

УДК 577(075.32)
ББК 28.072я723
КТК 188
П89

Рецензенты:

О. И. Аскалепова — доцент, кандидат
химических наук ЮФУ;
В. Э. Бурлакова — профессор,
доктор технических наук ДГТУ

Авторы:

Л. М. Пустовалова — заслуженный профессор РостГМУ,
профессор Российской академии естествознания,
доцент, кандидат медицинских наук;
И. Е. Никанорова — доцент кафедры химии РостГМУ,
кандидат химических наук

Пустовалова Л. М.

П89 Физико-химические методы исследования и техника лабораторных работ / Л. М. Пустовалова, И. Е. Никанорова. — Ростов н/Д : Феникс, 2020. — 300 с. : ил. — (Среднее медицинское образование).

ISBN 978-5-222-32929-0

Учебное пособие предназначено для студентов медицинских колледжей по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика» и преподавателей, ведущих данную учебную дисциплину. Пособие подготовлено в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта среднего профессионального образования, изложенными в Приказе Минобрнауки России от 11.08.2014 № 970 (ред. от 24.07.2015).

УДК 577(075.32)
ББК 28.072я723

ISBN 978-5-222-32929-0

ПРЕДИСЛОВИЕ

Постановлением Правительства РФ от 5 августа 2013 г. и Приказом Минобрнауки РФ от 11 августа 2014 г. № 970 (ред. от 24 июля 2015 г.) утвержден и введен в действие с 1 сентября 2014 г. Федеральный государственный образовательный стандарт среднего профессионального образования по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика».

Дисциплина «Физико-химические методы исследования и техника лабораторных работ» (ОП.06) относится к профессиональному циклу, включающему в себя общепрофессиональные дисциплины.

«Физико-химические методы исследования и техника лабораторных работ» — это базисная химическая дисциплина отделения «Лабораторной диагностики» медицинских колледжей, целью которой является обучение студентов теории и практике химического анализа; углубление знаний по прикладной химии с учетом профессиональной направленности, необходимых будущему специалисту для осмысленного изучения смежных дисциплин: методов лабораторных биохимических исследований, микробиологии, освоения и развития практических умений по проведению лабораторных исследований.

Основными задачами дисциплины являются: изучение учащимися принципов устройства лабораторий, организации работы в лаборатории, техники безопасности труда; освоение основных теоретических принципов и закономерностей проведения лабораторных исследований; освоение техники проведения лабораторного анализа.

В результате освоения дисциплины обучающийся должен **уметь**:

- подготовить рабочее место, посуду, оборудование для проведения анализов с соблюдением техники безопасности и противопожарной безопасности;
- выполнять основные операции, предшествующие или сопутствующие проведению лабораторных исследований;
- владеть практическими навыками проведения качественного и количественного анализа, методами, не требующими сложного современного оборудования;

- подготовить приборы к лабораторным исследованиям;
- работать на фотометрах, спектрофотометрах, иономер-рах, анализаторах;
- проводить калибровку мерной посуды, статистическую обработку результатов количественного анализа, оце-нивать воспроизводимость и правильность анализа.

В результате освоения дисциплины обучающийся дол-жен **знать**:

- устройство лабораторий различного типа, лаборатор-ное оборудование и аппаратуру;
- правила техники безопасности при проведении лабора-торных исследований в клинико-диагностических ла-бораториях различного профиля и санитарно-гигиени-ческих лабораториях;
- теоретические основы лабораторных исследований, ос-новные принципы и методы качественного и количе-ственного анализа;
- классификацию методов физико-химического анализа;
- законы геометрической оптики;
- принципы работы микроскопов;
- понятия дисперсии света, спектра;
- основной закон светопоглощения;
- сущность фотометрических, электрометрических, хро-матографических методов;
- принципы работы иономеров, фотометров, спектрофо-тометров;
- современные методы анализа;
- понятия люминесценции, флуоресценции;
- методики статистической обработки результатов коли-чественных определений, проведения контроля каче-ства выполненных исследований, анализа ошибок и кор-ректирующие действия.

В основу данного учебного пособия положен многолет-ний опыт авторов в проведении лабораторных занятий и исследовательской работы как в высшей медицинской школе, так и в медколледже Ростовского государственного медицинского университета.

Авторы будут признательны всем, кто пожелает выска-зать свои предложения по улучшению данного пособия для студентов медицинских колледжей.

Раздел

1

УСТРОЙСТВО МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ, ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ

ТЕМА 1.1

Виды медицинских лабораторий, организация работы

В системе здравоохранения важное место занимает клиническая лабораторная диагностика, поставляющая около 80% объема объективной диагностической информации, необходимой для своевременного принятия правильного клинического решения и контроля эффективности проводимого лечения.

Структура лабораторной службы в основном соответствует потребностям здравоохранения в лабораторной диагностике, обеспечивая проведение наиболее распространенных исследований (клинико-диагностические лаборатории общего типа), экстренное выполнение анализов (экспресс-лаборатории), а также производство наиболее сложных исследований (специализированные лаборатории).

Клинико-диагностическая лаборатория (КДЛ) является диагностическим подразделением лечебно-профилактического учреждения (ЛПУ) и создается на правах отделения.

Основными задачами КДЛ являются:

- проведение лабораторных исследований: общеклинических, биохимических, гематологических, иммунологических, цитологических, микробиологических, имеющих высокую точность и диагностическую надежность;
- оказание консультативной помощи врачам лечебных отделений в выборе наиболее информативных лабораторных тестов и трактовке данных лабораторных исследований.

Задачи, стоящие перед лабораториями, могут быть разными, но принципы организации работы в них остаются общими для всех лабораторий.

Сотрудники диагностических лабораторий

Работа в современных лабораториях требует определенной специализации и квалификации. Штат сотрудников включает специалистов с высшим и средним медицинским образованием. Руководство лабораторией осуществляется заведующим, назначаемым на эту должность главным врачом медицинского учреждения. Главной обязанностью сотрудников с высшим медицинским образованием является проведение в полном объеме всех необходимых исследований. Специалисты со средним медицинским образованием (медицинский технолог, медицинский лабораторный техник, лаборант) осуществляют всю подготовительную работу для исследований и под руководством врачей проводят часть лабораторных анализов. Структура диагностических лабораторий и функциональные обязанности сотрудников представлены на рис. 1.

Для работы в лаборатории необходимо выработать в себе ряд качеств, которые нужны для успешной профессиональной деятельности:

1. Важным требованием является *добросовестность*. Ко всякой работе в лаборатории нужно относиться с полной ответственностью.

Если в ходе работы возникает какая-то неясность, нужно обратиться за помощью к руководителю. Все исследования должны быть занесены в рабочий журнал. При сомнении в правильности проведения анализа (забыл добавить реактив; добавил больше положенного и т.п.) необходимо повторить анализ и сделать запись об этом в рабочем журнале.

2. Работа в лаборатории требует *внимательности*. Нужно быть очень внимательным при проведении исследований: строго следовать инструкциям, применять только те реактивы, которые указаны в руководстве. Большая внимательность требуется при работе со специальными приборами и аппаратами, при обращении с нагревательными

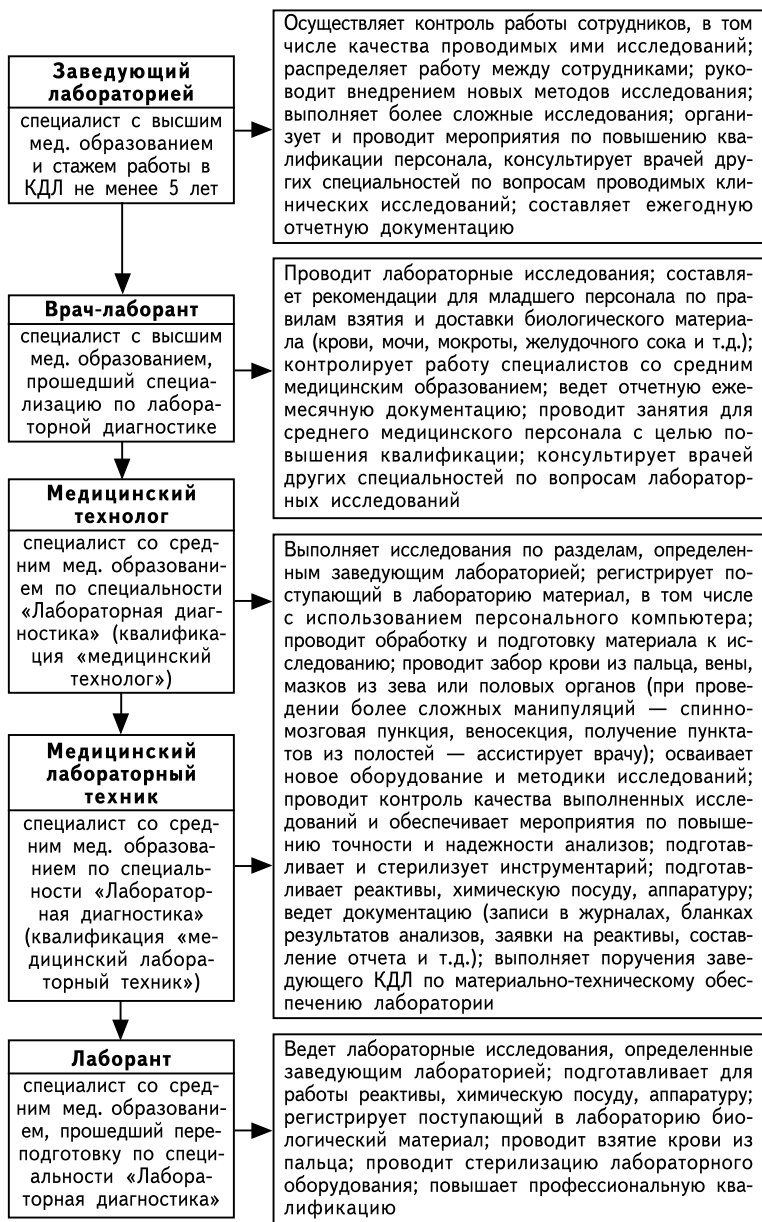


Рис. 1. Структура диагностической лаборатории и функциональные обязанности сотрудников

приборами, едкими и токсичными веществами, с инфицированным материалом. Внимательность требуется и при ведении документации и отчетности, при заполнении специальных бланков с результатами исследований.

3. Важно быть *наблюдательным*, научиться замечать мелочи, от которых зависит результат работы.

4. *Аккуратность* — одно из самых важных качеств медицинского работника, она должна всегда присутствовать в работе. Техник не должен допускать небрежности в работе. Все реактивы и растворы надо отмеривать точно; не допускать разлива исследуемого материала; аккуратно работать со стеклянной посудой.

5. Следует научиться *рационально использовать свое рабочее время*. При проведении однотипных анализов полезно организовать работу по принципу «конвейера». Например, сначала подготавливают материал для исследования, проводят серию однотипных анализов, записывают результаты в журнал и делают необходимые расчеты, а затем переходят ко второй серии анализов и т.д.

6. Наконец, *экономность*. Следует экономно расходовать все материалы, реактивы. Не нужно бесполезно тратить дистиллированную воду, электроэнергию, газ и т.п. Растворы следует готовить в количествах, не превышающих необходимый объем для исследований.

Важным условием нормальной работы в лаборатории является правильная *организация рабочего места*. Рабочее место медицинского техника представляет собой специальный лабораторный стол, на котором проводятся необходимые операции.

Рабочий стол лаборатории должен быть приспособлен к условиям работы: выше обычных столов, иметь полки, на которые ставят реактивные склянки и посуду. Обычно такой стол имеет несколько ящиков и шкафов, в которых хранят необходимые инструменты, приспособления, посуду, реактивы. Рабочее место должно быть хорошо освещено, для этого желательно располагать столы недалеко от окон и так, чтобы свет падал с левой стороны. Каждый лабораторный стол должен быть оснащен осветительными лампами, для наблюдения за проводимыми операция-

ми. Для этой цели лучше использовать лампы дневного света, которые дают достаточно света и удобны для наблюдения окрашенных растворов, микроскопирования.

Поверхность лабораторных столов должна иметь специальное покрытие, чтобы на него не действовали ни вода, ни реактивы. Нужно следить, чтобы на поверхность стола не попадали едкие вещества (конц. кислоты, щелочи). Под склянки с такими веществами следует класть стекло или подставки из специальных пластмасс, стойких к кислотам и щелочам.

Разлитые или рассыпанные реактивы следует сразу же убрать со стола. Если на стол пролиты едкие жидкости, то реактив следует сначала засыпать песком, а потом собрать песок дощечкой. После этого загрязненное место следует обмыть.

Лабораторный стол следует содержать в порядке и чистоте, чтобы посторонние вещества не попали в исследуемый материал и не исказили результатов анализа. Чистота рабочего места является важным условием в работе. Поверхность стола протирают дезинфицирующим раствором, полки и стоящие на них склянки вытирают влажной тряпкой.

Рабочее место нельзя загромождать лишней посудой и оборудованием, так как это мешает работе. На столах должно быть только самое необходимое для проводимых в данный момент анализов — посуда, реактивы, инструментарий. Остальная лабораторная посуда и инструментарий должны находиться в ящиках и шкафах стола.

Термометры, ареометры и другие стеклянные приборы хранятся в футлярах в ящиках лабораторных столов. Пипетки лучше держать в ящиках, имеющих отделения разных размеров. Стеклянные и металлические предметы (кольца, лапки, муфты) следует располагать в разных ящиках. В одном из ящичков, лучше всего в коробках, хранят пробки, причем корковые и резиновые отдельно.

Посуду и реактивы размещают в шкафах лабораторного стола. Стеклянную посуду раскладывают в шкафу на полках по размеру и по назначению, например, на нижних полках помещают колбы большего объема, на верхних —

колбы меньшего объема, отдельно располагают цилиндры, стаканы и т.д.

Для реактивов выделяют специальные полки и шкафы. На каждой склянке с реактивом должна быть этикетка с названием и формулой вещества. **Не допускается** хранить и использовать реактивы без четкой надписи. После проведения исследования следует все склянки с реактивами убрать на место.

Рабочий стол должен быть оборудован водопроводными кранами и водостокom. Один из кранов удобно приспособить для водоструйного насоса для фильтрования непосредственно на рабочем месте. Нужно помнить, что сливать органические жидкости, не смешивающиеся с водой, и едкие вещества в водосток **запрещается**. Для слива таких жидкостей в лаборатории должны быть емкости, из которых затем отработанные реактивы выносят в специальные места. Нельзя сливать в одну банку растворы кислот и щелочей, а также вещества, которые могут реагировать между собой с образованием ядовитых соединений.

Общие правила работы в лаборатории

1. С первых дней работы в лаборатории студент должен приучить себя к аккуратности и вниманию, отсутствие которых нередко бывает причиной искажения результатов эксперимента, а также может привести к несчастным случаям.

2. Во время проведения опыта на рабочем месте не должно быть ничего лишнего. Все предметы следует расставить в определенном порядке так, чтобы их было удобно брать, не задев стоящую рядом горелку, склянку с реактивом или прибор.

3. При выполнении практических работ все наблюдения нужно записывать в специальную тетрадь — лабораторный журнал — непосредственно после опыта. Не следует делать записи в черновиках и на отдельных листках бумаги, так как они могут легко затеряться.

4. В работе нужно пользоваться только незагрязненными реактивами, чистой посудой и приборами, промытыми дистиллированной водой.

5. Нельзя высыпать загрязненный реактив обратно в склянку с чистым реактивом.

6. Дорогостоящие, ядовитые и едкие реактивы после проведения с ними работы нельзя выливать в раковину, их нужно сливать в специальные склянки.

7. Выполняя опыты, нужно пользоваться растворами только указанной концентрации и соблюдать рекомендуемую дозировку. Не делать дополнительные опыты без разрешения преподавателя.

8. При всех несчастных случаях необходимо тотчас обратиться к лаборанту или преподавателю.

9. После окончания работы привести в порядок рабочее место.

ТЕМА 1.2

Техника безопасности при работе в лаборатории

1. Все опыты с ядовитыми и неприятно пахнущими веществами необходимо проводить в вытяжном шкафу.

2. При определении запаха газа или жидкости нужно осторожно вдыхать воздух, направляя рукой испарения от сосуда к себе.

3. При разбавлении крепких кислот вливать кислоту в воду, а не наоборот.

4. При наливании реактивов не наклоняться над сосудом во избежание попадания брызг на лицо и одежду.

5. Не наклоняться над сосудом с нагреваемой жидкостью, так как может произойти выброс содержимого колбы.

6. При нагревании пробирки нельзя держать ее открытую часть к себе или в сторону находящихся рядом товарищей.

7. В случае попадания на лицо или руки растворов кислот или щелочей, пораженный участок необходимо промыть большим количеством воды, а затем протереть слабым раствором соды для нейтрализации кислоты или слабым раствором уксусной кислоты — для нейтрализации щелочи.

8. Все опыты с легковоспламеняющимися летучими жидкостями проводить вдали от нагревательных приборов и в вытяжном шкафу.

9. При тушении загоревшегося бензина, спирта, эфира пользоваться песком или асбестированным полотенцем.

10. В случае ожога (пламенем горелки или нагретыми предметами) обожженное место смочить крепким раствором марганцовокислого калия.

11. Перед включением электрических приборов проверить их заземленность.

12. При отравлениях и сильных ожогах немедленно обратиться к врачу.

13. При работе со стеклянными приборами следует помнить о хрупкости стекла, не допускать битья посуды, так как это может привести к травмам.

14. При уходе из лаборатории проверить, закрыты ли краны водопроводной воды, выключены ли нагревательные электрические приборы.

Порядок выполнения практических работ

1. Предварительно прочитать соответствующие разделы учебника, записи лекций и ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

2. Не начинать работу, пока не проверено наличие всего необходимого (посуды, приборов, реактивов) для опыта.

3. При работе точно соблюдать порядок и последовательность операций, указанных в руководстве.

4. Соблюдать все необходимые меры предосторожности (в случае необходимости работать под тягой, осторожно работать с горючими и едкими веществами).

5. Внимательно следить за ходом опыта и замечать все его детали.

6. Запись всех наблюдений и уравнений протекающих реакций делать сразу же после окончания опыта в рабочей тетради.

7. В записи включают: дату; название практической работы; цель работы; необходимые материалы и оборудование; реактивы (для растворов веществ указать концен-

трацию); содержание работы (дать схему или рисунок прибора); уравнения реакций; расчеты и выводы. В рабочей тетради оставить поля для замечаний преподавателя.



Контрольные вопросы и задания

1. Укажите виды и назначение лабораторий.
2. Назовите правила работы в лабораториях.
3. Каковы правила организации рабочего места?
4. Каковы правила техники безопасности при работе с кислотами, щелочами, токсичными веществами?
5. Каковы правила дезинфекции в лаборатории?
6. Перечислите функциональные обязанности медицинского лабораторного техника.
7. Как оказывать первую медицинскую помощь при химических и термических ожогах, порезах?
8. Как соблюдать личную гигиену при работе в лаборатории?

Раздел

2

ЛАБОРАТОРНАЯ ПОСУДА, ОБОРУДОВАНИЕ, ХИМИЧЕСКИЕ РЕАКТИВЫ

ТЕМА 2.1

Виды лабораторной посуды, вспомогательных принадлежностей

Лабораторные операции — отбор проб, подготовка к анализу, приготовление растворов реактивов, нагревание, фильтрование осадков, проведение анализа и многое другое — требуют применения лабораторной посуды и вспомогательных приспособлений.

Посуду, используемую в лабораториях, можно разделить на несколько групп. По назначению посуда делится на посуду *общего, специального назначения и мерную*. По материалу, из которого изготовлена лабораторная посуда, ее можно разделить на посуду из простого стекла, специального стекла, кварца, фарфора, пластических масс.

Посуда общего назначения

К стеклянной посуде общего назначения относятся те предметы, которые всегда должны быть в лаборатории и без которых невозможно выполнить большинство работ. К такой посуде можно отнести: пробирки, воронки, стаканы химические, колбы конические и круглодонные, холодильники, капельницы, кристаллизаторы, промывалки.

Пробирки

Стеклянные пробирки представляют собой узкий цилиндрический сосуд с круглой или конической формой дна. Пробирки бывают различной формы, величины и диаметра: простые, градуированные, с отводами, а также центрифужные — конические. Простые пробирки (химические) выпускаются с развернутым рантом и без ранта (рис. 2).

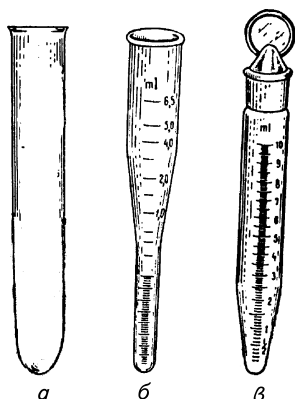


Рис. 2. Пробирки:

- а — простые;
- б — градуированные;
- в — центрифужные

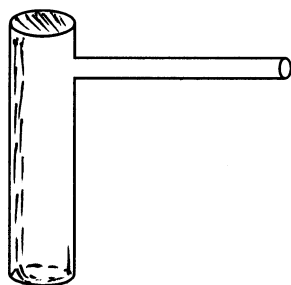


Рис. 3. Пробирка с боковым отводом

Круглодонные пробирки с пришлифованными пробками удобны для хранения препаратов и проведения некоторых работ. Круглодонные пробирки с боковым отводом предназначены для фильтрования под пониженным давлением небольших объемов жидкости (рис. 3).

Правила обращения с пробирками. При выполнении работ в пробирках реактивы не следует брать в большом количестве, обычно пробирки заполняют на $\frac{1}{8}$ – $\frac{1}{4}$ объема. Перемешивание жидкостей в пробирке осуществляют следующим образом: пробирку держат правой рукой ближе к горлышку и легким постукиванием ударяют ею о ладонь левой руки. Если пробирка наполнена жидкостью более чем наполовину, содержимое пробирки перемешивают стеклянной палочкой.

Если необходимо нагреть жидкость в пробирке, то для этого используют спиртовку. Пробирку закрепляют в держателе, подносят к пламени спиртовки и прогревают всю поверхность сосуда, чтобы избежать трещин на стекле. После этого содержимое пробирки медленно нагревают до появления пузырьков газа. Затем пробирку держат не в пламени спиртовки, а около него или над ним; при этом открытый конец пробирки должен быть обращен в сторону от экспериментатора. Нельзя допускать вскипания жидкости в пробирке, так как это может привести к «выбросу» содержимого. Когда не требуется нагрева до высокой температуры, пробирки лучше помещать в стакан с горячей водой.

Воронки для лабораторных работ

Стеклянные воронки общего назначения бывают лабораторные, делительные, капельные.

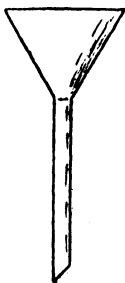


Рис. 4.

Воронка химическая

Лабораторные воронки (рис. 4), называемые также химическими или простыми, имеют конусообразную форму со срезанным длинным концом (угол конуса 60 градусов). Простые воронки служат для переливания жидкостей, для фильтрования при помощи вкладчатого фильтра. Химическая воронка для сыпучих веществ предназначена для переноса твердых веществ в колбы или склянки. Она отличается от обычной воронки более широким выходом.

Правила работы. При переливании жидкостей через воронку ее не следует наполнять до краев. При работе с воронкой надо следить, чтобы между горлышком сосуда и воронкой оставался зазор для выхода воздуха из колбы. Если воронка плотно прилегает к горлышку сосуда, то переливание будет затруднено. В этом случае рекомендуется проложить между воронкой и горлом сосуда полоску бумаги или поддерживать воронку левой рукой.

Делительные воронки (рис. 5) предназначены для разделения несмешивающихся жидкостей. Они бывают разной формы (цилиндрические, конические, грушевидные) и объема (от 50 мл до нескольких литров).

Воронки снабжены притертым стеклянным спускным краном и узким стеблем для сливания жидкостей. В конической делительной воронке лучше видна граница раздела между жидкостями.

Правила работы с делительными воронками. Перед началом работы необходимо проверить герметичность крана воронки. Для этого в воронку наливают небольшое количество эфира. Если

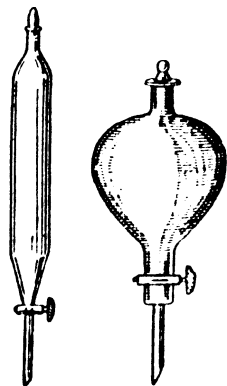


Рис. 5.

Делительные
воронки

кран «подтекает», необходимо добиться его герметичности. Для этого спускной кран смазывают уплотняющими смазками (например, вазелином) и притягивают его к корпусу воронки резиновым кольцом. Если при этом через кран воронки всё же просачивается жидкость, то такая воронка непригодна для работы и ее следует заменить другой.

При работе небольшие делительные воронки укрепляют в лапке металлического штатива. Большие же воронки помещают между кольцами лабораторного штатива, при этом нижняя часть воронки должна опираться на кольцо, диаметр которого меньше диаметра воронки, а диаметр верхнего кольца должен быть несколько больше диаметра воронки. Чтобы избежать растрескивания стекла, лапку или кольцо штатива следует обернуть асбестовым шнуром или надеть на них резиновую трубку.

При заполнении делительной воронки объем жидкостей не должен превышать $\frac{2}{3}$ объема воронки.

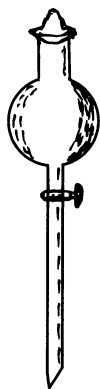


Рис. 6.
Капельная воронка

Для разделения жидкостей под делительную воронку ставят стакан или колбу и открывают спускной кран. По мере приближения границы раздела фаз кран постепенно закрывают, чтобы жидкость стекала медленно. В тот момент, когда последние капли нижнего слоя оказались в стакане (колбе), кран быстро перекрывают. Таким образом, верхний слой жидкости остается в воронке и его можно собрать в отдельный сосуд.

Капельные воронки отличаются от делительных тем, что они более легкие, тонкостенные и снабжены длинным стеблем (рис. 6).

Они предназначены для переливания жидкости в реакционный сосуд небольшими порциями или по каплям. Благодаря длинному узкому стеблю легко наблюдать за скоростью подачи жидкости.

Стаканы химические

Стаканы химические (рис. 7) представляют собой тонкостенные цилиндры, изготовленные из тугоплавкого или химически стойкого стекла, различной емкости, с носиком

и без носика. Стаканы используют как вспомогательные сосуды или для проведения простейших операций, где требуется посуда с широким горлом. В химических стаканах можно нагревать жидкости. Однако нагревать на голом пламени или на электрической плите с открытой спиралью нельзя — от этого они лопаются. Нагревание следует проводить через асбестовую сетку или на водяной бане.



Рис. 7.
Стакан
химический

Колбы

В лабораторной работе используются колбы круглодонные, конические, плоскодонные, грушевидные, остродонные, со взаимозаменяемыми шлифами и без них, различной вместимости. Колбы большинства типов имеют общее лабораторное назначение. Колбы специального назначения будут рассмотрены ниже.

Стекло, используемое для изготовления колб, может быть обычное, химически стойкое, термостойчивое. Колбы, изготовленные из специального стекла, на стенках или горлышках имеют отличительный знак в виде надписи или цветной полосы. Колбы отечественного производства имеют отличительные знаки в виде следующих надписей:

- ХС1 — химически стойкое 1-го класса;
- ХС2 — химически стойкое 2-го класса;
- ХС3 — химически стойкое 3-го класса;
- ТХС1 — термически и химически стойкое 1-го класса;
- ТХС2 — термически и химически стойкое 2-го класса;
- ТС — термически стойкое (не более 250 °С).

Стекло иностранного производства имеет следующие отличительные знаки: красная продольная полоса (тугоплавкое стекло), голубая полоса или голубая марка (кварцевое стекло относится к тугоплавким и малочувствительно к изменению температуры), коричневая полоса или коричневая марка (обладает высокой стойкостью).

Колбы, изготовленные из термостойкого стекла, можно нагреть до высоких температур (более 200 °С). В колбах из химически стойкого стекла можно держать агрессивные жидкости и проводить нагрев до 200 °С.

Физико-химические методы анализа широко распространены в лабораториях различного профиля. Эти методы отличаются низкими пределами обнаружения, экспрессностью, возможностью автоматизации технологических процессов.

Для проведения анализа требуются специальные приборы и оборудование, необходимый перечень которых имеется в любой клинико-диагностической лаборатории. При создании современных приборов и оборудования используются последние достижения приборостроения, электроники и вычислительной техники, которые значительно упрощают проведение различных видов анализа, делают их более точными и чувствительными.

Физико-химические методы анализа основаны на измерении физических характеристик определяемых компонентов в ходе химических превращений веществ.

В зависимости от того, какая физическая величина контролируется в ходе анализа, эти методы делятся на фотометрические, электрометрические, хроматографические.

Фотометрические методы анализа основаны на измерении светопоглощения, светоиспускания, светоотражения, угла вращения поляризованного света исследуемыми веществами.

В ходе **электрометрических методов** определяются различные электрические характеристики растворов: электродвижущая сила, электропроводность, сила тока и пр.

При **хроматографических** определениях исследуются различная адсорбируемость веществ в разных фазах, различная растворимость веществ в разных средах, ионная сила раствора и многие другие факторы.

ТЕМА 5.1

Фотометрические методы анализа

Фотометрические методы анализа используются в медицинских лабораториях для исследования состава и свойств биологических жидкостей, лекарственных веществ, токсинов,

пищевых продуктов. Эти методы базируются на способности жидких сред (растворов) взаимодействовать с электромагнитным излучением в ультрафиолетовой, видимой или инфракрасной областях спектра.

Известно несколько видов фотометрического анализа (рис. 95), которые отличаются между собой различным взаимодействием определяемых веществ со световыми волнами.

Нефелометрический анализ

Этот вид исследования проводится с целью определения концентрации, размера и формы диспергированных частиц в дисперсных средах.

Аппаратура для нефелометрических исследований представляет собой специализированные спектрофотометры для измерения интенсивности рассеянного света под углом к направлению падающего на раствор светового потока.

Первым способностью частиц рассеивать свет описал Дж. Рэлей (J. Rayleigh) более 100 лет тому назад. Суть этого явления заключается в том, что интенсивность и направление светового потока, рассеянного гомогенной взвесью частиц, зависят от размера частиц. Длины волн, используемые в большинстве нефелометров, находятся в диапазоне 340–650 нм.

Турбидиметрический метод анализа

Данный вид исследования мутных сред основан на измерении изменения интенсивности потока световой энергии, прошедшего через дисперсную систему. Изменение потока световой энергии вызвано как поглощением, так и рассеянием его дисперсной системой (рис. 96).

Преимущество турбидиметрического метода состоит в том, что измерения могут быть выполнены практически на любом колориметре или фотометре. Повышение чувствительности турбидиметрических исследований может быть достигнуто за счет использования спектрофотометров с высококачественными детекторами.

Основные компоненты, используемые в нефелометрических и турбидиметрических приборах, одинаковые и включают

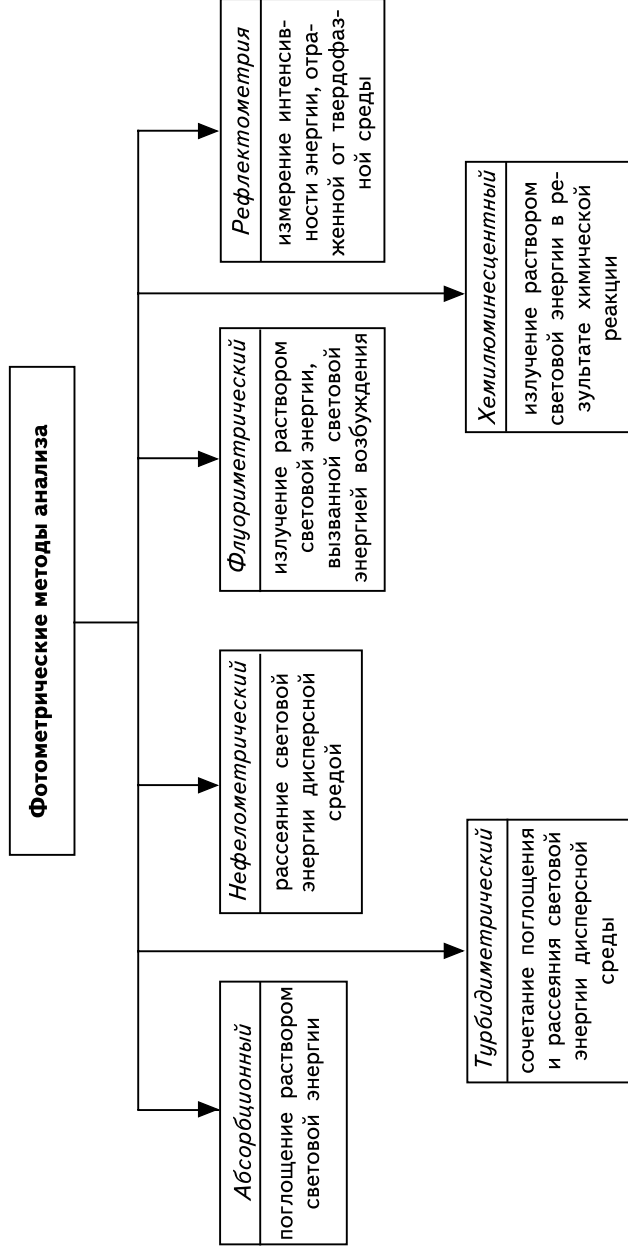


Рис. 95. Классификация фотометрических методов лабораторных исследований

источник света, фильтр и фокусирующую световой поток систему линз, кювету с образцом и детектор с устройствами отображения и регистрации результата. В качестве источника света обычно используют ртутные дуговые лампы, вольфрамово-йодистые лампы и гелий-неоновые лазеры. Лазеры излучают монохроматический свет, сконцентрированный в узкий и интенсивный луч.

В лаборатории может использоваться полуавтоматический анализатор — *турбидиметр* для определения, например, специфических белков в сыворотке, моче и цереброспинальной жидкости.

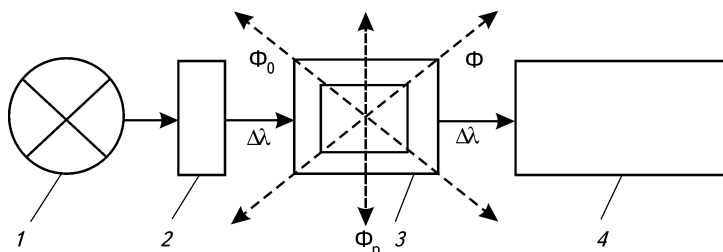


Рис. 96. Направление световых потоков при турбидиметрии:

- 1 — источник световой энергии (лампа); 2 — полосовой фильтр;
3 — кювета; 4 — фотоприемник; Φ_0 — падающий поток световой энергии;
 Φ_p — поток световой энергии, рассеянный жидкой дисперсной системой;
 Φ — поток световой энергии, прошедший через раствор;
 $\Delta\lambda$ — полоса пропускания светофильтра

Рефлектометрический анализ

Количественное определение содержания веществ на твердофазных носителях реактивов условно называется системами «сухой химии».

В этом методе измеряется интенсивность светового потока, отраженного от окрашенной поверхности носителя, которая, в свою очередь, зависит от концентрации исследуемой жидкой пробы. Определение изменения цвета окрашенной поверхности производится методом рефлектометрии (рис. 97).

В качестве носителя сухих реагентов выступают реагентные полоски, выполненные на специальной подложке. Они

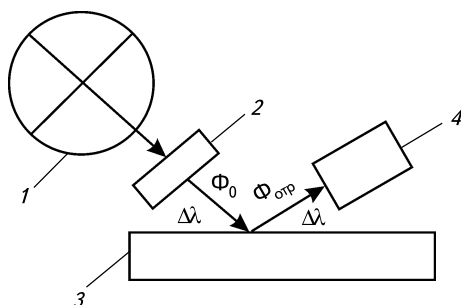


Рис. 97. Направление световых потоков при рефлектметрии:

- 1 — источник световой энергии; 2 — полосовой фильтр;
 3 — твердофазный носитель реактивов; 4 — фотоприемник;
 Φ_0 — падающий поток световой энергии;
 $\Phi_{отр}$ — отраженный поток световой энергии;
 $\Delta\lambda$ — полоса пропускания светофильтра

наиболее широко используются для экспресс-анализа мочи и крови.

Флуориметрический анализ

Если световая энергия, поглощенная атомами или молекулами, отдается ими в виде светового излучения, то такое явление называется *флуоресценцией*.

Спектр светового излучения многих веществ носит избирательный характер, зависящий от структуры и состава излучающего вещества.

Спектр излучения не зависит от длины волны возбуждающего света. Это правило показывает, что спектр флуоресценции характеризует исследуемое вещество и является основой для обнаружения и идентификации этих веществ.

Принцип работы флуориметра. Источником световой энергии возбуждения является *импульсная лампа*. Оптическая система — *конденсор* — формирует параллельный поток световой энергии, который фильтруется полосовым фильтром. Фильтр пропускает поток световой энергии с максимальной длиной волны λ_{max} в диапазоне длин волн $\Delta\lambda$, который попадает на кювету. Находящийся в кювете исследуемый раствор, поглотив часть энергии потока возбуждения, становится источником флуоресцентного излучения, которое контролируется фотоприемником (рис. 98).

Раздел

6

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Статистическая обработка результатов количественных определений

Аналитические измерения одной и той же величины по разным причинам могут иметь отличающиеся друг от друга значения, которые подчиняются закону распределения случайных величин Гаусса.

Графически закон Гаусса можно представить в виде кривой плотности вероятности нормального распределения (рис. 123), которая характеризуется математическим ожиданием α и средним квадратичным отклонением σ . Если проводить небольшое количество измерений, они случайно могут попасть на разные участки кривой Гаусса. При этом среднее значение величины x и стандартное отклонение S могут значительно отличаться от математического ожидания α и среднего квадратичного отклонения σ данного нормального распределения, являясь только их оценкой. По мере увеличения количества измерений величины x и S соответственно приближаются к величинам α и σ , характеризующим нормальное распределение. Абсолютно точные результаты анализа, соответствующие действитель-

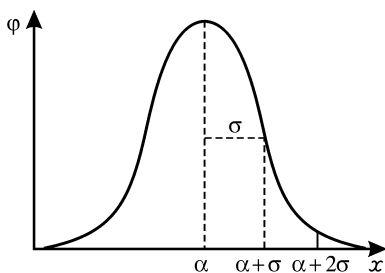


Рис. 123. Кривая плотности вероятности нормального распределения:

φ — плотность вероятности;
 x — значение величины

ности, можно получить, если проводить множество измерений, что практически невозможно. В реальных условиях определяют *воспроизводимость* анализа, которая зависит от количества измерений. Воспроизводимость вычисляется на основании нескольких параллельных анализов и характеризует случайные ошибки, возникающие при этом.

Воспроизводимость находят по формулам, рассматриваемым в курсе математической статистики. Алгоритм определения воспроизводимости приведен в табл. 10.

Таблица 10

**Формулы математической обработки
результатов анализа**

Вычисляемая величина	Расчетная формула
<p><i>Вычисление воспроизводимости:</i> а) среднее \bar{x}; б) стандартное отклонение s; в) относительное стандартное отклонение s_r; г) стандартное отклонение средней величины $s_{\bar{x}}$; д) доверительный интервал $ts_{\bar{x}}$; е) представление результатов анализа</p>	$s = \frac{\bar{x} = \sum x_i / n}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)}}$ $s_r = \frac{s}{x} 100$ $s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$ $ts_{\bar{x}} = s_x t_{0,95}$ $\bar{x} \pm ts_{\bar{x}} (a); \bar{x}; \frac{ts_{\bar{x}} 100}{\bar{x}} (б);$ $\bar{x} - ts_{\bar{x}} \div \bar{x} + ts_{\bar{x}} (в)$
<p><i>Сравнение двух методов анализа:</i> а) t-критерий (экспериментальный); б) число степеней свободы f</p>	$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{[(n_x - 1)s_x^2 + (n_y - 1)s_y^2](n_x + n_y)}{(n_x + n_y - 2)n_x n_y}}}$ $f = n_x + n_y - 2$
<p><i>Определение промахов:</i> а) Q-критерий (экспериментальный); б) определение промаха</p>	$Q_{\text{экс}} = \frac{x_{np} - x_a}{x_{\text{макс}} - x_{\text{мин}}}$ $Q_{\text{экс}} > Q_{\text{табл}}$

(x_i — отдельные измерения, n — количество измерений)

При расчетах воспроизводимости используют специальный t -критерий, определяющий ширину доверительного интервала, в котором может находиться результат анали-

за. Значения t -критерия находят по табл. 11, учитывая число степеней свободы и степень вероятности (0,95 или 0,99) нахождения результатов анализа в данном доверительном интервале.

Из табличных данных видно, что t -критерий (и ширина доверительного интервала) снижается при увеличении числа измерений. Поэтому при проведении анализа получают 5–6 единичных измерений, обеспечивая при этом необходимую воспроизводимость. Меньшее число измерений ухудшает воспроизводимость анализа.

Таблица 11

Значения t - и Q -критериев

t-критерий	$f = n - 1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	$t_{0,95}$	12,71	4,30	3,18	2,78	2,57	2,45	2,36	2,31	2,26	2,23
	$t_{0,99}$	63,70	9,92	5,84	4,60	4,03	3,71	3,50	3,36	3,25	3,17
Q-критерий	n	3	4	5	6	7	8	9	10		
	$Q_{0,95}$	0,91	0,77	0,64	0,56	0,51	0,48	0,44	0,42		
	$Q_{0,99}$	0,99	0,89	0,86	0,70	0,64	0,58	0,54	0,53		

Обработка результатов эксперимента

Графическое представление результатов эксперимента. Смысл многих анализов заключается в изучении взаимной зависимости некоторых переменных величин: концентрации вещества в растворе от времени, окраски раствора от концентрации и т.д. Графическое изображение экспериментально определенных зависимостей облегчает осмысливание результатов работы и во многих случаях позволяет извлекать дополнительную информацию.

График рекомендуется строить на миллиметровой бумаге. Масштабы на осях координат выбирают в зависимости от пределов, в которых измерены переменные величины. На график наносят экспериментально определенные значения функции, соответствующие значениям независимой переменной. Получается набор точек, в расположении которых имеется некоторая закономерность. Она выявляется при проведении плавной линии, следующей расположению точек, но не захватывающей их. Надо помнить, что линия выражает идеальную зависимость переменных, в то время как экспериментально полученные точки всегда разбросаны около линии за счет неизбежного наличия ошибок.

Погрешности и ошибки в количественном анализе

Величина допустимого отклонения, или доверительный интервал, устанавливается не произвольно, а вычисляется на основе конкретных данных измерений и характеристик используемых приборов. Отклонение результата отдельного измерения от истинного значения величины называется *абсолютной ошибкой определения*, или просто *ошибкой*. Отношение абсолютной ошибки к измеряемой величине называется *относительной ошибкой*, которую обычно выражают в процентах. Знание ошибки отдельного измерения не имеет самостоятельного значения, во всяком серьезно поставленном эксперименте должно проводиться несколько параллельных измерений, по которым и вычисляют ошибку эксперимента. Ошибки измерений в зависимости от причин их возникновения делятся на следующие виды:

1. *Систематические ошибки* — связаны, главным образом, с особенностями применяемого метода измерения или с недостатками используемого оборудования. При наличии систематической ошибки результаты измерения отклоняются от истинного значения: в одну сторону они оказываются либо завышенными, либо заниженными. Правильность измерения зависит от систематической ошибки. Совершенствование метода измерения, тщательная настройка приборов, мастерство экспериментатора позволяют сводить систематические ошибки к минимуму.

Систематические ошибки могут появляться, например, вследствие смещения шкалы термометра при градуировке, несоответствия массы разновески номинальной величине, изменения концентрации раствора химического вещества, неправильного хранения и снятия показаний приборов.

2. *Промахи*, или *грубые ошибки*, сильно искажают результаты измерений. Они получаются из-за неправильного отчета показаний прибора, ошибки при подсчете массы разновесок, поломки прибора и т.д. Промахи легко выявляются при проведении параллельных измерений. Резкое несовпадение одного из результатов с другими, полученными в таких же условиях, означает, что это промах. При обработке результатов измерений промахи во внимание не принимаются.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
РАЗДЕЛ 1. Устройство медицинских лабораторий, организация работы. Техника безопасности при работе в лаборатории	5
Тема 1.1. Виды медицинских лабораторий, организация работы	5
Сотрудники диагностических лабораторий	6
Общие правила работы в лаборатории	10
Тема 1.2. Техника безопасности при работе в лаборатории	11
Порядок выполнения практических работ	12
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	13
РАЗДЕЛ 2. Лабораторная посуда, оборудование, химические реактивы	14
Тема 2.1. Виды лабораторной посуды, вспомогательных принадлежностей	14
Посуда общего назначения	14
Посуда специального назначения	29
Мерная посуда	32
Уход за лабораторной посудой	46
Лабораторные вспомогательные принадлежности	55
<i>Контрольные вопросы</i>	57
Тема 2.2. Виды лабораторного оборудования	58
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	64
Тема 2.3. Методы микроскопии, техника микроскопии	65
Устройство различных видов микроскопов	65
Техника микроскопирования	69
Специальные методы световой микроскопии	72
Электронная микроскопия	73
Приготовление препаратов для микроскопирования	75
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	76
Тема 2.4. Правила фильтрования и центрифугирования	76
Фильтрование	76

Центрифугирование	85
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	86
Тема 2.5. Правила хранения, применения различных химических реактивов	87
Марки химических реактивов.	
Техника безопасности при использовании химических реактивов	87
Методы очистки химических реактивов	91
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	95
Тема 2.6. Виды лабораторных весов.	
Техника взвешивания	96
Виды и устройство весов. Правила взвешивания на теххимических и торсионных весах	96
<i>Контрольные вопросы</i>	100
Аналитические весы. Правила взвешивания	100
<i>Контрольные вопросы</i>	111
РАЗДЕЛ 3. Растворы	112
Тема 3.1. Приготовление растворов различной концентрации	112
Расчеты и техника приготовления растворов технических концентраций	121
Расчеты и техника приготовления растворов аналитической концентрации	121
Приготовление растворов из фиксажей	123
Измерение температуры и плотности растворов	124
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	132
РАЗДЕЛ 4. Основы химического анализа	134
Тема 4.1. Основы качественного анализа	134
Деление ионов на аналитические группы	141
Классификация анионов	175
Анализ вещества неизвестного состава	178
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	183
Тема 4.2. Основы количественного анализа	183
Весовой гравиметрический метод анализа	183
<i>Контрольные вопросы</i>	192
Объемный титриметрический метод анализа.	
Основные положения титриметрического анализа	192
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	221

РАЗДЕЛ 5. Физико-химические методы анализа	223
Тема 5.1. Фотометрические методы анализа	223
Нефелометрический анализ	224
Турбидиметрический метод анализа	224
Рефлектометрический анализ	226
Флуориметрический анализ	227
Хемилюминесцентный метод анализа	228
Абсорбционный метод анализа	229
Фотоэлектроколориметрия	232
Спектрофотометрический метод анализа	239
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	246
Тема 5.2. Электрометрические, оптические, хроматографические методы анализа	246
Ионометрический метод анализа	246
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	258
Хроматографический метод анализа	258
Электрофорез	265
Оптические методы анализа	267
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	274
РАЗДЕЛ 6. Метрологическая характеристика методов анализа	275
Статистическая обработка результатов количественных определений	275
Погрешности и ошибки в количественном анализе ...	278
Тема 6.1. Внутрिलाбораторный контроль качества количественных определений	280
<i>Контрольные вопросы и задания</i>	291
ЛИТЕРАТУРА	293
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	295