Оглавление

Инструкция к прибору	<u>2</u>
1.1. Назначение и область применения анализатора	2
1.2. Технические характеристики	3
1.3. Состав анализатора.	4
Источник света	4
Specifications	5
[′] 1.4. Устройство и работа анализатора	6
Режимы работы прибора	7
Дополнительные возможности:	7
2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ	7
Порядок включения	7
Порядок работы	8
Порядок выключения	8
3. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	9
Перечень возможных неисправностей	9
Приложение 1	.10
Описание программного обеспечения	.10
Измерение	.12
Спектр	.12
Кинетика	.15
Поглощение	.16
Настройка	. <u>17</u>
Калибровка монохроматора	. <u>17</u>
Калибровка модулятора	.18
Калибровка оптической плотности	. <u>19</u>
Приложение 2	. <u>21</u>
Общие сведения о круговом (циркулярном) дихроизме	. <u>21</u>
Закон поглощения света	. <u>21</u>
Оптические свойства	. <u>21</u>
А теперь — по-нормальному	. <u>22</u>
Происхождение коэффициента 32.982 (3298.2).	. <u>23</u>
Коэффициент 100	. <u>24</u>
Шпаргалка для пересчёта из одних единиц в другие	. <u>24</u>
Стандарт для проверки работы прибора	. <u>25</u>
Данные, полученные с Кириллом Константиновичем (февраль 2020)	. <u>26</u>
Приложение 3	. <u>27</u>
Приготовление образцовых растворов	. <u>27</u>
А. Приготовление базового раствора камфорсульфоновой кислоты (КСК)	. <u>27</u>
Б. Приготовление растворов камфорсульфоновой кислоты для калибровки и	
тестирования портативного дихрометра СКД-2МУФ	. <u>27</u>

Инструкция к прибору

АНАЛИЗАТОР ЖИДКОСТИ

НА ПРИНЦИПЕ КРУГОВОГО ДИХРОИЗМА,

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ

СКД-2МУФ

Руководство по эксплуатации

2015 г.

Настоящее руководство по эксплуатации (далее - РЭ) предназначено для ознакомления с принципом действия, техническими данными и порядком работы при эксплуатации анализатора жидкости на принципе регистрации спектров кругового дихроизма, универсального СКД-2МУФ (далее - анализатор).

РЭ состоит из следующих частей:

- описание и работа;
- использование по назначению;
- техническое обслуживание;
- хранение.
 - 1. ОПИСАНИЕ И РАБОТА

1.1. Назначение и область применения анализатора.

Анализатор предназначен для регистрации спектров кругового дихроизма (КД) в биологических жидкостях в диапазоне длин волн 200 - 750 нанометров и измерения концентрации веществ, обладающих КД в указанном диапазоне.

Анализатор может быть использован в аналитических лабораториях для измерения концентрации биологически активных веществ (БАВ) и проведения научных исследований оптической активности БАВ в биологических жидкостях и средах.

Анализатор выпускается из производства как средство измерений концентрации п-пропиламмониевой соли d-10 камфорсульфоновой кислоты в водных растворах. При использовании анализатора для измерения концентрации других БАВ в биологических жидкостях и средах следует пользоваться рекомендациями Госстандарта России МИ 2531-99.

Анализатор является восстанавливаемым лабораторным анализатором периодического действия.

Вид климатического исполнения – группа УХЛ 4.2. по ГОСТ 15150-69. Условия эксплуатации:

- температура окружающей среды от +15 до +35°С;

- относительная влажность воздуха до 80% при температуре рабочих условий эксплуатации;

- атмосферное давление от 86.6 до 106.7 кПа.

Размеры, параметры, характеризующие условия эксплуатации анализатора, представлены в таблице 1.

Nº	Наименование параметра	Значение параметра
1	Напряжение питания переменного тока, В	220±22
2	Частота питающей сети, Гц	50±0.5
3	Полная потребляемая мощность, не более, ВА	400
4	Время установления рабочего режима, не более, час.	01.01.00
5	Продолжительность непрерывной работы, не более, час.	10
6	Рабочий диапазон температуры кюветы с дистиллированной водой, °С	12-80
7	Время вывода температуры раствора в кювете на нижний предел, не более, мин	15
8	Размер кюветы, мм	12×12×30
9	Габаритные размеры анализатора, не более, мм	550×355×25 0
10	Масса анализатора, не более, кг	20

1.2. Технические характеристики.

1.2.1. Основные технические характеристики приведены в таблице 2.

Таблица 2

Nº	Технические характеристики	Значения
1	Спектральный диапазон длин волн, нм	200-750
2	Спектральное разрешение по длинам волн, не более, нм	03.05.20
3	Погрешность установки длины волны, нм	±2
5	Время накопления сигнала, с	0.1-1000
6	Шаг сканирования по спектру, нм	0.1-100
7	Диапазон измерений концентрации n- пропиламмониевой соли d-10 камфорсульфоновой кислоты (КСК) в водных растворах, мкг/мл	3-150
8	Порог чувствительности при измерении концентрации КСК, не более, мкг/мл	01.05.20

9	Предел среднего квадратичного отклонения случайной составляющей допускаемой основной относительной погрешности должен быть не более, %	20
10	Пределы допускаемой основной относительной составляющей систематической погрешности	±20
11	Погрешность установления температуры в кювете, °С	±1

1.3. Состав анализатора.

1.3.1. Состав анализатора представлен в таблице 3

Таблица 3

N⁰	Наименование	Кол-во	Примечание
1	Дихрометр	1	
2	Кабель (сетевой и USB)	2	
3	РЭиМП	1	
7	Паспорт	1	
8	Ящик укладочный	1	
9	Комплект ЗИП согласно ведомости	1	
10	Ведомость ЗИП	1	

Эксплуатация анализатора предполагает совместную работу с персональным компьютером.

Общий вид анализатора с компьютером показан на рис.1

Источник света

Прибор умеет работать с тремя типами ксеноновых ламп:

- Hamamatsu L2273 150 W (150 W, Spectral distribution : 185 nm to 2000 nm, ozone free), похоже, что эта стоит (?) \$760
 - <u>http://www.yeint.ru/kontakty/</u> Офис: АО "ЮЕ-Интернейшил". Москва, Шоссе Энтузиастов, д34, офис В.4.1 (4 этаж) Индекс: 105118 Телефон: (495) 150-52-21 Факс: (495) 150-52-2;1 <u>L2273-ссылка</u>, цена — 80-90 т.р. +7-985-233-92-32, Евгений,
- XBO150W/4 Osram Sylvania <u>XBO150W/4</u> 150W Short Arc Xenon Lamp -\$412
 - Специалист- г. Москва, ст. метро "Полежаевская", "Хорошёвская" Улица 4-я Магистральная, дом 5, строение 1 Бизнес-центр "На Магистральной", Подъезд 1, офис 10 +7 (495) 767-87-07 +7 (495) 649-70-71 info@speclampa.ru; www.speclampa.ru, Константин, 27 000 руб+20% (от марта 2020 года, апрель 2020 - 31 500 руб), договор 30+70, от 1 месяца поставка
- Xenon Arc Lamp, 150 W, UV Enhanced Model: 6254 €691

Specifications

Hamamatsu L2273

Product Name	Xenon Lamp	
Lamp Rating	150 W	
Arc Length	2 mm	e . h
Lamp Current	8.5 +/- 0.5 A	ed o PN
Lamp Voltage	17 V	
Window Material	Fused Silica	5 1
Spectral Distribution (Short)	185 nm	0
Spectral Distribution (Long)	2000 nm	
Light Output Stability Drift Typ.	+/- 0.5 %/h	
Light Output Stability Fluctuation (p-p) Max.	1 %	
Guaranteed Operation Life	1800 h	
Average Life	3000 h	
Orientation	Vertical +/-15 o	r Horizontal +/-15 degree
Cooling Method	Convection Co	oling
Supply Voltage Min.	65 V dc	
Trigger Voltage	20 kV	
Weight	45 g	

Technical Specs - 6254

• Lam	р Туре	Xe, UV-Enhanced
_		

- Lamp Wattage 150 W
- Average life 1200 h
- Bulb Diameter 20 mm
- Effective Arc Size 0.5 x 2.2 mm
- Horizontal Intensity 300 cd
- Approximate Brightness 150 cd mm⁻²
- Approximate Flux 3000
- Lamp Current 7.5 A
- Lamp Voltage 20 V

1.4. Устройство и работа анализатора.

1.4.1. Принцип действия анализатора СКД-2МУФ.
1- Источник светового излучения; 3, 7 – зеркала; 4 – монохроматор; 5 – фильтр; 6, 10 – спектральная щель; 8 – линза; 9 – поляризационная призма; 11 – модулятор круговой поляризации, 12 - ячейка с
Рис. 1

Источник 1 светового излучения (рис.2) излучает 🕿 широкополосный световой поток, попадающий на вход монохроматора 4, на выходе которого излучается узкополосный световой поток определенной длины волны. Этот поток проходит через поляризатор 9, становится линейно поляризованным с заданным 14 направлением вектора поляризации И модулятора⁸ попадает оптический на вход поляризации 11, пройдя который он становится 10 периодически циркулярно поляризованным с 11 изменяющимся направлением вращения поляризации. Пройдя ячейку 12 с исследуемой пробой, обладающей свойством кругового дихроизма (КД), световой поток становится модулированным по интенсивности. Общие сведения о КД приведены в Приложении 2. Под действием модулированного по интенсивности света, прошедшего через ячейку, на выходе фотодетектора 14 электрический сигнал. переменная составляющая которого возникает пропорциональна величине КД, при этом частота переменной составляющей равна частоте модуляции поляризации излучения. С выхода фотодетектора 14 сигнал поступает на вход цифровой системы регистрации, на другой вход которой подается опорный сигнал с определенной частотой модуляции поляризации. В системе регистрации сигнал усиливается, фильтруется и передается в компьютер для обработки, после чего выводится на экран монитора. Интерфейсная плата на основе микроконтроллера осуществляет взаимолействие устройства, необходимое всех элементов накопление, предварительную обработку сигнала КД и передачу данных в компьютер, а также тестирование параметров систем анализатора.

1.4.2. Анализатор состоит из дихрометра и компьютера.

1.4.3. Дихрометр обеспечивает реализацию принципа действия анализатора, в котором присутствие и концентрация биологически активного вещества (БАВ) в

жидкости определяется путем измерения величины кругового дихроизма (КД), компьютер обеспечивает задание и алгоритм работы анализатора.

1.4.4. Управление работой анализатора производится программой «Дихрометр», разработанной специально для обслуживания анализатора. Программа работает в среде Windows 95 и более поздних версий Windows.

Режимы работы прибора

1.4.4.1. Программа «Дихрометр» позволяет осуществлять следующие режимы работы анализатора:

а) режим сканирования;

б) режим накопления;

в) режим вычитания базовой (нулевой) линии.

Дополнительные возможности:

а) накопление сигнала на двух произвольных длинах волн и определение разностного сигнала;

б) сканирование спектра на фоне нескольких (до 10), выбранных из архива спектров;

в) сохранение записанных спектров в рабочем (*.sav) и текстовом (*.txt) форматах с возможностью их экспорта в другие программы.

г) измерение параметров спектра по указанию маркера;

д) нахождение экстремумов на графике отсканированного спектра;

е) сглаживание полученного спектра по 3, 5 или 7 точкам;

ж) аппроксимация огибающей спектра полиномом;

з) распечатка спектров и экрана монитора с выводом основных параметров спектра;

Описание программы «Дихрометр» приведено в Приложении 1

2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

Порядок включения

۲

2.1. Порядок включения и работы анализатора.

STOP

<u>ВНИМАНИЕ!!!</u> Перед повторным включением прибора необходимо выдержать паузу не менее 10 минут.

<u>ВНИМАНИЕ!!!</u> Снизу прибора находится воздухозаборное отверстие, убедитесь, что туда не попадёт лист бумаги или иной предмет, иначе прибор может перегреться и выйти из строя.

2.1.1. Включение анализатора:

а) Соединить сетевой кабель с гнездом на задней панели дихрометра.

б) Соединить стандартным кабелем USB-вход компьютера с USB-выходом дихрометра.

в) Включить дихрометр включателем сетевого напряжения на задней панели.

г) На задней панели дихрометра должна загореться световая индикация включения сетевого напряжения. О готовности к работе прибора свидетельствует щелчок поджига лампы и начало работы вентиляторов. Прогреть в течение 1 час.

д) Включить компьютер.

е) Запустить программу «Дихрометр», кликнув «мышью»на ярлык с таким названием на рабочем столе (<u>если программа зависает при запуске</u>, надо зайти в её директорию и поискать LOG-файл, который нужно удалить, директорию можно узнать из свойств ярлыка на рабочем столе). Выбрать необходимый режим работы прибора согласно описанию программы (<u>Приложение1</u>)

Порядок работы

2.1.2 Порядок работы.

а) Работать с прибором в соответствии с описанием программы

б) При измерении КД исследуемое вещество в количестве 2 мл перенести пипеткой в кварцевую кювету. Кювету с исследуемым веществом помещать в кюветный отсек дихрометра, предварительно открыв его крышку на передней панели.

в) После окончания измерений вынуть кювету и промыть её дистиллированной водой.

Порядок выключения

ВНИМАНИЕ!!! При выходе из программы выберите пункт выключения лампы и дождитесь окончания задержи перед выключением прибора (см. ниже), иначе прибор может перегреться и выйти из строя.

2.2 Порядок выключения анализатора.

2.2.1. Выход из выбранной для работы программы производится кликом «мышью» на крестик в верхнем правом углу окна или на «Закрыть» в выпадающем меню.

2.2.2. Выключение прибора производится кликом «мышью» на крестик основного окна программы, за соответствующий запрос выберите "выключить лампу".

2.2.3. <u>По истечении паузы, указанной на экране монитора</u>, необходимо выключить дихрометр выключателем на задней панели. При этом световая индикация гаснет.

2.2.4. <u>Извлечь ячейку с исследуемым веществом</u> из кюветного отсека дихрометра.

2.2.5. Отключить компьютер.

3. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Перечень возможных неисправностей

3.1. Перечень возможных неисправностей в процессе использования анализатора и способы их устранения.

3.1.1. Если индикатор «Питание» не светится – необходимо отключить анализатор от сети и проверить целостность предохранителя, исправность сетевого кабеля питания и светового индикатора.

3.1.2. Если в процессе работы программа зависает, необходимо перезапустить Windows, снова войти в главную программу и продолжить работу. Если это не удается, тогда следует выключить прибор выключателем на задней панели, снова его включить и запустить головную программу.

<u>ВНИМАНИЕ!!!</u> Перед повторным включением прибора необходимо выдержать паузу не менее 10 минут.

3.1.3. В случае необходимости выйти из программы без выключения прибора (лампы), нужно войти в головную программу «Дихрометр» и кликнуть «мышкой» по крестику в правом верхнем углу экрана монитора. Затем ответить на вопрос и после выхода из программы можно перезагружать компьютер или производить работу с другими программами.

3.2. Перечень режимов работы анализатора, а также характеристики основных режимов работы и тестирование прибора приведены в разделе 1.4.4 (Программа «Дихрометр»).

3.3. Анализатор подлежит периодической поверке (калибровке) с помощью образцовых водных растворов камфорсульфоновой кислоты (<u>Приложение 3</u>).

Приложение 1

Описание программного обеспечения

Программа «Дихрометр» Версия 2.1 🥮

Программа «Дихрометр», предназначенная для управления прибором СКД-2МУФ, работает в среде Windows 98, Windows XP, Windows VISTA.

В рабочем каталоге (директории) располагается файлы:

- **Dichrometer.exe** исполняемая программа,
- **Dichrometer.ini** конфигурационный файл, содержащий информацию о настройках прибора,
- **Calibr_Hg.txt** текстовый файл со значениями длин волн спектра, используемого для калибровки монохроматора прибора,

Подкаталоги, содержащие отснятые спектры КД, могут размещаться как в рабочем каталоге, так и в любом другом месте по усмотрению пользователя.

Главный модуль

При обращении к программе Дихрометр на экране появляется окно главного

модуля. Общий вид модуля с открытыми окнами Настройки и Спектральное окно показан ниже на Рис.1Б. В этом окне сверху расположены команды главного меню. Запуск команд осуществляется кликом мышки на выбранной команде главного меню. На самой верхней строке окна, рядом с названием программы Дихрометр, отражается наличие связи с основным блоком прибора Дихрометр подключен или Дихрометр не подключен.



Меню главного модуля

- Измерение служит для открытия окон для работы со спектрами КД, наблюдения изменений сигнала КД на заданных длинах волн во времени и измерения поглощения (пропускания) образцов и имеет подменю:
 - Спектр открывает окно для сканирования нового КД спектра и просмотра ранее записанных спектров КД. Пользователь может открыть несколько окон для спектров, которым автоматически присваиваются порядковые номера, отображаемые в заголовке окна. Однако в любой момент времени с прибором будет работать только одно из них.
 - **Кинетика** открывает окно для наблюдения изменений сигнала КД на заданных длинах волн во времени.

- Поглощение-открывает окно для измерения поглощения (пропускания) образцов.
- Выход завершает работу программы.

Термостат – служит для визуального контроля температуры в кюветном отделении. В графическом окне отображается ход температуры на каждом из датчиков, размещённых на противоположных сторонах кюветного отделения и их среднее значение.

Настройка – открывает окно, содержащее подменю, организованное в виде закладок, позволяющее выполнить тестирование и калибровку функциональных узлов спектрометра: монохроматора, модулятора и системы регистрации (калибровка оптической плотности).

Язык – выбор языка программы. В настоящей версии можно использовать русский и английский языки.

Окно –содержит стандартное подменю для управления положением и видом открытых окон:

- Каскад
- Мозаика
- Следующее
- Предыдущее





Рис.1Б. Общий вид модуля с открытыми окнами Настройка и Спектральное окно.

Измерение.

Спектр

Командой Спектр из главного меню открывается <u>Спектральное окно</u>, которое позволяет создавать и просматривать спектры кругового дихроизма. Оператор может открыть несколько таких окон, однако в любой момент времени с прибором может работать только одно из них. Вид окна приведён на Рис.2Б. Окно содержит графическое поле, на котором собственно отображается спектр, панель инструментов, панель параметров сканирования, список загруженных спектров. При перемещении курсора по графическому полю на экране отображаются его координаты (над списком спектров).



Рис.2Б. Вид Спектрального окна

Панель инструментов находится над графическим полем. На панели инструментов расположены кнопки с пиктограммами (Рис.3Б). Описание кнопок приводится в соответствии с их расположением на панели инструментов слева направо.



Первые две кнопки имеют стандартные изображения, принятые в OC Windows: Открыть файл, Сохранить выделенный файл и в специальных пояснениях не нуждаются (Николай: ещё как нуждается! ^(*) ^(*)).

Важно! При нажатии на кнопку с **н** на панели инструментов программа предлагает сохранить данные с расширением ***.spr**. При этом сохраняются все необходимые данные (если вы хотите их потом повторно загрузить в программу): 1) данные КД

базовой линии и образца 2) данные, похожие на поглощение базовой линии и образца. Спектр КД образца с коррекцией по базовой линии при этом не сохраняется. Его можно сохранить отдельным файлом, если выбрать в окне сохранения тип данных *.dat. Имеет смысл сохранить отдельно базовую линию, используйте для этого кнопку Сохранить в разделе (см. рамку с именем) Базовая линия. Обратите внимание, что программа сохраняет только текущий эксперимент (графики, выделенные жирным), если у вас было более одной съёмки (более п-графиков при наличии п-галок в разделе Отображать: Базовая, Скан, Скан с учётом базовой), то перед сохранением желаемых данных их нужно выделить (ткнуть мышью — можно, но не надёжно, лучше выбрать нужные данные в списке под спектром, они там под номерами идут).

Для выполнения коррекции данных по базовой линии надо, чтобы стояла галка "Использовать базовую". Если нажать сканирование без записи базовой или галка снята, то спектр будет записан без коррекции по базовой линии.

Изнерение Дериостат Настройки Взык Доко		Вливьение Териостат Васкобии Влак Осно
R Онно спектра 0 - Оннодание		
		ДОхоло пос позделона - Охогдание
0 2/10000	Cxaesposars 7555200, HM	Citypestre 200
	Raysa Kraam and	0 Lose Karatooam Kores
	650	
	Пререать Шаг, нем	Report- Bar
	1	Ostreesona 2
	Harmonia of B	Havanowe, c/l0
		DTc6parewe 13
	HEADER I ADIO	С Поплошение Наданть линию
	10	СПропускание
	Scuteree, pag	Калифролочение силониет
	- Orefore manual liter and	950,1,2922
	🖓 Базовую линию 🔽 Принянить	
	🔽 Скан Длина волны, ни	
	500 State Company fam. 500	
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	Базовая линия	Длино волны Эннинии
	 Picholisadeans desdego isialado 	
	b abobas ikeeks Hatoctynea	Defaure Pagarmacourts Measure
	Приненить Сканировать	
	Ratoria Corperate	
	Удалить Загрузить	
nei III III III III III III III III III I	Использовать корр. пропусканием	He
0	P Reasons cerry	0
0 0	VCRO/6-005876-\$HH67D	0 0
		X = 0,0000 Y = 0,0000
	1	

Кнопка + (с крестом) позволяет при нажатии выбрать подходящий вид курсора: стрелка, маленький крест, большой крест. Следующие четыре кнопки определяют способ работы с изображением в графическом окне: увеличение выбранной части изображения (при нажатой левой клавише «мышки»), перемещение изображения в окне, увеличение масштаба отображения и уменьшение отображения вблизи курсора соответственно. При нажатии на следующую кнопку Ш отображается весь исходный спектр. Нажатие на кнопки с цифрами 3, 5 и 7 приводит к сглаживанию выбранного спектра по 3, 5 и 7 точкам соответственно.

Выделение одного из спектров, загруженных в графическом поле, может осуществляться одним из трёх способов: кликом «мышки» на графике в графическом окне, кликом на имени файла в списке после развертывания всего списка (после нажатия на значок треугольника справа от имени выделенного файла) или прокруткой колёсиком мышки после перемещения курсора на поле имени файла.

Панель параметров сканирования находится справа от графического поля и может быть скрыта при нажатии на значок >. Повторное нажатие возвращает панель в исходное состояние. На панели расположены кнопки:

- управления сканированием спектра:
 - Сканирование запуск сканирования по длине волны
 - Пауза
 приостановить сканирование
 - Прекратить (Прервать) прервать сканирование

- манипуляций базовой линией (кнопки расположены в функциональном поле Базовая линия):
- Сканировать - запись базовой линии ВНИМАНИЕ!!! При каждом открытии нового окна измерений из "Сканирование" (не меню важно. только что вы запустили/перезапустили программу целиком или вы просто закрыли окно со спектром и открыли его по-новому без закрытия самой программы) перед запуском записи базовой линии нижней кнопкой "Сканировать" из раздела "Базовая линия" обязательно пропишите 2 холостые точки (выберите диапазон 200-201 нм с шагом 1 нм) верхней кнопкой "Сканировать", <u>иначе программа зависает</u>. После записи холостого измерения его можно удалить кнопкой "Удалить" и начать сканировать базовой линии. Если программа зависла нажмите кнопку "Прервать", выйдите из программы без выключения лампы и подождите пару минут. Если при повторном запуске программы вылезает ошибка "Device is busy", то выйдите и подождите ещё немного (можно также попробовать отключить/включить USBшнур прибора, но только при закрытой управляющей программе).
- Применить использовать записанную (загруженную) базовую линию при записи новых спектров
- Сохранить сохранить базовую линию в файле
- Загрузить загрузить базовую линию из файла
- Извлечь использовать базовую линию выделенного спектра
- Убрать удалить базовую линию из выделенного спектра
- - удаления выбранного спектра:
- Удалить удалить выделенный спектр

Функциональное поле Отображать содержит маркеры

- Базовую линию базовая линия
- Скан спектр с базовой линией
- Скан с учетом базы спектр за вычетом базовой линии

Маркер <u>Использовать базовую</u> линию позволяет включать и отключать использование базовой линии при снятии спектра.

Поля для ввода параметров сканирования:

- Начало начальная точка сканирования
- Конец конечная точка сканирования
- Шаг шаг сканирования
- Накопление время измерений сигнала перед усреднением, выполняемого программой «Дихрометр»

• Поле Усилитель позволяет выбрать из списка фиксируемый изменяемый коэффициент усиления сигнала или установить режим автоматического подбора коэффициента усиления.

Кинетика

Командой **Кинетика** из главного меню открывается окно кинетика, которое позволяет проследить за изменением во времени величины сигнала КД интересующего образца на заданных длинах волн, а также заданных соотношений этих величин. Вид окна приведён на Рис.4Б. Окно содержит графическое поле, на котором собственно отображаются контролируемые величины и функции их соотношений, панель инструментов и панель параметров контроля.



Рис.4Б. Окно Кинетика.

На панели параметров контроля расположены: Кнопки

- Начать сканирование запуск измерений КД на заданных длинах волн,
- Сканировать в поле Базовая линия измерение базовых сигналов на заданных длинах волн.

Поля для задания параметров измерений

- Интервал задается интервал между измерениями
- Накопление задается время накопления в каждой временной точке
- Усиление задается усиление в процессе измерений
- Длина волны в этом поле отображаются заданные длины волн их обозначение
- Функция в этом поле отображаются заданные соотношений измеренных и их обозначение

- Новая длина волны для задания и удаления рабочих длин волн
- Новая функция для задания и удаления соотношений измеряемых величин

Поглощение

Командой **Поглощение** из главного меню открывается окно поглощения для отображения спектра поглощения (пропускания) образцов. Вид окна приведён на Рис.5Б. Окно содержит графическое поле, на котором отображается измеряемая величина, панель инструментов и панель параметров измерения.



Рис.5Б. Окно поглощения.

Панель параметров сканирования находится справа от графического поля На панели расположены кнопки:

- управления сканированием:

- Сканировать запуск сканирования по длине волны образца и последующим сканированием базы
- Калибровать запуск калибровки прибора по стандартному образцу с известным поглощением
- Прервать прекратить сканирование выйдя из режима сканирования
- Остановить приостановить сканирование на некоторое время
- Удалить удаление выделенного спектра поглощения в окне поглощения

- манипуляций калибровочными данными (кнопки расположены в функциональном поле Калибровочные значения):

• Добавить - ввод длины волны и соответсвующего ей коэффициента

поглощения стандартного образца

- Удалить удаление выделенной записи в поле Калибровочные значения

Поля для задания параметров измерений

- Начало задается начальная длина волны сканирования
- Конец задается конечная длина волны сканирования
- Шаг задается шаг сканирования
- Накопление задается время накопления в каждой точке измерения

В фунциональном поле Калибровочные значения

- Длина волны вводится длина волны
- Значение вводится значение коэффициента поглощения на введенной длине волны стандартного образца

Маркеры в поле **Отображение** позволяющие выбрать отображение либо поглощения либо пропускания в окне поглощения.

Настройка

Команда главного меню Настройка содержит три закладки, используемые для настройки спектрометра до снятия спектров кругового дихроизма:

- Калибровка монохроматора
- Калибровка модулятора
- Калибровка оптической плотности

Калибровка монохроматора

Калибровка монохроматора позволяет выполнить привязку положений дифракционной решётки монохроматора, выраженных в управляющих кодах механизма поворота решётки, к значениям получаемых при этом длин волн. Для этого выполняется сканирование хорошо известного спектра, например ртутной Источник спектра должен быть размещён перед входной щелью лампы. монохроматора. Параметры сканирования устанавливаются в файле Dichrometer.ini. Результат работы модуля также записывается в файл Dichrometer.ini и используется для работы всех остальных модулей программы. Данная операция выполняется, как правило, на этапе настройки спектрометра изготовителем. Вид закладки приведён на Рис.4Б.

В окне данного модуля в центре располагается графическое поле для отображения снимаемого спектра, вверху – панель инструментов и справа – кнопки управления и окно со списком табличных значений длин волн опорного спектра, загружаемые из текстового файла. Назначение и функционирование кнопок панели управления были описаны выше.

После нажатия кнопки Загрузить таблицу в диалоговом окне должно быть указано имя файла из которого будут загружены значения длин волн опорного спектра. Если такого файла нет, он может быть создан в текстовом редакторе. При калибровке монохроматора был использованы линии спектра ртути, записанного в файле Calibr Hg.txt.



Рис.6Б. Закладка Калибровка монохроматора

По команде **Прочитать спектр** осуществляется вращение дифракционной решётки и измерение сигнала на выходе монохроматора. В процессе сканирования программа увеличивает напряжение на фотоэлектронном умножителе при измерении слабых сигналов и уменьшает при измерении сильных, если выбрано автоматическое управление напряжением на ФЭУ. Сняв галочку в диалоговом поле **авто** и задав подходящее напряжении на ФЭУ в соответствующем поле и кликнув по кнопке **Set voltage** можно записать спектр при постоянном выбранном напряжении на ФЭУ Результат отображается в графическом поле в относительных единицах.

После завершения записи опорного спектра по команде Найти пики выделяются спектральные линии на записанном спектре. Линии можно также выделить поочередно кликая курсором на их максимумы. Далее посредством нажатия левой клавиши мыши оператор выделяет отмеченные линии и помечает галочкой соответствующие им значения длин волн, указанные в списке.

Команда **Применить** разрешает использование полученных результатов в текущем сеансе работы и сохранение их в файле **Dichrometer.ini** при выходе из программы. Предыдущая версия файла **Dichrometer.ini** сохраняется под именем **Dichrometer.ini.bak**.

Калибровка модулятора

Закладка Калибровка модулятора позволяет выполнить построение калибровочной прямой линии, используемой программой для управления работой модулятора круговой поляризации. Для нормального выполнения процедуры в спектрометр должен быть помещён образец (или образцы), имеющий достаточно сильный сигнал кругового дихроизма на длинах волн в различных частях

спектрального диапазона. В качестве таковых, например, могут использоваться гели ДНК+даумицин, ДНК+митаксантрон, камфорсульфоновая кислота. Вид закладки приведён на Рис.7Б.



Рис.7Б. Закладка Калибровка модулятора

В окне модуля располагаются два графических поля, панель инструментов, кнопки управления и диалоговые окна. Назначение и функционирование кнопок панели инструментов уже были описаны.

Левое графическое поле предназначено для отображения процесса определения оптимального кода управления модулятором на указанной в диалоговом поле длине волны (поле Длина волны). Эта длина волны устанавливается оператором с учётом спектра помещённого в прибор образца. Параметры накопления устанавливаются также как и в окне спектров. После установки длины волны, параметров накопления оператор нажимает кнопку Отобразить. Программа перестраивает монохроматор на заданную длину волны и изменяет коды управления модулятором от 0 до максимального значения. По завершении процесса и ввода команды Найти пик определяется значение кода, соответствующее максимуму сигнала кругового дихроизма. После нажатия кнопки > это значение переносится в правое графическое поле, отображающее калибровочную прямую. Процедура повторяется несколько раз для различных длин волн. Кнопка Удалить под правым графическим полем позволяет удалять выделенные мышкой точки. Кнопка **Применить** разрешает использование полученных результатов в текущем сеансе работы и сохранение их в файле **Dichrometer.ini** при выходе из программы.

Калибровка оптической плотности

Закладка Калибровка оптической плотности позволяет осуществлять калибровку измерительной системы спектрометра основанную на измерении сигнала эталонного образца. Она предназначена для вычисления и запоминания коэффициента пересчета измеряемого сигнала из единиц значения АЦП, умноженного на некий коэффициент, в величины оптической плотности. Этот коэффициент используется в окне спектра, и амплитуда сигнала в них выводится в единицах оптической плотности. Сигнал

измеряется в положении максимума (минимума) и в опорной точке; используется разность между этими значениями. Для измерения используются эталонные растворы. В качестве такового при калибровке часто используется камфорсульфоновая кислота (КСК). Измерения производятся в двух точках: первая главная соответствует длине волны максимума сигнала КСК – 291 нм, вторая опорная отстоит от максимума на 40-60 нм (330-350нм), где сигнал КСК равен нулю.



Рис.8Б. Закладка Калибровка оптической плотности

Закладка содержит графическое поле (справа), диалоговые окна для ввода параметров, кнопки управления. Значения длин волн указываются в диалоговых окнах Главная длина волны и Контрольная длина волны. Параметры накопления и усиления устанавливаются, как описано выше. В диалоговом окне Оптическая плотность указывается значение сигнала КД для используемого стандартного раствора КСК.

Процесс измерения сигнала дихроизма без эталонного образца на главной и опорной длинах волн запускается после нажатия оператором кнопки База. Процесс измерения с эталонным образцом на главной и опорной длинах волн запускается нажатием кнопки Образец. Результаты измерений и их разности отображаются на экране. После нажатия кнопки > вычисленное значение переносится в правое графическое поле, отображающее калибровочную прямую в виде точки. Описанную процедуру можно повторить несколько раз. Рекомендуется выполнить описанные действия с несколькими образцами, имеющими различную величину сигнала КД. Калибровочная прямая будет проведена по полученным точкам по методу наименьших квадратов. Точки, помещённые в графическом поле, можно выделять мышкой и удалять при нажатии на кнопку Удалить. Калибровочная прямая будет использована и сохранена в файле Dichrometer.ini (после завершения работы программы) после нажатия клавиши Применить. Старая калибровка будет сохранена в файле Dichrometer.ini.bak.

Приложение 2

Общие сведения о круговом (циркулярном) дихроизме

Закон поглощения света

Вещества, содержащие в своем составе хромофоры, поглощают свет в УФ- (200-350 нм) или видимой (350-800 нм) областях спектра. Поглощение света количественно описывается законом Бэра-Ламберта-Бугера:

 $A = Ig T = \varepsilon \times C \times L$ (1)

где: А - поглощение вещества, или его оптическая плотность;

T=I/I₀ - пропускание образца, т.е. отношение интенсивности света,

прошедшего через образец (I), к интенсивности падающего света (I₀);

L - толщина кюветы (см);

С - концентрация (обычно М, или моль/л);

є - величина, называемая молярным коэффициентом экстинкции [M⁻¹ см⁻¹], или [л/(моль×см)].

Из уравнения (1) следует, что молярный коэффициент экстинкции определяется при помощи следующего выражения:

$$\epsilon = A/(C \times L) \qquad (2)$$

Оптические свойства

Одним из оптических методов, достаточно широко используемых в органической и физической химии, а также в химии природных и физиологически активных соединений, является метод кругового дихроизма (КД). Круговой дихроизм характерен для оптически активных - хиральных веществ и надмолекулярных "окрашенных" холестерических жидких структур (в частности, кристаллов), обладающих оптической анизотропией. Он результате возникает В преимущественного взаимодействия света одной поляризации со спиральнозакрученной структурой хирального вещества или его асимметрическим центром.

<u>Плоскополяризованный</u> свет можно представить состоящим из двух векторных циркулярно-поляризованных компонент, вектор поляризации одной из которых закручен вправо (R), т.е. вращается в направлении движения по часовой стрелке, в то время как вектор поляризации другой - закручен влево (L), т.е. вращается в противоположном направлении. Компоненты с левой и правой круговыми поляризациями могут по-разному поглощаться (отражаться) при прохождении плоскополяризованного света через оптически активный образец. В этом случае возникает разность в коэффициентах экстинкции для векторов с правой (ε_R) и левой (ε_L) круговыми поляризациями. Эту разность и называют круговым дихроизмом.

Таким образом, круговой дихроизм является следствием дихроичного поглощения, характеризуемого разностью коэффициентов поглощения света,

циркулярно поляризованного влево и вправо.

Поскольку круговой дихроизм представляет собой разность поглощения света с левой и правой круговыми поляризациями,

$$\Delta \varepsilon = \varepsilon \times R - \varepsilon \times L$$

Из выражения (2) следует, что:

$$\Delta \epsilon = (A_R - A_L)/(C \times L) \quad (4)$$

где: A_R , A_L - поглощение света, соответственно, с левой и правой круговыми поляризациями. $\Delta \epsilon$ имеет размерность [M⁻¹ см⁻¹]. Спектры КД регистрируют при помощи дихрографов и спектрополяриметров.

Коммерчески доступные дихрографы и спектрополяриметры могут выдавать на выходе (ленте самописца или экране дисплея) генерируемый образцом оптический сигнал не только в единицах ΔA , но и в виде "эллиптичности" (Θ), измеряемой в градусах.

 $\Theta = 33 (A_R - A_L)$ [градусы] (5)

Коэффициенты **33** и **3300** являются округлёнными вариантами соотношений некоторых математических величин. При современных мощностях компьютеров разумнее использовать более точное их значение, округлённое по математическим правилам. Подробнее см. ниже в следующих главах.

Величину Θ часто превращают в молярную эллиптичность [Θ] по формуле:

$$[\Theta] = 100 \times \Theta/(C \times L) [град. × см2 × дмоль-1] ССЫЛКа (6)$$

[Θ] имеет размерность [град.×см²×дмоль⁻¹].Из уравнений (4-6) следует, что:

$$[\Theta] = \frac{3300}{\Delta \epsilon} \times \Delta \epsilon \quad (7)$$

Таким образом, спектр КД представляет собой зависимость величины $\Delta \varepsilon$ или молекулярной эллиптичности [Θ] от длины волны (λ). В спектре КД в области поглощения оптически активных хромофоров, имеющихся в молекуле, присутствует экстремум, который в зависимости от соотношения между величинами ε_L и ε_R может быть либо положительным, либо отрицательным.

А теперь — по-нормальному.

Данный прибор выдаёт сигнал в виде $\Delta A \times 1\ 000\ 000$ (микро оптическая плотность, $\Delta \mu A$). Для перевода из $\Delta \mu A$ в ΔA значение по оси Y надо разделить на 10⁶:

$$\Delta A=Y/1E6 \qquad (8)$$

$$\Delta A\equiv A_R-A_L \qquad (9)$$

$$\Delta A=(\epsilon_R-\epsilon_L)\times C\times L \qquad (10)$$

$$\Delta \epsilon=\epsilon_R-\epsilon_L \qquad (11)$$

ε – экстинкция [л/(моль×см)] — функция длинны волны, т. е. значение меняется в зависимости от той длины волны, которую мы вабрали; L – длина оптического пути [см]; C – концентрация [моль/л] или [M].

<u>Цитата:</u> Хотя <u>А</u> обычно <u>измеряется прибором</u>, по историческим причинам большинство измерений приведены <u>в градусах эллиптичности</u> - θ . Молярная эллиптичность круговой дихроизм с поправкой на концентрацию. Молярный круговой дихроизм и молярная эллиптичность, [θ], легко друг в друге с помощью уравнения:

 $\Theta = 32.982 (A_R - A_L)$ [градусы] (12)

 $[\Theta] = 3298.2 \times \Delta \epsilon \qquad [град. \times см^2 \times \underline{\Box}_{MOЛL^{-1}}] \qquad (13)$

[Θ] = 100× Θ /(C×L) или [град./(М×метр)] (14)

Отличие коэффициентов в уравнении 12, 13 от уравнения 7 и 5 в том, что в первом случае он более точно вычислен, когда как во втором он довольно грубо округлён.

Значения Θ (в связи с их малыми величинами) принято приводить в миллиградусах [m°], поэтому полученное значение по формуле (12) надо умножить на 1000. <u>Не</u> перепутайте, для расчёта молярной величины [Θ] значение Θ подставляется в градусах. У величины [Θ] размерность может быть в 2х типах единиц (см. примечание к формулам 13 и 14), при этом абсолютные значения получаются идентичны (подробности см. <u>ниже</u>).

Происхождение коэффициента 32.982 (3298.2).

Хотя ΔA обычно измеряется, по историческим причинам большинство измерений приведены в градусах эллиптичности (<u>ссылка</u>). Молярная эллиптичность круговой дихроизм с поправкой на концентрацию. Молярный круговой дихроизм и молярная эллиптичность, [θ], легко друг в друге с помощью уравнения:



$$[\theta] = 3298.2\,\Delta\varepsilon. \tag{15}$$

Эта зависимость получена путем определения эллиптичности поляризации, как:

поляризации, как: $an heta = rac{E_R - E_L}{E_R + E_L}$

 $\tan \theta = \frac{1}{E_R + E_L}$ (16), где E_R и E_L являются величинами электрического поля векторов в правой круговой и левой круговой поляризацией света, соответственно. Когда E_R равна E_L (если нет никакой разницы в абсорбция право- и лево-круговой поляризации света), $\theta = 0^\circ$ и свет <u>линейно поляризованный</u>. Когда либо E_R или E_L равна нулю (когда происходит полное поглощение круговой поляризации света в одном направлении), θ составляет 45°, а свет с <u>круговой поляризацией</u>. Как правило, круговой дихроизм эффект мал, поэтому tan θ мал и может быть аппроксимирован как θ в радианах. Так как <u>интенсивность</u> или <u>освещенность</u>, I, света пропорционален квадрату вектора электрического поля, эллиптичность становится:

$$heta(ext{radians}) = rac{(I_R^{1/2} - I_L^{1/2})}{(I_R^{1/2} + I_L^{1/2})} \, egin{array}{c} (17) \end{array}$$

Затем, заменив I, используя закон Бера в натуральный логарифм форме:

$$I=I_0 \times e^{-A \times \ln 10}$$
 (18)

Эллиптичность теперь можно записать в виде:

$$\theta(\text{radians}) = \frac{\left(e^{\frac{-A_R}{2}\ln 10} - e^{\frac{-A_L}{2}\ln 10}\right)}{\left(e^{\frac{-A_R}{2}\ln 10} + e^{\frac{-A_L}{2}\ln 10}\right)} = \frac{e^{\Delta A \frac{\ln 10}{2}} - 1}{e^{\Delta A \frac{\ln 10}{2}} + 1}$$
(19)

Так как $\Delta A \ll 1$, это выражение может быть аппроксимирована с помощью разложения экспоненты в <u>ряд Тейлора</u> первого порядка, а затем отбрасывая условия ΔA по сравнению с единицей, и преобразование из <u>радиан</u> в градусы (1радиан× $\pi/180$ = 57.2958°):

$$\theta(\text{degrees}) = \Delta A \left(\frac{\ln 10}{4}\right) \left(\frac{180}{\pi}\right)$$
 (20)

(ln 10/4)×(180/π)=<mark>32.982</mark>101949574248339275434248266

Соответственно, если умножить на 100 и округлить, то получаем: 3298.2.

Если хотите считать по оригинальной формуле (19) или (21) без приближений (в ней используются более медленные с вычислительной точки зрения операции, а ошибка в (20) по сравнению с (19) составляет доли процента), то вот она:

$$\theta = \frac{e^{\frac{\Delta A \times \frac{\ln 10}{2}}{2}} - 1}{e^{\frac{\Delta A \times \frac{\ln 10}{2}}{2}} + 1} \times \left(\frac{180}{\pi}\right) \quad \text{[degrees]}$$
(21)

Коэффициент 100

Откуда вылезает коэффициент 100 в формуле 14? Из иностранного источника становится ясно:

Following polarimetric conventions, molar ellipticity is reported in $\frac{\text{degrees} \times \text{cm}^2 \times \text{dmol}^{-1}}{\text{degrees} \times \text{M}^{-1} \times \text{m}^{-1}}$ which are equivalent units as shown below.

$$M^{-1}m^{-1} = \frac{1000.cm^3}{mol.100.cm} = \frac{10.cm^2}{mol} = cm^2 dmol^{-1}$$

Molar ellipticity can be calculated using the following equation:

$$[\theta] = 100 \times \theta / (C \times L)$$

C is the concentration in molar [mol/l], and L the cell pathlength in cm. The factor of 100 converts to pathlength in meters.

Шпаргалка для пересчёта из одних единиц в другие.

https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/CD%20practical%20guide.pdf

Units of CD Measurement

CD is reported in units of absorbance or ellipticity. Each of these can be normalized for molar concentration of the sample. The most direct data from the Olis CD instrument is absorbance (Abs(L)- Abs(R)). This value is often reported in milliabsorbance units (mA) or microabsorbance units (μ A), which are a thousandth of an absorbance unit.

CD data are commonly reported as ellipticity (θ), which is related to absorbance by a factor of **32.98** (θ =**32.98** Δ Abs). Ellipticity is usually reported in **millidegrees** (**mdeg** or **m**^o), which are a thousandth of a degree.

Molar ellipticity ($[\theta]$) is CD corrected for concentration. The units of molar ellipticity are <u>historical</u> (deg×cm²/dmol). Conversion from molar extinction (absorbance corrected for concentration) to molar ellipticity uses a factor of **3298** ($[\theta] = 3298\Delta\epsilon$). To calculate molar ellipticity, the sample concentration (g/L), cell pathlength (cm), and the molecular weight (g/mol) must be known.

If the sample is a protein, the mean residual weight (average molecular weight of the amino acids it contains) is used in place of the molecular weight, essentially treating the protein as a solution of amino acids.

From ↓ To →	Absorbance	Milliabsorbance ²	Molar Extinction ³	Degrees ⁴	Millidegrees⁵	Molar Ellipticity ⁶
(A)	А	A×1000	A×M/(C×L)	A×32.98	A×32980	A×M×3298/ (L×C)
(mA)	mA/1000	mA	A×M/ (C×L×1000)	mA×0.03298	mA×32.98	mA×M×3.298 / (L×C)
(3)	ε×C×L/M	ε×C×L×1000/M	M ε ε×C×L×32. /M		ε×C×L×329 80/ Μ	ε×3298
(°)	°/32.98	°/0.03298	°×M/ (C×L×32.98)		°×1000	°×M×100/ (L×C)
(m°)	m°/32980 m°/32.98 m°×M/ (C×L×32980) m°/1000 m° m°× (10×L					m°×M/ (10×L×C)
[Θ]	$ \begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$					
¹ Units are Absorbance (Abs) ² Units are milliabsorbance (mAbs) ³ Units are A×L/mol×cm ⁴ Units are degrees (°) ⁵ Units are millidegrees (m°) ⁶ Units are deg×cm2/dmol C is concentration in g/L M is average molecular weight (g/mol) L is path length of cell (cm)						

Стандарт для проверки работы прибора

CD calibration standard JASCO #7000-H127A CAS Number 3144-16-9 (1S)-(+)-10-NH4CSA, **D-Camphor sulfonic acid**, Ammonium d-10-camphorsulfonate





Рисунок X1. КД спектр KSK+ (**D-Camphor sulfonic acid**), C=6.46×10⁻³ [M], вода. Раствор готовил Кирилл Константинович.



Рисунок Х2. КД спектр KSK+ (**D-Camphor sulfonic acid**), C=0.6 [мг/мл] (C=2.58×10⁻³ [M]), вода . Данные взяты из справочника/инструкции к прибору Jasco.



Рисунок X3. КД спектр KSK+ (D-Camphor sulfonic acid, Рисунок X1), нормализованный по коэффициенту отношения концентраций k=6.46×10⁻³/2.58×10⁻³ [M/M] для сравнения с литературными данными, вода.

Приложение 3 -

Приготовление образцовых растворов

А. Приготовление базового раствора камфорсульфоновой кислоты (КСК)

$(C_{10}H_{16}O_4S, (1S)-(+)-Camphor-10-sulfonic acid, M = 232.3 g/mol, MERC-Schuchardt, Lot: S30176 147)$

А.1. Навеску КСК 75 мг, взвешенную на аналитических весах с точностью до 4 знака, помещают в мерную колбу (V = 50 мл) с узким горлом и растворяют в дистиллированной воде; доводят объем раствора до метки.

А.2. Раствор КСК по п. А.1. фильтруют для удаления механических примесей через нитроцеллюлозный фильтр с диаметром пор 1.5 мкм ("Synpor", Чехия) и хранят при комнатной температуре в колбе с притертой пробкой.

Таким способом готовят 50 мл базового раствора КСК № 1 заданной концентрации (С _{КСК} = 1.5 мг/мл ~ 6.46×10⁻³ М)[.]

Б. Приготовление растворов камфорсульфоновой кислоты для калибровки и тестирования портативного дихрометра СКД-2МУФ

Б.1. В узкой стеклянной пробирке (V = 10 мл) смешивают 1 мл раствора КСК, приготовленного по п.п. А.1.-А.2. (1 мл раствора № 1 отбирается из колбы с притертой пробкой шприцем дозатором с одноразовым наконечником), с 9 мл дистиллированной воды.

Таким способом получают 10 мл стандартного раствора № 2.

Описанную процедуру повторяют еще 4 раза, в результате чего в распоряжении Пользователя имеется 5 независимо приготовленных растворов № 2, концентрация КСК в которых составляет С _{КСК} = 150 мкг/мл ~ 6.46×10^{-4 М.}

Б.2. В узкой стеклянной пробирке (V = 10 мл) смешивают 1 мл раствора № 2 (1 мл раствора № 1 отбирается шприцем дозатором с одноразовым наконечником) с 9 мл дистиллированной воды.

Таким способом получают 10 мл стандартного раствора № 3.

Описанную процедуру повторяют еще 4 раза, в результате чего в распоряжении Пользователя имеется 5 независимо приготовленных растворов N_2 3, концентрация КСК в которых составляет С _{КСК} = 15 мкг/мл ~ 6.46×10^{-5} М⁻

Б.3. В узкой стеклянной пробирке (V = 10 мл) смешивают 2 мл калибровочного раствора № 3 с 8 мл дистиллированной воды.

Таким способом получают 10 мл калибровочного раствора № 4.

Описанную процедуру повторяют еще 4 раза, в результате чего в распоряжении Пользователя имеется 5 независимо приготовленных калибровочных растворов № 4, концентрация КСК в которых составляет $C_{\rm KCK} = 3 \, {\rm MKr/Mn} \sim 6.46 \times 2 \times 10^{-6} \, {\rm M}.$

Приготовленные по п.п. Б.1- Б.3 стандартные растворы КСК хранят при комнатной температуре в пробирках с притертыми пробками.

4.4. Расчет оптической плотности растворов КСК, приготовленных в соответствии с п.п. А.1 - А.2 и Б.1 - Б.3.

$$\begin{split} &\Delta \epsilon_{\rm KCK\ 290\ HM} = 2.39 \\ &\Delta \epsilon_{\rm KCK\ 290\ HM} = \Delta A/C_{\rm KCK,\ M} \\ &\Delta A = \Delta \epsilon_{\rm KCK\ 290\ HM} \times C_{\rm KCK,\ M} \\ &\Delta A_1 = 2.39 \times 6.46 \times 10^{-3} = 15.4394 \times 10^{-3} = 15439.4 \times 10^{-6} \sim 15440 \times 10^{-6} \text{ o.e.} \\ &\Delta A_2 = 2.39 \times 5.14 \times 10^{-4} = 15.4394 \times 10^{-4} = 1544 \times 10^{-6} \sim 1544 \times 10^{-6} \text{ o.e.} \\ &\Delta A_3 = 2.39 \times 5.14 \times 10^{-5} = 15.4394 \times 10^{-5} = 154.4 \times 10^{-6} \sim 154 \times 10^{-6} \text{ o.e.} \\ &\Delta A_4 = 2.39 \times 5.14 \times 210^{-6} = 30.8788 \times 10^{-6} \sim 31 \times 10^{-6} \text{ o.e.} \end{split}$$