воспроизводимостей двух методик; б) сравнении правильностей двух методик; в) определении грубых погрешностей; г) расчёте нижней и верхней границ определяемых содержаний.
7. Электромагнитное излучение с наименьшей энергией используется в: а) УФ-спектрофотометрии; б) ИК-спектрофотометрии; в) атомно-абсорбционной спектроскопии; г) ЯМР-спектроскопии.
8. К спектроскопическим методам анализа, основанным на испускании веществом электромагнитного излучения, относится: а) флуориметрия; б) атомно-абсорбционная спектроскопия; в) ИК-спектроскопия; г) рефрактометрия.
9. Электромагнитное излучение с наибольшей длиной волны используется:

- а) УФ-спектрофотометрии; б) флуориметрии;
 в) ИК-спектроскопии; г) ЯМР-спектроскопии.
10. Электромагнитное излучение с наименьшей длиной волны используется в: а) ИК-спектроскопии; б) спектроскопия в видимой области спектра; в) ЯМР-спектроскопии; г) УФ-спектроскопии.
11. К спектроскопическим методам анализа, основанным на поглощении веществом электромагнитного излучения, относится:
 а) атомно-абсорбционная спектроскопия; б) рефрактометрия;
 в) атомно-эмиссионная спектроскопия; г) поляриметрия.
12. Спектр поглощения вещества – зависимость оптической плотности раствора от: а) длины волны; б) молярной концентрации вещества; в) титра раствора; г) толщины поглощающего слоя.
13. К спектроскопическим методам анализа, в которых вещество не поглощает и не испускает электромагнитного излучения, относится:
 а) СФ; б) флуориметрия; в) рефрактометрия; г) ИК-спектроскопия.
14. Не относится к спектроскопическим метод анализа:
 а) атомно-эмиссионная спектроскопия; б) рефрактометрия;
 в) поляриметрия; г) полярография.
15. Не относится к оптическим метод анализа: а) ЯМР-спектроскопия;
 б) рефрактометрия; в) поляриметрия; г) УФ-спектрофотометрия.

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Расчетные задачи

1. Алгоритм решения типовых задач

Задача. К раствору объемом 5,00 см³ с неизвестной концентрацией вещества, который имел оптическую плотность 0,400, прибавили 5,00 мл раствора с концентрацией этого же вещества 20,0 мг/л. Оптическая плотность полученного раствора, при измерении её в таких же условиях, что и для исходного раствора, оказалась равной 0,600. Рассчитайте концентрацию вещества (мг/л) в исходном растворе.

Решение. Вначале измеряют величину оптической плотности для пробы с неизвестной концентрацией вещества (A_x). Затем к пробе прибавляют некоторое точное количество определяемого вещества (стандарта) и снова измеряют величину аналитического сигнала ($A_{доб}$). Концентрацию определяемого компонента в анализируемой пробе, с учётом разбавления, рассчитывают по формуле:

$c_x = \frac{c_{доб} V_{доб} A_x}{(V_{доб} + V_x) A_{доб} - V_x A_x}$	$c_x = \frac{20,0 \cdot 5,00 \cdot 0,400}{(5,00 + 5,00)0,600 - 5,00 \cdot 0,400} = 10,0 \text{ мг/дм}^3.$
---	---

2. Расчётная задача

При определении массовой доли оксида цинка в мази аналитик А провёл 4 параллельных определения и получил следующие результаты: $\bar{\omega} = 9,80\%$, $S_r = 2,2 \cdot 10^{-2}$. При анализе этого же образца аналитик Б провёл 6 параллельных определений и нашёл, что $\bar{\omega} = 9,40\%$, $S_r = 1,1 \cdot 10^{-2}$. Имеются ли статистически достоверные различия в воспроизводимости и средних значениях результатов, полученных двумя аналитиками?

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Оптическая плотность раствора, содержащего вещества А и Б, при 250 нм равна 0,650, а при 310 нм – 0,620. Рассчитайте концентрации А и Б в данном растворе (моль/л), если молярные коэффициенты поглощения вещества А при 250 и 310 нм равны, соответственно, $4,50 \cdot 10^4$ и $1,20 \cdot 10^4$, а вещества Б – $1,00 \cdot 10^4$ и $2,50 \cdot 10^4$. Толщина слоя кюветы 1,00 см.
2. К 5,00 мл раствора с неизвестной концентрацией вещества, который имел оптическую плотность 0,300, прибавили $2,00 \text{ см}^3$ раствора с концентрацией этого же вещества 40,0 мг/л. Оптическая плотность полученного раствора равна 0,500. Рассчитайте концентрацию вещества (мг/дм³) в исходном растворе.

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Масс-спектрометрия. Общая характеристика масс-спектров. Практическое применение метода. Устройство и принцип работы масс-спектрометра.
2. ЯМР-спектрометрия. ЯМР ^1H и ^{13}C -спектрометрия. Общая характеристика ЯМР-спектров. Устройство и принцип работы ЯМР-спектрометра. Практическое применение метода ЯМР-спектрометрии. Понятие об ЭПР-спектрометрии.
3. Иммуноферментный метод анализа. Классификация иммунохимических методов. Используемые ферменты и субстраты. Практическое применение метода.

ТЕМА 5. Электрохимические методы анализа

Цель: изучить принципы электрохимических методов анализа; рассмотреть основные способы применения электрохимические методы анализа в лабораторном мониторинге.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Электродный процесс (электрохимическая реакция) _____

Электродный потенциал _____

Поляризованный электрод _____

Равновесного значения электродного потенциала _____

Электрохимическая ячейка _____

Гальванический элемент _____

Индикаторный электрод _____

Электрод сравнения _____

Вспомогательный электрод _____

2. Укажите стадии, которые включает электродный процесс. Разъясните суть данных процессов: _____

3. Выделите части электрохимических систем:

4. Рассмотрите рисунок, укажите, где изображены гальванический элемент и электрохимическая ячейка, разъясните, в чем их особенности:

А – _____

Б – _____

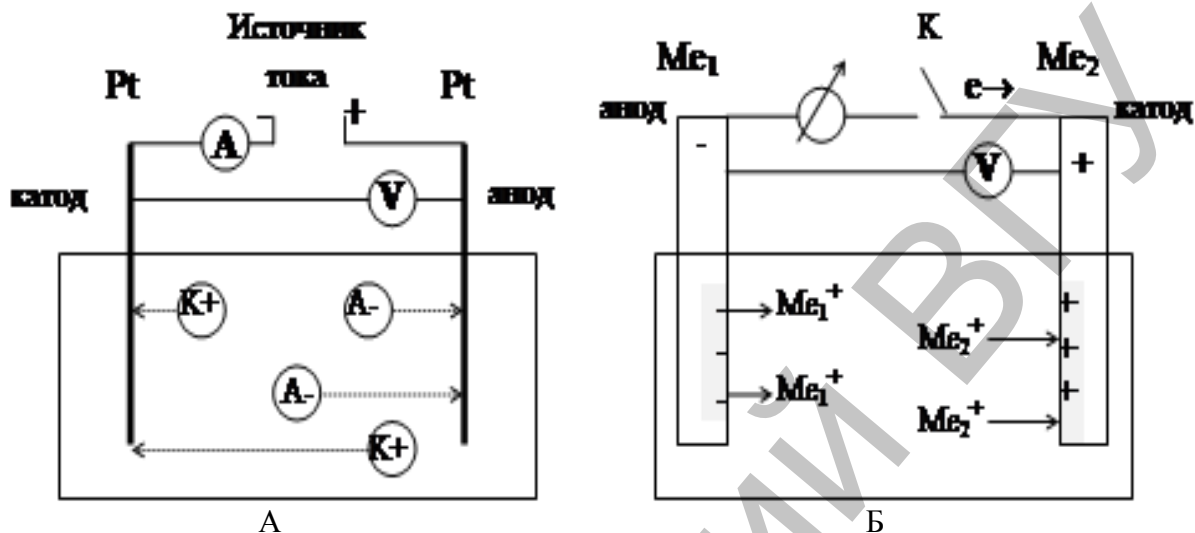


Рисунок – Схематическое изображение электрохимических систем

5. Укажите, по каким признакам классифицируются электрохимические методы анализа, приведите данную классификацию:

6. Укажите, электрохимические методы, выделяемые по виду фиксирования аналитического сигнала:

7. Укажите, группы методов, основанные на учете природы источника электрической энергии в системе:

8. Выделите, виды электрохимических методов по способу их применения:

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Относится к электрохимическим метод анализа:
а) поляриметрия; б) полярография; в) флуориметрия; г) рефрактометрия.
2. В состав электрохимической ячейки может входить: а) один электрод;
б) один или два электрода; в) два электрода; г) ни одного электрода.
3. Электрохимическая ячейка, работающая в режиме гальванического элемента, используется в: а) полярографии; б) ионометрии;
в) инверсионной вольтамперометрии; г) кулонометрии.
4. Электрохимическая ячейка, работающая в режиме электролитической ячейки, используется в: а) полярографии; б) ионометрии;
в) кондуктометрии; г) потенциометрическом титровании.
5. Электродом называют систему, состоящую из находящихся в контакте друг с другом: а) двух различных металлов; б) проводника электрического тока первого рода и проводника электрического тока второго рода;
в) двух проводников электрического тока первого рода;
г) двух растворов различных электролитов.
6. В качестве электрода сравнения в электрохимических методах анализа применяют: а) ртутный капаящий электрод; б) стеклянный рН- электрод;
в) хингидронный электрод; г) хлоридсеребряный электрод.
7. Рабочим электродом в электрохимических методах анализа называют:
а) любой индикаторный электрод; б) индикаторный электрод, который за время измерения оказывает значительное влияние на состав анализируемого раствора; в) вспомогательный электрод, ни сила тока, ни потенциал которого не измеряются; г) индикаторный электрод при условии, что электрохимическая ячейка работает в режиме гальванического элемента.
8. В процессе измерений потенциал электрода сравнения должен:
а) монотонно увеличиваться; б) монотонно уменьшаться;
в) оставаться постоянным; г) либо увеличиваться, либо уменьшаться.
9. Укажите метод анализа, в котором не используется электрический ток:
а) полярография; б) кондуктометрия;

- в) амперометрическое титрование; г) потенциометрическое титрование
10. Поляризованный индикаторный электрод используется в:
- а) полярографии; б) кондуктометрии; в) ионометрии;
г) потенциометрическом титровании.
11. Величина потенциала индикаторного электрода в потенциометрии связана с активностью определяемого иона уравнением:
- а) Нернста; б) Фарадея; в) Дебая-Хюккеля; г) Ильковича
12. Величина электродного потенциала прямо пропорциональна:
- а) активности определяемого иона; б) логарифму активности определяемого иона; в) числу электронов, участвующих в электродной реакции; г) ионной силе.
13. При выполнении прямых потенциометрических определений:
- а) сила тока в цепи должна быть большой; б) электродная реакция должна быть необратимой; в) электродная реакция должна быть обратимой;
г) раствор нельзя перемешивать.
14. Солевой мостик в потенциометрии используется для:
- а) увеличения потенциала индикаторного электрода;
б) уменьшения потенциала электрода сравнения;
в) уменьшения диффузионного потенциала;
г) создания постоянной величины ионной силы анализируемого раствора
15. Примером инертных металлических электродов является:
- а) хлоридсеребряный; б) каломельный;
в) цианидселективный; г) платиновый.

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

Алгоритмы решения типовых задач

Задача. Рассчитайте максимально допустимую концентрацию соли (в расчёте на хлорид натрия, мг/дм³) в образце дистиллированной воды при 20 °С, если максимально допустимая удельная электропроводность дистиллированной воды при данной температуре равна $4,3 \cdot 10^{-6}$ См·см⁻¹, а удельная электропроводность абсолютно чистой воды – $4,2 \cdot 10^{-8}$ См·см⁻¹. Предельные эквивалентные электропроводности для ионов Na⁺ и Cl⁻ равны соответственно 50,1 и 76,3 См·см²·моль⁻¹.

Решение. Максимально допустимая величина удельной электропроводности дистиллированной воды почти в 100 раз превышает электропроводность абсолютно чистой воды при данной температуре. Поскольку концентрация ионов в растворе мала, то эквивалентные электропроводности ионов можно принять равными их предельным эквивалентным электропроводностям. Согласно закону Кольрауша

предельная эквивалентная электропроводность NaCl равна:
 $\lambda^0 = 50,1 + 76,3 = 126,4 \text{ См} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$. Максимально допустимая концентрация соли в дистиллированной воде равна:

$$c = \frac{\kappa \cdot 10^3}{\lambda} = \frac{4,3 \cdot 10^{-6} \cdot 10^3}{126,4} = 3,4 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л (или 2,0 мг/дм}^3\text{)}.$$

2. Расчетная задача

Рассчитайте при температуре 298 К ЭДС гальванического элемента, состоящего из серебряного электрода (активность ионов Ag^+ в растворе равна $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3$) и насыщенного хлоридсеребряного электрода. Величина стандартного электродного потенциала для серебряного электрода равна 0,799 В.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Определение аскорбиновой кислоты проводили кулонометрическим методом путём окисления её до дегидроаскорбиновой кислоты. Рассчитайте массу аскорбиновой кислоты ($M = 176,13 \text{ г/моль}$) в растворе, если за время, необходимое для её окисления, в медном кулонометре масса катода увеличилась на 50,0 мг. Молярную массу меди равна 63,55 г/моль.
2. Определение фенола в пробе сточной воды проводили методом кулонометрического титрования по реакции образования трибромфенола с бромом, генерированным из KBr. Рассчитайте массу фенола (мг), содержавшегося в анализируемой пробе, если электролиз проводили током силой 75,0 мА в течение 5 минут 30 секунд.

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Общая характеристика электрохимических методов анализа. Электрохимическая ячейка. Индикаторный электрод и электрод сравнения. Равновесные и неравновесные электрохимические системы.
2. Классификация электрохимических методов анализа.
3. Потенциометрия. Вольтамперометрия. Амперометрическое титрование. Общая характеристика и классификация. Измерение аналитического сигнала.

ТЕМА 6. Хроматографические методы анализа

Цель: изучить принципы хроматографических методов анализа; выделить направления использования хроматографических методов анализа состава и состояния биологических объектов.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Хроматография _____

Элюат _____

Элюент _____

Внутренняя хроматограмма _____

Внешняя хроматограмма _____

Хроматографический пик _____

Высота пика _____

Ширина пика на полувысоте _____

Площадь хроматографического пика _____

Изотермой сорбции _____

Газовая хроматография _____

Жидкостная хроматография _____

Плоскостная хроматография _____

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) _____

2. Охарактеризуйте хроматографический пик. Укажите обозначения выделенные на рисунке:

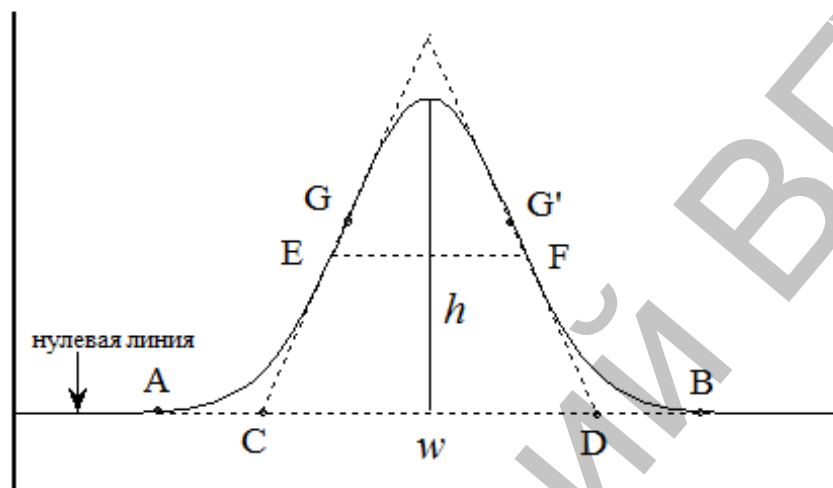


Рисунок – Характеристики хроматографического пика

3. Укажите, что характеризуют данные величины и формулы для их нахождения, расшифруйте обозначения:

$$t_R = t_m + t_s \quad \text{mobile} \longrightarrow t_m$$

stationary t_s

А)

Б) $V_R = t_R \cdot F$ $V'_R = (t_R - t_m)F = V_R - V_m$

В)

$$D = \frac{C_s}{C_m}$$

Г)

$$V_R = V_m + DV_s$$

или

$$V'_R = DV_s$$

Д) $N = \frac{L}{H}$

Е) $H = \frac{\omega^2 L}{16 t_R^2}$; $N = 16 \left(\frac{t_R}{\omega} \right)^2$; $N = 5,54 \left(\frac{t_R}{\omega_{0,5}} \right)^2$

Ж) $H = A + \frac{B}{\alpha} + C \cdot \alpha$

4. Заполните таблицу:

Таблица – Приёмы количественного определения в хроматографии.

Метод	Сущность метода
нормировки	
внешнего стандарта	
внутреннего стандарта	

5. Перечислите требования к веществу, используемого в качестве внутреннего стандарта при хроматографических методах анализа:

6. Укажите, какие процессы протекают при хроматографировании:

7. Выделите, какие теории объяснения причин размывания хроматографических зон: _____

8. Перечислите основные положения теории теоретических тарелок:

9. Перечислите основные положения кинетической теории. Уравнение Ван-Деемтера: _____

10. Укажите основные структурные элементы газового хроматографа (схема строения прибора):

11. Укажите основные структурные элементы жидкостного хроматографа (схема строения прибора):

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. В зависимости от агрегатного состояния подвижной фазы хроматография может быть:
а) газовой; б) тонкослойной; в) бумажной; г) ионообменной.
2. В зависимости от геометрической формы неподвижной фазы хроматография может быть:
а) газожидкостной; б) плоскостной; в) аффинной; г) распределительной.
3. В зависимости от преобладающего механизма разделения хроматография может быть:
а) бумажной; б) тонкослойной; в) газотвёрдофазной; г) ионообменной.
4. Хроматография не может быть одновременно:
а) газовой и адсорбционной; б) газовой и тонкослойной;
в) жидкостной и колоночной; г) колоночной и эксклюзионной.
5. Часть основания хроматографического пика, заключённая между точками пересечения касательных, проведённых к точкам перегиба на сторонах пика, с нулевой линией, называется: а) основанием пика; б) шириной пика; в) полушириной пика; г) нулевой линией.
6. Укажите, какой хроматографический параметр используется для идентификации веществ: а) время удерживания б) число теоретических тарелок; в) площадь пика; г) ширина пика.
7. Время удерживания вещества равно 100 секунд. Время удерживания несорбируемого вещества – 10 секунд. Исправленное время удерживания (сек) вещества равно: а) 110; б) 90; в) 10; г) 100.
8. Время удерживания вещества равно 2,0 мин. Скорость подвижной фазы – 80,0 мкл/мин. Величина удерживаемого объёма (мкл) для вещества равна: а) 2,00 мкл; б) 40,0 мкл; в) 80,0 мкл; г) 160 мкл.
9. Число теоретических тарелок равно 1000. Длина колонки – 100 см. Высота эквивалентная теоретической тарелке (мм) равна:
а) 0,1; б) 1; в) 10; г) 100.
10. Укажите, какой хроматографический параметр используется при количественном определении веществ: а) высота хроматографического пика; б) высота эквивалентная теоретической тарелке;
в) ширина хроматографического пика; г) удерживаемый объём.
11. Для работы пламенно-ионизационного детектора необходим:
а) водород; б) оксид углерода (IV); в) оксид азота (I); г) метан.
12. В газовом хроматографе отсутствует:
а) насос для подачи подвижной фазы; б) устройство для ввода пробы;
в) хроматографическая колонка; г) детектор.
13. В качестве подвижной фазы в газовой хроматографии не применяют:
а) азот; б) гелий; в) озон; г) водород.
14. При использовании катарометра газом-носителем должен быть водород или: а) азот; б) гелий; в) воздух; г) оксид углерода (IV).

15. Является универсальным детектором:

- а) катарометр; б) детектор электронного захвата;
в) пламенно-фотометрический; г) термоионный.

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Задачи

1. Алгоритм решения типовых задач

Задача. Время, между моментом ввода пробы и появлением максимума пика вещества равно 100,0 секунд. Рассчитайте исправленное время удерживания, исправленный удерживаемый объем и фактор удерживания (коэффициент ёмкости) для определяемого вещества, если время удерживания несорбируемого компонента смеси равно 15,0 секунд, а объёмная скорость подвижной фазы (газа-носителя) – 32,0 см³/мин. Какой должна быть высота, эквивалентная теоретической тарелке, чтобы в колонке длиной 150 см ширина пика вещества, время удерживания которого составляет 100,0 секунд, была равна 15,0 секунд?

Решение. Исправленное время удерживания равно разности между временами удерживания исследуемого вещества и несорбируемого компонента: $t'_R = 100,0 - 15,0 = 85,0$ с. Объёмная скорость газа подвижной фазы составляет 32,0 мл/мин или 0,533 мл/с. Исправленный удерживаемый объём равен произведению исправленного времени удерживания на объёмную скорость подвижной фазы: $V'_R = 85,0 \cdot 0,533 = 45,3$ см³. Фактор удерживания равен отношению исправленного времени удерживания вещества к времени удерживания несорбируемого компонента:

$k' = \frac{85,0}{15,0} = 5,67$. Число теоретических тарелок равно и высота,

эквивалентная теоретической тарелке, равна отношению длины колонки к числу теоретических тарелок:

$$N = 16 \left(\frac{100,0}{15,0} \right)^2 = 711$$

$$H = \frac{150}{711} = 0,211 \text{ см.}$$

2. Расчетная задача

При идентификации аминокислоты глицина методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) получены такие результаты: расстояние от линии старта до центра пятна – 66,5 мм, расстояние от линии старта до нижней границы пятна – 64,1 мм, расстояние от нижней до верхней границы пятна – 4,8 мм. Расстояние между линией старта и линией фронта растворителя равно 100,0 мм. Рассчитайте R_f глицина и число теоретических тарелок.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Динамическая ёмкость некоторого сильнокислотного катионообменника составляет 4,5 ммоль/г. Какой максимальный объём раствора с концентрацией NaCl 10,0 г/л можно пропустить через колонку, в которой находится 5,0 г такого ионообменника в H^+ -форме, чтобы все ионы Na^+ заместились на ионы H^+ ?
2. Коэффициент распределения вещества А между хлороформом и водой равен 10. Рассчитайте степень извлечения вещества А при его экстракции 20 мл хлороформа из 50 см³ водной фазы. Какова будет степень извлечения данного вещества, если экстракцию проводить последовательно четырьмя порциями хлороформа по 5,0 см³.

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Хроматографические параметры, используемые при количественном определении. Способы количественного определения веществ в хроматографических методах. Теория теоретических тарелок.
2. Кинетическая теория. Уравнение Ван Деемтера. Газовая хроматография. Общая характеристика и классификация. Практическое применение метода. Устройство и принцип работы газового хроматографа. Подвижные фазы. Способы ввода пробы. Хроматографические колонки.
3. Газовая хроматография. Детекторы, сорбенты, неподвижные жидкие фазы и носители жидких фаз.
4. Плоскостная хроматография. Классификация. Общие принципы разделения. Методика получения плоскостной хроматограммы.
5. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Устройство и принцип работы жидкостного хроматографа. Виды жидкостной хроматографии. Адсорбционная хроматография. Распределительная хроматография. Ионообменная, эксклюзионная, аффинная хроматографии.

ТЕМА 7. Основные принципы проведения лабораторного мониторинга

Цель: рассмотреть основные принципы лабораторного мониторинга состояния окружающей среды.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Экологический мониторинг _____

Аналитические исследования _____

Проба _____

Биологическая проба (биопроба) _____

Гипотеза _____

2. Укажите предмет изучения лабораторного мониторинга:

3. Выделите основные задачи аналитических исследований в медико-биологической и биоэкологической практике:

4. Перечислите источники проб:

5. Укажите основные задачи лабораторных исследований в биоэкологии:

6. Перечислите типы аналитических лабораторий:

7. Заполните таблицу, указав названия и функции лабораторий:

Тип лаборатории	Название	Основная функция (задача исследования)
Диагностические		
Санитарные и гигиенические		
Экологические		
Фармацевтические		
Биотехнологические		
Биологические		
Пищевые		

7. Укажите основные этапы и особенности отбора и работы с пробами почвы: _____

8. Укажите основные этапы и особенности отбора и работы с пробами воды: _____

9. Укажите основные этапы и особенности отбора и работы с пробами воздуха: _____

7. Укажите основные этапы и особенности отбора и работы с пробами из внутренней среды организма: _____

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Аналитическим сигналом в нефелометрии является:

- а) оптическая плотность; б) пропускание;
в) интенсивность рассеянного света; г) мутность раствора.

2. Турбидиметрические измерения можно проводить с помощью:
 - а) флуориметра; б) спектрофотометра; в) поляриметра; г) рефрактометра.
3. При турбидиметрическом титровании сульфата натрия в качестве титранта может быть использован:
 - а) гидроксид калия; б) серная кислота; в) трилон Б; г) хлорид бария.
4. Укажите какое устройство в поляриметре преобразует обычный свет в плоскополяризованный: а) дифракционная решётка; б) призма Николя; в) призма Амичи; г) светофильтр.
5. При определении нулевой точки поляриметра в случае определения оптического вращения растворов веществ кювету заполняют:
 - а) водой; б) любым несмешивающимся с водой растворителем; в) этиловым спиртом; г) соответствующим растворителем.
6. Нижняя граница определяемых содержаний вещества в растворе (%) для рефрактометрии составляет: а) 0,01; б) 0,5; в) 3; г) 10.
7. Аналитическим сигналом в поляриметрии является:
 - а) оптическая плотность; б) оптическое вращение; в) интенсивность рассеянного света; г) показатель преломления.
8. Оптическое вращение для раствора с концентрацией вещества 200 г/л, находящегося в кювете длиной 2,00 дм, равно $+20,0^\circ$. Величина удельного вращения для данного вещества равно ($^\circ$): а) $+20$; б) $+50$; в) $+100$; г) $+200$.
9. Дисперсией оптического вращения называется зависимость угла вращения от: а) температуры; б) длины волны света; в) концентрации оптически активного вещества; г) давления.
10. В круговом поляриметре используется детекция:
 - а) визуальная; б) фотохимическая; в) пневматическая; г) химическая.
11. Аналитическим сигналом в турбидиметрии является:
 - а) интенсивность рассеянного света; б) интенсивность отражённого света; в) мутность раствора; г) показатель преломления раствора.
12. Нефелометр похож по устройству на: а) флуориметр; б) рефрактометр; в) спектрофотометр; г) атомно-абсорбционный спектрометр.
13. Аналитическим сигналом в рефрактометрии является:
 - а) показатель преломления; б) оптическая плотность; в) оптическое вращение; г) интенсивность отражённого света.
14. Показатель преломления раствора уменьшается при увеличении:
 - а) концентрации вещества; б) температуры; в) поляризуемости молекул растворителя; г) угла падения света
15. Поляриметрия используется для количественного определения:
 - а) уксусной кислоты; б) глицерина; в) этилового спирта; г) сахарозы

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Расчетные задачи

1. Алгоритм решения типовых задач

Задача. Относительная оптическая плотность раствора тетрааммиаката меди при 610 нм и толщине поглощающего слоя 2,00 см равна 0,530. Раствор сравнения содержал 100 мг/л меди. Определите массу меди (мг) в 100 мл анализируемого раствора, если молярный коэффициент поглощения тетрааммиаката меди при 610 нм равен $1,00 \cdot 10^2$. Молярная масса меди равна 63,5 г/моль.

Решение. В данной задаче определение меди в растворе проводили одним из вариантов дифференциальной (разностной) фотометрии, называемым методом отношения пропусканий. Такой метод используется при анализе растворов, имеющих большую оптическую плотность. В качестве раствора сравнения применяют раствор с известной концентрацией определяемого вещества c_0 ($c_0 < c_x$). Зависимость между молярной концентрацией вещества в анализируемом растворе и наблюдаемой оптической плотностью (ΔA) в методе отношения пропусканий описывается формулой: $c_x = \frac{\Delta A}{\varepsilon \ell} + c_0$

Молярная концентрация меди в растворе сравнения равна: Молярная концентрация меди в анализируемом растворе составляет:

$$c_0 = \frac{100 \cdot 10^{-3}}{63,5} = 1,57 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3 \quad c_x = \frac{0,530}{1,00 \cdot 10^2 \cdot 2,00} + 1,57 \cdot 10^{-3} = 4,22 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3$$

В 100 мл анализируемого раствора содержится медь массой:

$$m = 4,22 \cdot 10^{-3} \cdot 63,5 \cdot 100 \cdot 10^{-3} \cdot 10^3 = 26,8 \text{ мг.}$$

2. Расчётная задача

При фотометрическом определении концентрации нитрит-ионов с помощью реактива Грисса было установлено, что раствор, содержащий 2,00 мкг нитрит-ионов, даёт в соответствующих условиях оптическую плотность 0,300. Рассчитайте массу нитрит-ионов в растворе, оптическая плотность которого в таких же условиях равна 0,250. Зависимость оптической плотности от содержания аналита линейна и проходит через начало координат.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Определение pH морской воды проводили с помощью индикатора тимолового синего. Данный индикатор является двухосновной кислотой. Его моноанион окрашен в жёлтый цвет, дианион – в синий. Величина $pK_{a,2}$ тимолового синего равна 8,09 (с учётом ионной силы раствора). К пробе морской воды прибавили необходимое количество индикатора и измерили оптическую плотность при 436 нм и 596 нм. Величины A^{436} и A^{596} оказались равными 0,599 и 0,859 (с учётом сигнала контрольного опыта). Рассчитайте pH исследуемого образца морской воды, если известно, что молярный коэффициент поглощения моноаниона индикатора при длинах волн 436 нм и 596 нм равен $1,39 \cdot 10^4$ и 44,2, а молярный коэффициент поглощения дианиона соответственно $1,93 \cdot 10^3$ и $3,38 \cdot 10^4$. Измерения оптической плотности проводили в кювете с толщиной поглощающего слоя 10,00 см.

2. К пробе порошка растёртых таблеток клонидина гидрохлорида, лекарственного средства антигипертензивного действия, добавили 25 см³ цитратно-фосфатного буферного раствора (pH 7,6). После встряхивания в течение 15 минут к полученной смеси (раствор А) добавили 5 мл воды, 1 мл раствора, содержащего по 0,15% бромтимолового синего и натрия карбоната. После перемешивания добавили 30 см³ хлороформа, смесь встряхивали в течение 1 минуты и центрифугировали. К 15 мл хлороформного слоя добавили 10 мл раствора борной кислоты и измерили оптическую плотность конечного раствора (раствор В) при 420 нм. Рассчитайте массу клонидина гидрохлорида в пробе (мкг), если оптическая плотность раствора В оказалась в 1,10 раза меньше оптической плотности такого же раствора, полученного при использовании вместо раствора А смеси 5,0 см³ $3,00 \cdot 10^{-3} \%$ (m/V) раствора клонидина гидрохлорида и 20,0 см³ цитратно-фосфатного буферного раствора (pH 7,6).

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Экологический мониторинг, как главное средство контроля за загрязненностью окружающей среды.
2. Классификация и общая характеристика методов анализа состояния окружающей среды.
3. Сравнительная характеристика методов анализа загрязнителей природных объектов.
4. Биопроба. Способы отбора и исследования биопроб.
5. Аналитические лаборатории в биоэкологии. Задачи, классификация, функции.

ТЕМА 8. Влияние различных факторов окружающей среды на устойчивость организмов

Цель: развить и систематизировать знания о факторах окружающей среды и их влиянии на резистентность организмов; изучить основные механизмы повреждения клетки и методы их анализа; сформировать целостное представление о значении методов анализа для проведения физиологических исследований.

I. Теоретические задания

1. Дайте определения основным понятиям:

Стресс _____

Стрессор _____

Адаптация _____

Гомеостаз _____

Протеолиз _____

Ограниченный протеолиз _____

Неограниченный протеолиз _____

Перекисное окисление липидов _____

Антиоксиданты _____

Физиологические исследования _____

Объект исследования _____

Предмет исследования _____

Биологические константы _____

Выборка _____

Достоверность результатов исследования _____

2. Приведите, классификацию стрессоров:

3. Укажите стадии перекисного окисления липидов:

4. Приведите примеры продуктов перекисного окисления липидов:

5. Охарактеризуйте состав антиоксидантной системы организма:

6. Укажите приборы, используемые для определения содержания продуктов перекисного окисления липидов:

7. Укажите, методы исследования проницаемости лизосомальных мембран

8. Охарактеризуйте статистические критерии различий: параметрический и непараметрический:

9. Охарактеризуйте основные параметры представления данных при параметрическом распределении: среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (S)

10. Опишите основные параметры представления результатов исследования при непараметрическом распределении: Me – медиана, верхняя граница нижнего квартиля (LQ) и нижняя граница верхнего квартиля (UQ)):

II. Тестовые задания

Выполните тестовые задания и заполните бланк ответов:

1. Одним из основных механизмов патогенеза стрессорных повреждений является: а) активация протеолитических ферментов; в) активация антиоксидантных ферментов; б) инактивация перекисного окисления липидов; г) активация ингибиторов протеиназ.
2. Характерными чертами действия протеолитических ферментов в организме являются: а) химическая нестабильность; б) затрата большого количества энергии; в) редокс двойственность; г) быстрота и высокая экономичность.
3. Неограниченный протеолиз сопровождается расщеплением белковых молекул с образованием: а) гормонов; б) ферментов; в) биологически активных веществ; г) аминокислот.
4. Вещества, контролирующие активность протеолитических ферментов называются: а) катализаторы; б) катепсины; в) антикоагулянты; г) ингибиторы протеиназ.
5. Протеолитические ферменты относятся к классу: а) оксидоредуктаз; б) трансфераз; в) гидролаз; г) изомераз.
6. На стадии образования свободных радикалов в молекулах полиненасыщенных высших жирных кислот возникает система сопряженных двойных связей и возникает максимум в спектре поглощения $\lambda_{\text{макс.}}=233$ нм при спектрометрическом определении: а) малонового диальдегида; б) глутатиона; в) диеновых конъюгатов; г) катепсина Д.
7. Вторичными продуктами перекисного окисления полиеновых кислот является: а) диеновые конъюгаты; б) гидроперекиси липидов; в) малоновый диальдегид; г) кетодиены.
8. К ферментам, защищающим клетки от действия активных форм кислорода относят: а) супероксиддисмутазу; б) глутатион; в) α -токоферол; г) β -Каротин.
9. В организме человека свободные радикалы образуются под действием: а) радиация и ультрафиолет; б) натрий хлорид и температура; в) ионы натрия и калия; г) глюкоза и угольная кислота.
10. Свободными радикалами являются частицы: а) NOH ; б) $\text{OH}\cdot$; в) O_3 ; г) Cl_2 .
11. К антиоксидантам относятся витамины: а) С, D, К; б) А, С, Е; в) В, К, РР; г) В, D, К.
12. Центральное значение в последовательном ряду данных или среднее значение наиболее часто встречающихся величин выборки называется: а) медиана; б) мода; в) среднее арифметическое; г) квартиль.
13. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез является: а) $p=1$; б) $p>0,05$; в) $p<0,1$; г) $p<0,05$.

14. Ряд, в котором сопоставлены (по степени возрастания или убывания) варианты и соответствующие им частоты называется: а) вариационный ряд; б) ряд значений; в) частотный ряд; г) численный ряд.

15. Статистический показатель, показывающий, насколько связаны между собой колебания значений двух других показателей называется:

- а) коэффициент показателей; б) индексом связи;
в) коэффициентом корреляции; г) сигналом связи

Бланк ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15					

III. Расчетные задачи

1. Алгоритмы решения типовых задач

Задача. К 5,00 мл раствора с неизвестной концентрацией вещества, который имел оптическую плотность 0,400, прибавили 5,00 мл раствора с концентрацией этого же вещества 20,0 мг/дм³. Оптическая плотность полученного раствора, при измерении её в таких же условиях, что и для исходного раствора, оказалась равной 0,600. Рассчитайте концентрацию вещества (мг/дм³) в исходном растворе.

Решение. В данной задаче описано определение вещества методом добавок. При использовании подобного метода (расчётный метод добавок) вначале измеряют величину аналитического сигнала, в данном случае оптической плотности, для пробы с неизвестной концентрацией вещества (A_x). Затем к пробе прибавляют некоторое точное количество определяемого вещества (стандарта) и снова измеряют величину аналитического сигнала ($A_{доб}$). Концентрацию определяемого компонента в анализируемой пробе, с учётом разбавления, рассчитывают по формуле:

$$c_x = \frac{c_{доб} V_{доб} A_x}{(V_{доб} + V_x) A_{доб} - V_x A_x} \quad c_x = \frac{20,0 \cdot 5,00 \cdot 0,400}{(5,00 + 5,00) 0,600 - 5,00 \cdot 0,400} = 10,0 \text{ мг/дм}^3$$

2. Расчётная задача

К 5,00 мл раствора с неизвестной концентрацией вещества, который имел оптическую плотность 0,300, прибавили 2,00 см³ раствора с концентрацией этого же вещества 40,0 мг/дм³. Оптическая плотность полученного раствора, при измерении её в таких же условиях, что и для исходного раствора, оказалась равной 0,500. Рассчитайте концентрацию вещества (мг/дм³) в исходном растворе.

Решите и запишите решение задачи:

3. Задачи для самостоятельного решения

1. Оптическая плотность раствора, содержащего вещества А и Б, при 250 нм равна 0,650, а при 310 нм – 0,620. Рассчитайте концентрации А и Б в данном растворе (моль/л), если молярные коэффициенты поглощения вещества А при 250 и 310 нм равны, соответственно, $4,50 \cdot 10^4$ и $1,20 \cdot 10^4$, а вещества Б – $1,00 \cdot 10^4$ и $2,50 \cdot 10^4$. Все измерения проводились в кювете с толщиной слоя 1,00 см.
2. Будет ли полным разделение пиков веществ, времена удерживания которых равны 180 и 200 секунд, а величины ширины пика на половине высоты соответственно 10 и 12 секунд?

IV. Вопросы для самоподготовки

1. Гомеостаз и адаптация организмов к условиям обитания.
2. Методы определения интенсивности перекисного окисления липидов в биологических системах.
3. Механизм действия ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы.
4. Способы регуляции активности протеолитических ферментов.
5. Методы статистической обработки данных при проведении физиологических исследований.

Учебное издание

БАЛАЕВА-ТИХОМИРОВА Ольга Михайловна

ГУСАКОВА Елена Анатольевна

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ
И ЛАБОРАТОРНЫЙ МОНИТОРИНГ**

Методические рекомендации

Технический редактор

Г.В. Разбоева

Компьютерный дизайн

Т.Е. Сафранкова

Подписано в печать .2017. Формат 60х84 ¹/₈. Бумага офсетная.

Усл. печ. л. 5,92. Уч.-изд. л. 2,49. Тираж экз. Заказ .

Издатель и полиграфическое исполнение – учреждение образования
«Витебский государственный университет имени П.М. Машерова».

Свидетельство о государственной регистрации в качестве издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий

№ 1/255 от 31.03.2014 г.

Отпечатано на ризографе учреждения образования

«Витебский государственный университет имени П.М. Машерова».

210038, г. Витебск, Московский проспект, 33.