

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**

**Приладобудівний факультет**

**Кафедра наукових, аналітичних та екологічних приладів і систем**

«На правах рукопису»  
УДК \_\_\_\_\_

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

\_\_\_\_\_ Защепкіна Н.М.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**Магістерська дисертація**

**на здобуття ступеня магістра**

**зі спеціальності 152 «Метрологія та інформаційно-вимірвальна техніка»**

**на тему: «Вдосконалення визначення масової частки вітамінів групи А та D  
в соняшниковій олії»**

Виконав:

Студент VI курсу, групи ПН-71м

Музика М.О. \_\_\_\_\_

Керівник:

к.т.н., ст. в. Таранов В.В. \_\_\_\_\_

Консультант з «Розроблення стартап-проекту»:

к.е.н., доцент Бояринова К.О. \_\_\_\_\_

Рецензент:

доцент Аврутов В.В. \_\_\_\_\_

Засвідчую, що у цій магістерській  
дисертації немає запозичень з праць  
інших авторів без відповідних  
посилань.

Студент \_\_\_\_\_

Київ – 2018 року

Національний технічний університет України  
“Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського”

Факультет приладобудівний  
Кафедра наукових, аналітичних та екологічних приладів і систем  
Освітній ступінь “магістр”  
Галузь знань 15 - Автоматизація та приладобудування  
Спеціалізація 151 - «Інформаційно-вимірювальні системи та технології  
екологічного моніторингу»

“ЗАТВЕРДЖУЮ”  
Завідувач кафедри  
\_\_\_\_\_ Защепкіна Н.М.

\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2018 р.

ІНДИВІДУАЛЬНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ПЛАН  
НА ДРУГИЙ РІК НАВЧАННЯ  
МАГІСТРАНТА МУЗИКИ МАКСИМА ОЛЕКСАНДРОВИЧА

1. Тема дисертації «Вдосконалення визначення масової частки вітамінів групи А та D в соняшниковій олії», затверджена наказом по університету від “\_\_” \_\_\_\_\_ 2018 р. №\_\_
2. Термін здачі оформленої дисертації “12” грудня 2018 р.
3. Об’єкт дослідження – напівпровідникові фотодетектори в якості первинних перетворювачів реєстрації квантового виходу люмінесценції.
4. Предмет дослідження – процес реєстрації вмісту вітамінів групи А та D в соняшниковій олії, її кількісний і якісний аналіз.
5. Перелік питань, які мають бути досліджені.
  - 5.1 Теоретичні дослідження:
    - 5.1.1 Провести огляд методик виявлення вітамінів груп А та D та їх інформативних параметрів, що базуються на основі спектрофотометричних (оптично стимульована люмінесценція або фото-стимульована люмінесценція) методах дослідження хімічних речовин.
    - 5.1.2 Провести огляд та дослідження характеристик малогабаритних напівпровідникових фотодетекторів, придатних для використання у якості первинних перетворювачів для реєстрації інформативних показників вітамінів груп А та D в соняшниковій олії методами оптично стимульованої люмінесценції.

5.1.3 Виконати порівняльний аналіз і підбір фотодетекторів, придатних до використання у якості первинних перетворювачів.

5.1.4. Виконати дослідження математичної моделі експериментальної установки відповідно до умов експерименту.

5.1.5. Виконати аналіз шляхів вдосконалення підходів до використання малогабаритних напівпровідникових фотодетекторів у якості первинних перетворювачів для реєстрації та ідентифікації вибраних органічних сполук методами оптично стимульованої люмінесценції.

5.2 Експериментальні дослідження:

5.2.1 Розробити алгоритм та структурну схему експериментальної установки реєстрації квантового виходу люмінесценції об'єкту досліджень.

5.2.2 На базі навчально-наукової лабораторії кафедри НАЕПС провести аналіз та узагальнення результатів, отриманих при проведенні досліджень.

6. Перелік публікацій:

6.1 Опублікувати 1 статтю в науковому журналі.

6.2 Підготувати 1 доповідь на конференції із публікацією тез.

7. Перелік ілюстративного матеріалу (3 арк.)

7.1 Результати апробації вибраних первинних перетворювачів згідно умов експерименту.

7.2 Алгоритм проведення вимірювань та структурна схема стенда для визначення вмісту вітамінів груп А та D в соняшниковій олії люмінесцентним методом.

8. Педагогічна практика

8.1 Прийняти участь в обговоренні 2-х курсових робіт з дисципліни «Метрологічне забезпечення ІВС».

8.2. Провести під контролем викладача лабораторне заняття з дисципліни «Метрологічне забезпечення ІВС».

Дата видачі

“\_\_\_” вересня 2018 р.

Науковий керівник

\_\_\_\_\_ В.В. Таранов

Прийняв до виконання

\_\_\_\_\_ Музика М.О.

## 9. Консультанти розділів дисертації

| Розділ  | Прізвище, ініціали та посада консультанта         | Підпис, дата   |                  |
|---|---|----------------|------------------|
|   |   | завдання видав | завдання прийняв |
| Розділ 5. Стартап проект «Розробка пристрою та методу визначення кількісних та якісних показників хімічних сполук в багатокомпонентних системах люмінесцентним методом» | Бояринова К.О., кандидат економічних наук, доцент |                |                  |

10. Дата видачі завдання “ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2018 р.

### Календарний план

| № з/п | Назва етапів виконання магістерської дисертації   | Термін виконання етапів магістерської дисертації | Примітка |
|-------|---|--|----------|
|       | Огляд та аналіз наукових праць із теми досліджень   | 15.09.2018                                       |          |
|       | Провести огляд методик виявлення вітамінів груп А та D в соняшниковій олії що базуються на основі спектрофотометричних (фотостимульована люмінесценція) методах дослідження хімічних речовин.   | 01.10.2018                                       |          |
|       | Виконати порівняльний аналіз і підбір фотодіодів та фотодіодних матриць придатних до використання у якості первинних перетворювачів.  | 15.10.2018                                       |          |
|       | Провести аналіз та підбір напівпровідникових джерел освітлення придатних в якості УФ-джерела збудження люмінесценції  | 25.10.2018                                       |          |
|       | Виконати аналіз шляхів вдосконалення підходів до використання фотодіодів та фотодіодних матриць у якості первинних перетворювачів для реєстрації та ідентифікації вітамінів груп А та D в соняшниковій олії методами оптично стимульованої люмінесценції. | 01.11.2018                                       |          |
|       | Розробка структурної схеми стенду для експериментальної перевірки характеристик пропонувананих первинних перетворювачів.  | 07.11.2018                                       |          |
|       | Розробка методу та способу реєстрації квантового виходу люмінесценції слаболюмінесціюючих сполук  | 21.11.2018                                       |          |
|       | Проведення комплексу спектрофотометричних досліджень  | 30.11.2018                                       |          |
|       | Аналіз та узагальнення отриманих результатів  | 05.12.2018                                       |          |

Дата видачі

“ \_\_\_ ” вересня 2018 р.

Науковий керівник

\_\_\_\_\_ В. В. Таранов

Прийняв до виконання

\_\_\_\_\_ М. О. Музика

## РЕФЕРАТ

**Актуальність теми.** Одним з перспективних напрямків масложирової промисловості і її інноваційного розвитку є розробка нових технологій отримання та переробки рослинних масел, що дозволяють отримувати масла з високою харчовою і біологічною цінністю.

Соняшникова олія має невисокий вміст ретинолу, а вміст ергокальциферола в ній дуже малий. Тому біологічна цінність соняшникової олії може бути істотно підвищена за рахунок збагачення її природними комплексами рослинних каротиноїдів і ергокальциферолів.

Запропонований нами метод визначення масової частки вітамінів групи А, D методом фото стимульованої люмінесценції є перспективним в умовах лабораторії та підприємств, що дозволяє контролювати та визначати масову частку вітамінів групи А, D при технологічному процесі.

**Об'єкт дослідження** – напівпровідникові фотодетектори в якості первинних перетворювачів реєстрації квантового виходу люмінесценції.

**Предметом дослідження** є процес реєстрації вмісту вітамінів групи А та D в соняшниковій олії, її кількісний і якісний аналіз.

**Мета роботи** вдосконалення методу визначення масової частки вітамінів групи А, D в соняшниковій олії, та розробка макету вимірювальної установки придатної для проведення кількісного та якісного аналізу.

**Методи дослідження.** Дана робота присвячена вдосконаленню методу визначення вмісту вітамінів групи А та D в соняшниковій олії методом фото стимульованої люмінесценції.

**Наукова новизна** роботи полягає у вдосконаленні методик та приладів реєстрації вмісту вітамінів групи А та D в соняшниковій олії, її кількісний і якісний аналіз.

**Апробація роботи.** Результати роботи висвітлені в наступних статтях, що пройшли апробацію та знаходяться на стадії публікації:

1. Защепкіна Н.М. Застосування люмінесцентних методів аналізу в експрес-метрії сортів олив. /Н.М. Защепкіна, В.В.

Таранов, О.А. Наконечний, М.О.Музика// Міжнародна науково-технічна конференція «Інженерія та технології: наука, освіта, виробництво». м. Луцьк, 15-15 листопада 2018 р. ЛНТУ. – С. 91-94.

2. Музика М.О., Кулик Н.В. Експрес-метрія моторної оливи засобами оптичної спектроскопії. / Музика М.О., Кулик Н.В. // XIV Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Ефективність інженерних рішень у приладобудуванні». м. Київ, Україна, 4-5 грудня 2018 р. НТУУ «КПІ ім. Ігоря Сікорського». – С. 196-199.

3. Музика М.О., Кулик Н.В. Вдосконалення засобу визначення кількісних параметрів сполук ліпідної природи в водних та спиртових дисперсних системах маловідомого складу люмінісцентними методами аналізу/ Музика М.О., Кулик Н.В. // Міжнародна науково-практична конференція «Теоретичні та прикладні аспекти розвитку науки», м. Київ, 11-12 грудня 2018 року. НТУУ «КПІ ім. Ігоря Сікорського» [Прийнято до редакції (received) 11.12.2018].

**Структура та обсяг роботи.** Робота складається із вступу, чотирьох розділів, висновків, 43 рисунків, 24 таблиць, списку використаних джерел із 32 позицій. Загальний обсяг роботи – 125 сторінки, з яких основна частина викладена на 122 сторінках.

**Ключові слова:** вдосконалення методу, люмінесцентний метод, фотодіод, спектрофотометрія, довжини хвиль, спектрофотометр, вітаміни, ретинол, ергокальциферол.

## РЕФЕРАТ

**Актуальность темы.** Одним из перспективных направлений масложировой промышленности и ее инновационного развития является разработка новых технологий получения и переработки растительных масел, позволяющие получать масла с высокой пищевой и биологической ценностью.

Подсолнечное масло имеет невысокое содержание ретинола, а содержание эргокальциферола в нем очень мало. Поэтому биологическая ценность подсолнечного масла может быть существенно вознесется за счет обогащения ее природными комплексами растительных каротиноидов и эргокальциферолов.

Предложенный нами метод определения массовой доли витаминов группы А, D методом фото стимулированной люминисценции является перспективным в условиях лаборатории и предприятий, позволяет контролировать и определять массовую долю витаминов группы А, D при технологическом процессе.

**Объект исследования** – полупроводниковые фотодетекторы в качестве первичных преобразователей регистрации квантового выхода люминесценции.

**Предметом исследования** является процесс регистрации содержания витаминов группы А и D в подсолнечном масле, ее количественный и качественный анализ.

**Цель работы** совершенствование метода определения массовой доли витаминов группы А, D в подсолнечном масле, и разработка макета измерительной установки пригодной для проведения количественного и качественного анализа.

**Методы исследования.** Данная работа посвящена совершенствованию метода определения содержания витаминов группы А и D в подсолнечном масле методом фото стимулированной люминисценции.

**Научная новизна** работы заключается в совершенствовании методик и приборов регистрации содержания витаминов группы А и D в подсолнечном масле, ее количественный и качественный анализ.

**Апробация работы.** Результаты работы освещены в следующих статьях, прошли апробацию и находятся на стадии публикации:

1. Зацепкина Н.М. Применение люминесцентных методов анализа в экспресс-метрии сортовых качеств моторных масел. /Н.М. Зацепкина, В.В. Таранов, А.А. Наконечный, М.О.Музыка // Международная научно-техническая конференция «Инженерия и технологии: наука, образование, производство». м. Луцк, 15-15 ноября 2018 ЛНТУ. - С. 91-94.

2. Музыка Н.А., Кулик Н.В. Экспресс-метрия моторного масла средствами оптической спектроскопии. / Музыка Н.А., Кулик Н.В. // XIV Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Эффективность инженерных решений в приборостроении». м. Киев, Украина, 4-5 декабря 2018 НТУУ «КПИ им. Игоря Сикорского ». - С. 196-199.

3. Музыка Н.А., Кулик Н.В. Совершенствование средства определения количественных параметров соединений липидной природы в водных и спиртовых дисперсных системах малоизвестного состава люминесцентными методами анализа / Музыка Н.А., Кулик Н.В. // Международная научно-практическая конференция «Теоретические и прикладные аспекты развития науки», г. Киев, 11-12 декабря, 2018 года. НТУУ «КПИ им. Игоря Сикорского »[Принято в редакцию (received) 11.12.2018].

**Структура и объем работы.** Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, 43 рисунков, 24 таблиц, список использованных источников из 32 позиций. Общий объем работы - 125 страницы, из которых основная часть изложена на 122 страницах.

**Ключевые слова:** совершенствование метода, люминесцентный метод, фотодиод, спектрофотометрия, длины волн, спектрофотометр, витамины, ретинол, эргокальциферол.



## ABSTRACT

**Actuality of theme.** One of the promising areas of the fat-and-oil industry and its innovative development is the development of new technologies for the production and processing of vegetable oils, which make it possible to obtain oils with high nutritional and biological value.

Sunflower oil has a low content of retinols, and the content of ergocalciferol in it is very small. Therefore, the biological value of sunflower oil can be significantly increased by enriching it with natural complexes of plant retinols and ergocalciferol.

The proposed method for determining the mass fraction of vitamins of group A, D by the method of photo stimulated luminescence is promising in conditions of laboratory and enterprises, which allows to control and determine the mass fraction of vitamins group A and D in the technological process.

**The object of the study** – is semiconductor photodetectors as primary conversion converters for the quantum yield of luminescence.

**The subject of the study** is the process of registration of the contents of vitamins A and D in sunflower oil, its quantitative and qualitative analysis.

**The purpose of the work** is to improve the method for determining the mass fraction of vitamins in group A and D in sunflower oil, and to develop a model of a measuring device suitable for quantitative and qualitative analysis.

**Методи дослідження.** Дана робота присвячена вдосконаленню методу визначення вмісту вітамінів групи А та D в соняшниковій олії методом фото стимульованої люмінісценції.

**Research methods** this work is devoted to the improvement of the method of determining the content of vitamins A and D in sunflower oil by the method of photo stimulated luminescence.

The scientific novelty of the work is to improve the techniques and devices for recording the content of vitamins A and D in sunflower oil, its quantitative and qualitative analysis.

**Test work.** The results of the work are highlighted in the following articles, which have been tested and are in the stage of publication:

1. Zashchepkina N.M. Application of luminescent methods of analysis in express-metrics of varietal qualities of motor oils. / N.M. Zashchepkina, V.V. Taranov, O.A. Nakonechny, M.O. Muzika // International scientific and technical conference "Engineering and technology: science, education, production". Lutsk, November 15-15, 2019 LNTU. - P. 91-94.

2. Muzika M.O., Kulik N.V. Express-meter of motor oil by means of optical spectroscopy. / Muzika M.O., Kulik N.V. // XIV All-Ukrainian Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists "Efficiency of Engineering Solutions in Instrumentation". Kyiv, Ukraine, December 4-5, 2018 NTUU "KPI them. Igor Sikorsky ". - P. 196-199.

3. Muzika M.O., Kulik N.V. Improvement of the means for determining the quantitative parameters of compounds of lipid nature in aqueous and alcohol disperse systems of a little-known composition by luminescent methods of analysis / Muzika M.O., Kulik N.V. // International Scientific and Practical Conference "Theoretical and Applied Aspects of Science Development", Kyiv, December 11-12, 2018. NTUU "KPI them. Igor Sikorsky "[Received by the editor (received) 12.11.2018].

**Structure and scope of work.** The work consists of an introduction, four sections, conclusions, 43 figures, 24 tables, the list of used sources from 32 positions. The total volume of work - 125 pages, of which the main part is set out on 122 pages.

**Key words:** perfection of the method, luminescent method, photodiode, spectrophotometry, wavelengths, spectrophotometer, vitamins, retinol, ergocalciferol.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

БЖ – блок живлення;

ВЗ – валентні зв'язки;

ЕКО – електронно-коливально-обертальний рух молекул;

ЕПР – електронний парамагнітний резонанс;

ІЧ – інфрачервоний спектр;

УФ – ультрафіолетовий спектр;

ФЕП – фото електричний помножувач;

СФ – світлофільтр;

МЛФД – мікропиксельний лавинний фотодіод;

МКП – мікроканальна плата;

МО – молекулярно-орбітальний рух молекул;

ОФС – оптичні формуючі системи;

ПЗЗ – пристрій з зарядовим зв'язком;

ПФОС- пристрій формування і обробки сигналу;

ЕСП – електронно-світловий перетворювач;

СЗС – синьо-зелений світлофільтр;

ФД – фотодіод;

## ЗМІСТ

|  |    |
|--|----|
| ВСТУП.....   | 14 |
| РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ АСПЕКТИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИХ<br>ВИМІРЮВАНЬ ЗРАЗКІВ ОРГАНІЧНОЇ ПРИРОДИ ВИБРАНОГО<br>ОПТИЧНОГО ДІАПАЗОНУ ДОВЖИН ХВИЛЬ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО<br>ВИПРОМІНЮВАННЯ..... | 17 |
| 1.1. Взаємодія електромагнітного випромінювання з речовиною .....  | 17 |
| 1.2. Особливості атомної спектрометрії .....   | 18 |
| 1.3. Характеристичні параметри енергетичних станів молекул.....  | 21 |
| 1.4. Фізичні основи молекулярної спектрофотометрії.....  | 26 |
| 1.5. Механізм виникнення явища люмінесценції.....  | 29 |
| 1.5.1. Альтернативні шляхи розтрати енергії збудження.....   | 31 |
| 1.5.2. Хемілюмінесцентний аналіз.....  | 32 |
| 1.6. Класифікація люмінесцентних вимірювань за типом збудження.....  | 33 |
| 1.7. Якісний та кількісний люмінесцентний аналіз.....  | 40 |
| 1.8. Застосування флуориметрії в мікроаналізі органічних зразків.....  | 41 |
| 1.9. Люмінесцентна мікроскопія.....  | 43 |
| 1.10. Визначення кількісних параметрів молекулярних сполук методами<br>флуориметрії.....   | 44 |
| РОЗДІЛ 2. ВИМОГИ ДО ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО<br>ТА ЯКІСНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛІЗУ .....  | 48 |
| 2.1. Вимоги до сучасного люмінесцентного флуориметра та<br>спектрофотометру.....   | 48 |
| 2.2. Огляд схемних рішень спектрофотометричного обладнання.....  | 50 |
| 2.2.1. Призмові спектральні прилади.....   | 54 |
| 2.2.2. Дифракційна решітка у якості диспергуючого елемента.....  | 55 |
| 2.3. Роздільна здатність спектральних приладів.....  | 60 |
| 2.4. Методичні прийоми кількісного люмінесцентного аналізу.....  | 62 |

|   |            |
|---|------------|
| 2.5. Прилади реєструючого обладнання і техніка люмінесцентного спектрального аналізу.....                           | 65         |
| 2.5.1. Лавинні фотодіоди.....   | 65         |
| 2.5.2. Стандартний мікроспектрофлуориметр.....  | 68         |
| 2.5.3. Малогабаритний інвертований мікроспектрофлуориметр.....  | 71         |
| 2.6. Особливості спектрофотометричного аналізу вітамінів та вітаміноподібних сполук.....                            | 72         |
| <b>РОЗДІЛ 3. АПРОБАЦІЯ МАКЕТУ ВИМІРЮВАЛЬНОЇ УСТАНОВКИ ТА РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИМІРЮВАНЬ.....</b>                      |            |
| 3.1. Класифікація та номенклатура вітамінів і їх специфічні функції в організмі.....                                | 76         |
| 3.2. Класифікація вітамінів.....  | 76         |
| 3.3. Препарати жиророзчинних вітамінів.....   | 82         |
| 3.4. Розробка макету вимірювальної установки.....   | 87         |
| 3.5. Удосконалений метод та спосіб реєстрації квантового виходу люмінесценції слаболомінесціюючих сполук.....       | 91         |
| 3.6. Спектральні характеристики жиророзчинних вітамінів.....  | 93         |
| <b>ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ.....</b>   | <b>100</b> |
| <b>РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА СТАРТАП ПРОЕКТУ « ВИЗНАЧЕННЯ МАСОВОЇ ЧАСТКИ ВІТАМІНІВ ГРУПИ А, D В СОНЯШНИКОВІЙ ОЛІЇ.....</b> |            |
| 4.1 Опис ідеї проекту.....  | 101        |
| 4.2 Технологічний аудит ідеї проекту.....   | 105        |
| 4.3 Аналіз ринкових можливостей запуску стартап проекту.....  | 107        |
| 4.4 Розроблення ринкової стратегії проекту.....   | 113        |
| 4.5 Розроблення маркетингової програми стартап-проекту.....   | 115        |
| 4.6 Висновки.....   | 118        |
| <b>ВИСНОВКИ.....</b>  | <b>120</b> |
| <b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>  | <b>122</b> |

## ВСТУП

**Актуальність теми дослідження.** Одним з перспективних напрямків масложирової промисловості та її інноваційного розвитку є розробка нових і вдосконалення існуючих технологій отримання та переробки рослинних масел, що дозволяють отримувати олійні масла з високою харчовою і біологічною цінністю, які необхідні для виробництва високоякісних продуктів харчування.

В області виробництва харчових продуктів повинно передбачатися три основних напрямки: збереження природного комплексу біологічно активних речовин традиційних масових харчових продуктів, розширення їх асортименту та використання природних комплексів біологічно активних речовин в якості харчових добавок.

Головний шлях – це підвищення біологічної цінності раціонів харчування. Це завдання має вирішити зміна промислової технології, в результаті чого люди отримають більше цінні продукти харчування. Тому однією з головних цілей нашого дослідження є саме розробка еспрес методу контролю жиророзчинних вітамінів, що дозволить контролювати технологічних процес виробництва олійних масел, заради оптимального збагачення його необхідними вітамінами.

Рослинні масла поряд з іншими компонентами складають основу раціонального харчування людини. Одним з найбільш важливих джерел жирів є соняшникова олія. У загальному балансі рослинних масел в Україні становить 70%.

Соняшникова олія має невисокий вміст ретинолу, а вміст каротиноїдів в ньому дуже малий. Тому біологічна цінність соняшникової олії може бути істотно підвищена за рахунок збагачення її природними комплексами рослинних каротиноїдів і ретинолів.

На даний час існує дуже багато методів дослідження складу і властивостей олійних культур. Усі вони ґрунтуються на використанні

фізичних, хімічних, біохімічних та інших ефектів взаємодії досліджуваного об'єкту з вимірювальними засобами.

При застосуванні більшості методів визначення складу продуктів, цей процес займає дуже багато часу, особливо при визначенні їх якісного складу.

Люмінесцентний аналіз знайшов застосування в різних областях науки і техніки. Такий аналіз здійснюється в основному за допомогою візуальних спостережень (або із застосуванням телеметричних засобів). У випадку кількісного визначення компонентів харчових продуктів використовуються методи флуоресценції, які включають в себе різні операції з розділення, очищення складових, обробки продукту флуорохромами та ін. Абсолютна чутливість люмінесцентного методу досить висока. Відносна концентрація речовини також може бути дуже малою, – для яскраво люмінесціюючих речовин вона становить величину порядку 10-10мг/г. Даний метод застосовують для кількісного визначення поліциклічних органічних сполук, вітамінів, білків, нітратів, сульфідів, ціанідів, токсичних металів у складі харчових продуктів (молоці, м'ясі та рибі), для діагностики псування овочів, плодів і виявлення в продуктах консервантів, лікарських препаратів, канцерогенних речовин та ін [1].

Тому розробка конкурентоспроможної методики отримання соняшникової олії, збагаченої жиророзчинними вітамінами, що володіють функціональними властивостями за рахунок вмісту біологічно активних речовин і призначених для систематичного вживання різними групами населення, набуває особливої актуальності. Це обґрунтовує вибір теми і актуальність дослідження, а також повністю відповідає вимогам державної політики в області розробки нових продуктів харчування з функціональними властивостями.

Метою магістерської дисертації є вдосконалення методу визначення масової частини вітамінів групи А, D, та розробка макету вимірювальної установки придатної для проведення кількісного та якісного аналізу.

Для вирішення даної мети необхідно виконати такі завдання:

1. Провести огляд методик визначення масової частини вітамінів групи А, D, в соняшниковій олії.
2. Провести огляд та дослідження існуючих приладів для визначення масової частини жиророзчинних вітамінів групи А, D.
3. Виконати порівняльний аналіз і підбір фотодіодів та фотодіодних матриць придатних до використання у якості первинних перетворювачів.
4. Виконати дослідження факторів та ефектів, які визначають похибку вимірювання люмінесценції (ефект внутрішнього фільтра та вторинного поглинання).
5. Виконати дослідження математичної моделі експериментальної установки відповідно до умов експерименту.
6. Обробка результатів та рекомендації щодо визначення максимально точної частини жиророзчинних вітамінів групи А, D в соняшниковій олії.



## РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ АСПЕКТИ СПЕКТРОФОТЕМЕТРИЧНИХ ВИМІРЮВАНЬ ЗРАЗКІВ ОРГАНІЧНОЇ ПРИРОДИ ВИБРАНОВОГО ОПТИЧНОГО ДІАПАЗОНУ ДОВЖИН ХВИЛЬ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ.

### 1.1. Взаємодія електромагнітного випромінювання з речовиною

Тіла випускають електромагнітне випромінювання не тільки в результаті нагрівання. Це може відбуватися і з інших причин, наприклад, при електричному розряді в газах, деяких біохімічних процесах (світіння світлячків), гниття органічних речовин, окисненні фосфору і т.д. Якщо при цьому випускаються хвилі оптичного діапазону - то це явище називається люмінесценція.

Люмінесценція відбувається одночасно з тепловим випромінюванням і незалежно від нього. С.І. Вавилов визначив явище люмінесценції наступним чином: люмінесценція є випромінювання тілом електромагнітних хвиль в оптичному діапазоні, що представляє собою надлишок над тепловим випромінюванням при даній температурі тіла і має тривалість, що значно перевищує період коливань світлових хвиль ( $10^{-15}$ с). Остання частина цього визначення дозволяє відокремити люмінесцентне випромінювання від інших видів нерівноважних, надлишкових над тепловим випромінювань.

Діапазон електромагнітного випромінювання, що викликає зміни в речовині, аналізовані спектральними методами, включає  $\gamma$ -промені, рентгенівське, ультрафіолетове, видиме, інфрачервоне, а також мікро- і радіохвильове випромінювання [2].

Електромагнітне випромінювання прийнято характеризувати рядом величин.

1. Довжина хвилі  $\lambda$  – лінійна одиниця, що характеризує найменшу відстань між точками, що коливаються в однакових фазах. Залежно від довжини хвилі в електромагнітному спектрі зазвичай виділяють наступні ділянки:

$$\lambda = 0,001A^0 - 0,1A^0 \quad \gamma \text{-промені};$$

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| $0,1-100\text{Å}$                        | рентгенівські промені;        |
| $100-3600\text{Å}$ ( $10-360\text{нм}$ ) | ультрафіолетове світло;       |
| $360-760\text{нм}$                       | видиме світло;                |
| $750\text{нм}-100000\text{нм}$           | інфрачервоне випромінювання;  |
| $1\text{мм}-1\text{м}$                   | мікрохвильове випромінювання; |
| $>1\text{м}$                             | радіохвильове випромінювання. |

2. Частота коливання  $\nu$  – кількість коливань в 1 сек.

$$\nu = c / \lambda \text{ сек}^{-1}, c = 3 \times 10^{10} \text{ см} / \text{с} - \text{швидкість світла.}$$

3. Хвильове число  $\omega = 1 / \lambda \text{ см}^{-1}$ .

4. Енергія коливань, обумовлена рівнянням Планка-Ейнштейна,

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (1.1)$$

де  $h = 6.62 \times 10^{-27} \text{ Дж} \cdot \text{с}$   $h = 6,62 \times 10^{-27} - \text{універсальна постійна Планка .}$

## 1.2. Особливості атомної спектроскопії

Вся сучасна спектроскопія базується на квантовій теорії, згідно з якою в ізольованому атомі розподіл електронів по електронних оболонках (енергетичним рівням) відповідає мінімуму внутрішньої енергії. Такий стан атома називається незбудженим, нормальним, основним. при впливі зовнішньої енергії атом може перейти в збуджений стан або в стан іонізації. Однак додаткова енергія, що поглинається атомом може мати лише певні, характерні для кожного виду атомів (кожному хімічному елементу) значення, які залежать від заряду атомного ядра і від будови електронних оболонок. Енергія, необхідна для переведення атома з основного стану в будь-який збуджений стан, називається енергією збудження, а енергія, необхідна для іонізації – енергією іонізації.

Перебудови електронних оболонок атомів, що відбуваються в наслідок певних зовнішніх впливів, і є причиною виникнення оптичних і рентгенівських атомних спектрів. Оптичні атомні спектри елементів є відображенням будови зовнішніх електронних оболонок атомів елементів.

Для опису оптичних спектрів користуються схемами, в яких енергетичні стану атома, точніше рівні енергії валентних електронів, зображують відрізками, відстань між якими пропорційна різниці їх енергій. Число рівнів може бути дуже великим. Відстань між рівнями зменшується в міру віддалення від основного стану та наближення до кордону, відповідної енергії іонізації, тобто тієї енергії, набуваючи яку зовнішній електрон залишає атом. Енергія кожного збудженого стану більше нуля.

Дозволені правилами відбору зміни енергетичних станів атома або іона, так звані дозволені переходи, зображують на діаграмі стрілками, що з'єднують початкові і кінцеві енергетичні рівні. Порції енергії, що поглинаються атомом при порушенні, рівні різницям енергій відповідних кінцевого і початкового рівнів  $\Delta E$ , наприклад,  $E_1 - E_0; E_2 - E_0; E_4 - E_0$ . Переходи електронів з низькоенергетичних рівнів на більш високоенергетичні рівні відбуваються тільки з поглинанням енергії.

В оптичному спектральному аналізі умовно виділяють важко збудливі і важко іонізуючі елементи. До перших відносять елементи, що мають енергії іонізації  $E_{0u} > 9$  і енергії збудження резонансних рівнів  $E_{01} > 7$  (водень, інертні гази, галогени). Легко іонізуючі і збудливі елементи мають  $E_{0u} < 5 - 7 eV$  і  $E_{01} < 5 eV$  (елементи першої і другої груп, лантаноїди).

В спектральному аналізі збудження й іонізація атомів досягається їх бомбардуванням швидкими електронами, а також при взаємодії атомів з випромінюванням. При цьому для іонізації атома необхідно, щоб кінетична енергія  $E_k$  впливаючого електрона дорівнювала або була більша енергії іонізації даного елемента. Відповідно, порушення електронами відбувається лише тоді, коли їх кінетична енергія перевищує енергію збудження відповідного рівня. У міру збільшення  $E_k$  послідовно збуджуються елементи, які мають усі вищі енергії збудження.

Джерелами електронів, що збуджують оптичні спектри, в аналітичній практиці служать полум'я, електричні розряди (дуга, іскра) та інші, в яких

електрони набувають енергію, що відповідає температурі від декількох тисяч до декількох десятків тисяч градусів. Взаємодія з електромагнітним випромінюванням може приводити до іонізації або до переходів електронів на збуджені рівні тільки при рівності електромагнітної енергії, енергії іонізації або різниці енергій верхнього і нижнього рівнів порушеного атома відповідно. Для збудження оптичних спектрів впливом випромінювання застосовують газорозрядні лампи і спеціальні лампи розжарювання, які випускають необхідний спектр випромінювання.

Сукупність різних порцій енергії (квантів), які можуть бути поглинені атомами даного елемента при переході їх зовнішніх електронів з більш низьких рівнів на вищі, утворює його спектр поглинання, що складається з великого числа ліній, що мають довжини хвиль  $\lambda$  і частоти  $\nu$ , що залежать від різниці відповідних рівнів, тому що:

$$\Delta E = E_{\text{кінц.}} - E_{\text{поч.}} = h\nu = hc / \lambda \quad (1.2)$$

При цьому  $E_{\text{кінц.}} > E_{\text{поч.}}$ . Коли через атомізуючу речовину пропускається випромінювання від стороннього джерела, то інтенсивність цього випромінювання зменшується на довжинах хвиль, характеристичних для даного елемента.

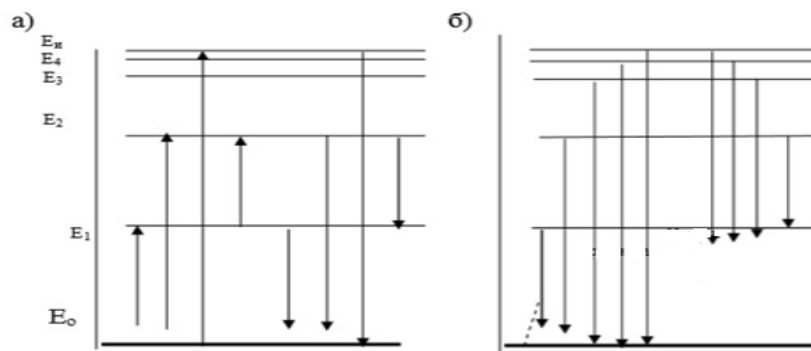


Рис. 1.1. Схеми енергетичних станів атомів (а) і утворення серій спектральних ліній атомної емісії (б)

Число спостережуваних на досвіді ліній поглинання кожного елемента залежить від спектра джерела світла і від концентрації порушених і не збудженому атомів або іонів в просвічує об'єкті. Для спостереження повного

спектру поглинання необхідне джерело випромінювання, що володіє безперервним спектром.

Спектр поглинання (спектр атомної абсорбції), відображає здатність атомів кожного елемента поглинати тільки строго певний набір довжин хвиль, є типова в такій же мірі, як і спектр випускання (Емісії), тому що спектр випускання визначається тією ж системою енергетичних станів валентних електронів, зображених на попередньому малюнку.

Спектр випускання прийнято називати емісійним, коли випромінюючі атоми утворюються головним чином при зіткненнях з частинками (збудження атомів відбувається їх бомбардуванням швидкими електронами), і флуоресцентним, коли вони утворюються під дією випромінювання.

### 1.3. Характеристичні параметри енергетичних станів молекул

Молекула являє систему, що складається з ядер і електронів, стабільність якої забезпечується силами електричної взаємодії між частинками. При утворенні молекули з вільних атомів розподіл електронної щільності навколо ядра змінюється так, що кордони між електронними оболонками окремих атомів зникають, а їх індивідуальність втрачається. В цьому випадку можна говорити лише про "ефективних" атомах в молекулі. Молекулярні орбіталі зазвичай представляють у вигляді лінійної комбінації атомних орбіталей. При цьому можуть бути реалізовані два випадки. Перший являє собою симетричне перекривання власних функцій станів атомів. Так, якщо  $\psi_A$  і  $\psi_B$  — власні хвильові функції атомів  $A$  і  $B$ , то щільність ймовірності знаходження електронів між атомами можна записати у вигляді

$$\left( \frac{1}{\sqrt{2}}\psi_A + \frac{1}{\sqrt{2}}\psi_B \right)^2 = \frac{1}{2}\psi_A^2 + \frac{1}{2}\psi_B^2 + \psi_A\psi_B \quad (1.3)$$

Вираз  $\psi_A\psi_B$  називають диференціальним перекриттям.

Воно характеризує ступінь взаємного проникнення атомних орбіталей при утворенні молекулярної орбіталі. У разі симетричного перекриття

відбувається підвищення електронної щільності між атомами. При цьому енергія молекулярної орбіталі виявляється менше енергії відповідних рівнів розділених атомів. Така орбіталь називається зв'язуючою, а електрони, які беруть участь в її формуванні — зв'язуючими електронами.

На рис 1.2 представлені зміни енергії зв'язку між атомними орбіталями в залежності від відстані між ними. Нижня крива характеризує зв'язуючу молекулярну орбіталь. Наявність у неї мінімуму при відстані  $R_{AB} = R_0$  обумовлено тим, що при подальшому зближенні атомів починають переважати сили відштовхування ядер;  $R_0$  відповідає мінімуму потенційної енергії. У реальних молекулярних системах нижча точка залежності  $E(R_{AB})$  не досягається. Різниця  $E_D$  атомів від відстані між ними між енергетичним рівнем окремих атомних орбіталей і нульовим рівнем молекули називається її енергією зв'язку, або енергією дисоціації.

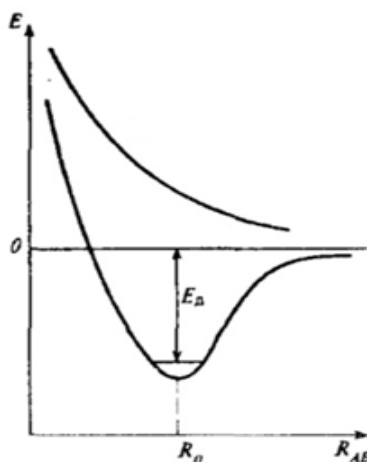


Рис. 1.2. Залежність енергії зв'язків атомів від відстані між ними.

Для опису реальних потенційних кривих, одержуваних з експериментальних даних, запропоновано багато різних наближених функцій, проте найбільш часто використовується функція Морзе, що має вигляд:

$$E(R - R_0) = E_D \left(1 - e^{-\beta(R - R_0)}\right)^2 \quad (1.4)$$

де  $\beta$  — коефіцієнт, пов'язаний з шириною потенційної кривої. У другому випадку, при антисиметричного перекритті хвильових функцій атомних орбіталей, вираз  $\psi_A\psi_B$  стає негативним і щільність ймовірності  $\psi_{AB}^2$  між атомними ядрами наближається до нуля. Така орбіталь називається розпушуючою. При цьому крива залежності енергії від відстані між ядрами монотонно зростає при їх зближенні. Якщо енергія молекулярної орбіталі дорівнює енергії відповідної орбіталі ізолюваного атома, то вона носить назву незв'язуючої і позначається буквою  $n$ . При цьому валентні електрони, які не брали участі в утворенні хімічних зв'язків, є неподіленими парами електронів і називаються  $n$ -електронами.

У зв'язку з тим що для молекул з великим числом електронів неможливо отримати точний аналітичний розв'язок рівняння Шредінгера, для визначення їх стаціонарних станів використовують наближені методи рішення. Так, повну молекулярну хвильову функцію  $\psi$  можна уявити в вигляді адіабатичного наближення Борна-Опенгеймера:

$$\Psi_{\text{яд}} = \Psi_{\text{у}} \Psi_{\text{яд}}, \quad (1.5)$$

У цьому випадку "швидкість" руху електронів в молекулі у багато разів більше, ніж "швидкість" зміщення ядер, і електрони адіабатично, без зміни енергії, слідує за становищем ядер. У наступному наближенні хвильову функцію  $\Psi_{\text{яд}}$  також можна представити у вигляді добутку двох хвильових функцій:

$$\Psi_{\text{яд}} = \Psi_{\text{кол}} \Psi_{\text{об}} \quad (1.6)$$

де  $\Psi_{\text{кол}}$  — коливальна, а  $\Psi_{\text{об}}$  — оберտальна хвильові функції.

Отже, повна хвильова функція молекули може бути представлена у наступному вигляді:

$$\Psi = \Psi_e \Psi_{\text{кол}} \Psi_{\text{об}}. \quad (1.7)$$

Такий поділ хвильової функції дозволяє розв'язувати рівняння Шредінгера окремо для електронної, коливальної і оберտальної хвильових

функцій. У наближенні повна енергія молекули  $E$  складається з енергії електронного збудження  $E_e$  коливальної енергії  $E_{\text{кол}}$  і енергії обертання молекули як цілого  $E_{\text{об}}$ :

$$E = E_e + E_{\text{кол}} + E_{\text{об}}, \quad (1.8)$$

Складові, що входять в (1.8), істотно розрізняються по порядку величини. З теоретичних і експериментальних оцінок відомо, що

$$E_e > E_{\text{кол}} > E_{\text{об}}. \quad (1.9)$$

При цьому, в першому наближенні, енергії  $E_e, E_{\text{кол}}, E_{\text{об}}$  можна вважати незалежними один від одного. Однак, при більш строгому розгляді енергетичних станів молекул, необхідно враховувати можливість розвитку у них електронно-коливальної, електронно-обертальної і коливально-обертальної взаємодій.

Квантова механіка дозволяє отримати наступні рівняння для рівнів коливальної  $E_{\text{кол}}$  і обертальної  $E_{\text{об}}$  двоатомної молекули:

$$E_{\text{кол}} = hc \left[ \omega_e \left( v + \frac{1}{2} \right) - \omega_e x_e \left( v + \frac{1}{2} \right)^2 + \omega_e y_e \left( v + \frac{1}{2} \right)^3 - \dots \right], \quad (1.10)$$

$$E_{\text{об}} = hc [B_e J(J+1)], \quad (1.11)$$

де  $\omega_e$  — частота коливань,  $B_e$  — обертальна постійна ( $\text{см}^{-1}$ ),  $\omega_e x_e, \omega_e y_e$ , — коефіцієнти ангармонічності коливань ( $\text{см}^{-1}$ ),  $v$  і  $J$  — коливальні і обертальні квантові числа, що приймають значення 0, 1, 2, 3 ... .

Вираз для електронної енергії двоатомних молекул має досить складний вид і не може бути виражено просто через квантові числа. Тому положення електронних рівнів не носить такого регулярного характеру.

Всі попередні розгляди стосувалися окремо взятої молекули. На практиці ж ізолювати молекулу і отримати її спектр нереально, так як вона завжди знаходиться в тепловому русі щодо сусідніх молекул. Внаслідок відбувається обмін енергією між молекулами, що обумовлює їх розподіл по



всіх можливих енергетичних станах. Для рівноважних умов воно підпорядковується статистичному закону розподілу Больцмана:

$$N_i = \left( \frac{N}{\sum_i q_i \exp(-E_i / kT)} \right) q_i \exp(-E_i / kT), \quad (1.12)$$

де  $N_i$  — число молекул в енергетичному стані  $i$  з енергією  $E_i$ ,  $N$  — загальне число молекул,  $q_i$  — ступінь виродження (статистична вага) стану з енергією  $E_i$ ,  $k$  — постійна Больцмана,  $T$  — температура. З (1.12) випливає, що число молекул, що знаходяться в даному енергетичному стані (заселеність стану), залежить від його енергії, температури і ступеня виродження.

Молекули можуть змінювати свої енергетичні стани не тільки за рахунок зіткнень один з одним, але і при поглинанні і випромінюванні квантів світла з енергією:  $E = h\nu$ . При переході зі стану з більш високою енергією  $E'$  в стан з меншою енергією  $E''$  відбувається виділення енергії у вигляді кванта світла з хвильовим числом  $\bar{\nu}$ , а при зворотному переході — його поглинання:

$$\bar{\nu} = \frac{E' - E''}{hc}. \quad (1.13)$$

Всі ці переходи розглядаються щодо нижнього електронного стану.

У разі великого числа молекул, розподілені по всіх можливих станах згідно статистичному закону Больцмана, спостерігається випускання (або поглинання) квантів різної енергії, які утворюють відповідно спектри випускання (емісійні спектри) і поглинання (абсорбція спектри). Крім цих спектрів існують також спектри розсіювання, які спостерігаються в тому випадку, коли енергія кванта світла, взаємодіє з молекулою, меншою енергією електронного збудження, тобто коли електронна оболонка молекули тільки "обурюється", а не перебудовується повністю, як при переході молекули з незбудженого в збуджений стан.

Таким чином, молекулярні спектри можна поділити за механізмом їх освіти на спектри випускання, спектри поглинання і спектри розсіювання.

#### 1.4. Фізичні основи молекулярної спектроскопії

При утворенні молекул з атомів зовнішні атомні орбіталі перебудовуються, змінюються їх енергетичні рівні, утворюються молекулярні орбіталі. При цьому вважається для спрощення, що внутрішні електрони атомів і зовнішні електрони, які не беруть участь в утворенні зв'язків, зберігають ту ж енергію, що і в індивідуальному атомі.

Залежно від характеру вихідних атомних орбіталей, тобто від того, які атоми беруть участь в утворенні молекули, можуть утворюватися молекулярні орбіталі  $\sigma$ - і  $\pi$ -типу.  $\sigma$ - зв'язками називають зв'язки, які мають циліндричну симетрію щодо лінії, що з'єднує атоми.  $\pi$ -зв'язки – це зв'язки, симетричні відносно площини, що проходить через лінію, що сполучає центри атомів (рис.1.3).

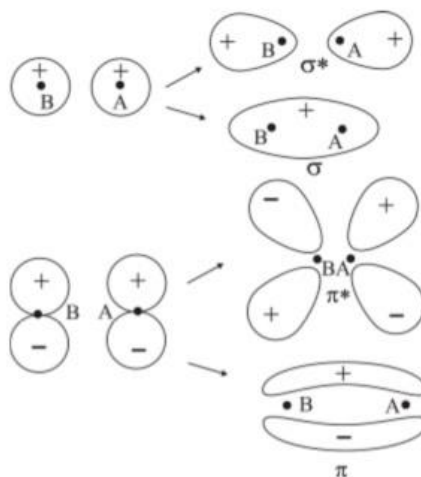


Рис. 1.3. Схеми утворення молекулярних орбіталей

При деяких умовах, наприклад при впливі електромагнітного випромінювання, конфігурація молекулярних орбіталей може змінитися – максимум електронної щільності зміститься до зовнішньої сторони ядер, збільшуючи відштовхування між ними. Утворюються так звані розпушуючі орбіталі, які позначаються  $\sigma^*$  і  $\pi^*$ .

Таким чином, при поглинанні електромагнітного випромінювання УФ і видимого діапазону можуть відбуватися електронні переходи зі зв'язуючими  $\sigma$ - і  $\pi$ -орбіталей і незв'язуючих  $n$ -орбіталей, що розпушують  $\sigma^*$  і  $\pi^*$  орбіталі [4].

Відносні енергії молекулярних орбіталей різних типів представлені на рис. 1.4. З цієї діаграми видно, що найбільшу різницю енергій мають  $\sigma^*$  і  $\sigma$  орбіталі. Внаслідок цього  $\sigma - \sigma^*$  перехід може відбутися при поглинанні речовиною випромінювання з відносно високою (в межах розглянутого діапазону) енергією і, відповідно, в спектрі поглинання смуга поглинання буде спостерігатися в короткохвильовій (дальній УФ) області.

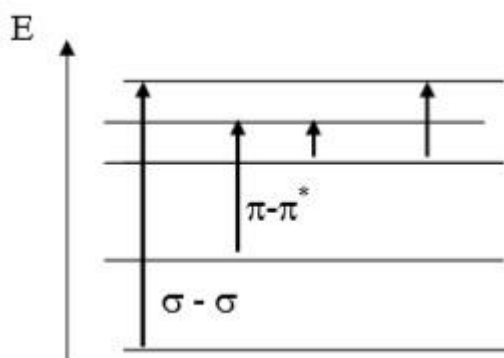


Рис. 1.4. Відносні енергії молекулярних орбіталей різних типів ( $\sigma^*$  - орбіталь (розпушуюча),  $\pi^*$  - орбіталь (розпушуюча),  $n$  - орбіталь (незв'язуюча)  $\pi$  - орбіталь (зв'язуюча),  $\sigma$  - орбіталь (зв'язуюча))

Електронні переходи зі зв'язуючими  $\pi$ -орбіталі на розпушуючу  $\pi^*$ -орбіталь відбуваються при поглинанні меншою, але все ж досить великої енергії, і відповідні спектральні лінії спостерігаються в області середнього ультрафіолету.  $n - \pi^*$  і  $n - \sigma^*$ -переходи можуть відбуватися при поглинанні ще менших квантів і спостерігаються в області ближнього ультрафіолету або навіть у видимій частині спектру.

Електронні переходи в атомарних ансамблях залежать від початкового і кінцевого електронного стану. Крім того електронні терми молекул між якими відбувається перехід, в значній мірі залежить від між ядерних відстаней. У стаціонарних умовах молекула речовини володіє конфігурацією електронних орбіт з найбільш низькою з можливих потенційною енергією і

знаходиться, як прийнято говорити, в основному стані. Тепловий рух призводить до коливань атомів всередині молекули і обертання її як цілого, що супроводжується флуктуаціями потенційної енергії основного стану. Нижчий енергетичний рівень або основний стан описується кривою  $S_0$ , на якій горизонтальними лініями схематично показані енергетичні підрівні, що відповідають різним коливальним станів молекули в основному стані ( $S_0$ ) її електронної орбіти.

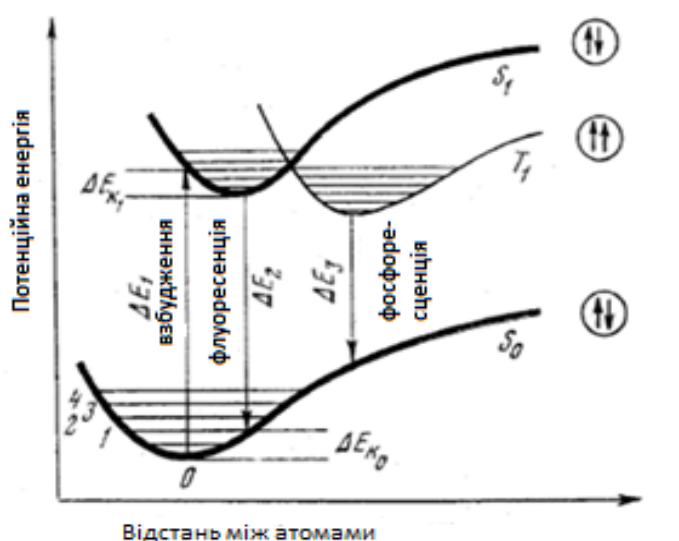


Рис. 1.5. Залежність потенціальної енергії двохатомної молекули від довжини між атомами для різних енергетичних рівнів

Люмінесценція при дії збуджуючого випромінювання на молекули речовини виникає в результаті переходу електронів при поверненні молекул зі збудженого стану в нормальний. Таким чином, поглинена енергія перетворюється молекулою в власне випромінювання, що являється характеристикою даної речовини. Люмінесціюючі речовини можуть перебувати в будь-якому агрегатному стані. Перевагою люмінесцентних реакцій є дуже низька межа їх виявлення.

У збуджений стан молекули люмінесціюючої речовини можуть переходити під дією світла і тоді люмінесценцію називають фотолюмінесценцію (флуоресценцією або фосфоресценцією), під дією

рентгенівського випромінювання - рентгенолюмінесценцією, в результаті хімічної реакції - хемілюмінесценцією і т.д.

### 1.5. Механізм виникнення явища люмінесценції

Поняття люмінесцентного світіння сформульовано С.І. Вавіловим. Люмінесценція - випромінювання, що представляє собою надлишок над тепловим випромінюванням тіла при даній температурі і має тривалість, значно перевищуючу період світлових хвиль.

Перша частина цього визначення запропонована Е. Відеманном і відокремлює люмінесценцію від рівноважного теплового випромінювання. Дійсно, будь-який тіло, що має температуру вище абсолютного нуля, випромінює електромагнітні хвилі. Це випромінювання є тепловим, незважаючи на те, що температура тіла може бути значно нижче температури навколишнього середовища. Друга частина визначення люмінесценції - ознака тривалості - запропонована Вавіловим для того, щоб відокремити люмінесценцію від інших явищ вторинного світіння - теплового, відображення і розсіювання світла, гальмівного випромінювання заряджених частинок і ін. Оскільки період світлових хвиль має значення порядку  $10^{-15}$  с, то тривалістю, достатньою, для того, щоб віднести будь-який вид світіння до люмінесценції, вважається величина, значно більша ніж  $10^{-15}$  с і вище (необмежено) [15].

Стокс встановив, що випромінюване при люмінесценції світло має велику довжину хвилі, ніж світло, що збуджується люмінесценцію. Правило Стокса впливає з квантових уявлень про світло. Так як енергія падаючого фотона  $h\nu_0$  частково витрачається на різні внутрішньо-молекулярні процеси, то енергія що випускається з фотона  $h\nu$  виявляється дещо менше, ніж  $h\nu_0$ :

$$h\nu = h\nu_0 - A \quad (1.14)$$

де  $\nu_0$  - частота падаючого світла;  $\nu$  - частота випромінюваного світла;  $A$ - енергія, що розсіюється в речовині.

Однак якщо атоми (молекули) люмінесціуючої речовини знаходяться в збудженому стані (що має місце, наприклад, у разі нагрівання тіла), то до енергії збуджуючих фотонів може додаватися енергія за рахунок внутрішніх джерел. В цьому випадку  $A < 0$ , і в спектрі випускання спостерігається так звана антістоксова область, для якої  $A > 0$ ,  $\nu_0 > \nu$  і  $\lambda > \lambda_0$ .

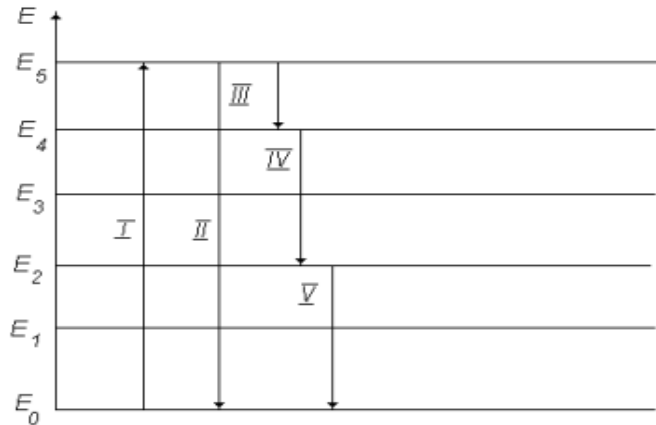


Рис. 1.6. Енергетичні рівні.

Механізми флуоресценції і фосфоресценції дещо відрізняються один від одного.

При флуоресценції випромінювання виникає внаслідок того, що електрон даного атома (молекули), збуджений падаючим світлом, повертається назад на збудженому енергетичний рівень (Рис.1.6). Припустимо, що внаслідок поглинання кванта електрон перейшов з збудженому енергетичного рівня  $E_0$  на рівень  $E_5$  (перехід I). Зворотний перехід можливий або відразу на рівень  $E_0$  (перехід II), або в кілька етапів (переходи III-IV-V). Всі варіанти переходів на малюнку показані стрілками.

Всі ці процеси відбуваються всередині атома і протікають порівняно швидко: час загасання порядку часу життя атома в збудженому стані.

Тривалість фосфоресценції визначається часом перебування електрона на локальному рівні і може бути вельми великий.

Енергетичним виходом люмінесценції називають відношення енергії люмінесценції до поглиненої енергії:

$$B_{en} = E_l / E_n \quad (1.15)$$

Оскільки частина поглинається люмінофором енергії перетворюється в тепло, то величиною енергетичного виходу характеризує повноту перетворення енергії збудження в енергію люмінесценції. Відповідно до закону С.І. Вавилова, енергетичний вихід люмінесценції спочатку зростає пропорціонально довжині хвилі збуджуючого світла, а потім, досягнувши максимум, різко падає до нуля.

Крім енергетичного виходу для характеристики ефективності трансформації поглиненої люмінофором енергії збудження введено поняття квантового виходу. Квантовим виходом називають відношення числа квантів випромінюваних люмінофором  $N_l$ , до числа поглинених квантів збудженого світла  $N_n$ ):

$$B_{kv} = N_l / N_n \quad (1.16)$$

У разі квантового виходу енергетичні втрати при стоксовського зміщенні спектру випромінювання не враховуються по відношенню до спектру поглинання. Величина виходу залежить від складу люмінофора, технології його виготовлення і від присутності сторонніх домішок, крім того, квантовий вихід може залежати від умов збудження, довжини хвиль і інтенсивності збуджуючого світла, а так само від температури.

Спектри люмінесцентного випромінювання будуть визначатися структурою енергетичних рівнів речовини і матимуть для кожної речовини свій характерний вигляд. Це означає, що спектри фотолюмінесценції можна використовувати при визначенні природи і хімічного складу речовини.

### **1.5.1. Альтернативні шляхи розтрати енергії збудження**

За відсутності переносу енергії на інші молекули і фотохімічної реакції зворотний перехід збудженої молекули в основний стан може відбуватися трьома шляхами.

1. Електрон переходить з рівня збудженого стану  $S_1$  на рівень основного стану  $S_0$ , при цьому висвічується квант світла флуоресценції. Так як такий перехід може відбуватися на різні коливальні підрівні основного стану, то в спектрі флуоресценції можлива тонка структура, яка розмивається в полярних розчинниках.

2. Енергія збудженого стану витрачається на теплові рухи молекул. Квант світла при електронному переході зі збудженого рівня на основний НЕ висвічується (перехід молекули з рівня  $S_1$  на рівень  $S_0$ ). Такий електронний перехід називають безвипромінювальним.

3. Відбувається звернення спіна електрона. Молекула переходить в триплетний стан  $T_1$ , енергія якого трохи нижче енергії синглетного стану  $S_1$ . Оскільки прямий перехід з триплетного стану в основний синглетний заборонений, тобто малоймовірний, молекула може знаходитися в триплетному стані порівняно тривалий час від  $10^{-4}$  с до декількох секунд. При звичайних температурах в рідкій фазі за цей час відбувається теплова дисипація енергії порушеного триплетного стану — безвипромінювальний перехід в основний стан.

Але в розчинах, заморожених рідким азотом, і навіть при кімнатних температурах, але в твердих зразках може спостерігатися радіаційний перехід  $T_1 \rightarrow S_0$ , що супроводжується висвічуванням кванта фосфоресценції [8].

### 1.5.2. Хемілюмінесцентний аналіз

Хемілюмінесцентний аналіз заснований на вимірюванні спектру і інтенсивності випромінювання, що виникає за рахунок енергії хімічної реакції. Порушення хемілюмінесценції у видимій області спектра відбувається, якщо тепловий ефект реакції не менше 160 кДж / моль. Це зазвичай окислювально-відновні реакції за участю вільних радикалів.

У хемілюмінесцентному аналізі використовуються окислювальні реакції, що дають досить яскраве світіння, наприклад окислення люмінола,



люцигеніна і інших з'єднань пероксидом водню, гіпохлоритом, бромом. Розроблено методи аналізу, засновані на каталітичному або інгібіторному ефекті різних речовин. Зміст іонів заліза, кобальту, міді, титану, цирконію, платинових металів та інших визначається з межею виявлення  $10^{-9}$ - $10^{-8}$  г/мл, проте селективність цих методик невелика.

Високою чутливістю і великою селективністю володіють хемілюмінесцентні методики газового аналізу, визначення аміаку, оксидів азоту і сірки, сірководню і т.д. Межа виявлення становить 10-7%. Хемілюмінесцентне випромінювання не вимагає зовнішніх джерел збудження і реєструється звичайним фотоелектронним помножувачем.

### **1.6. Класифікація люмінесцентних вимірювань за типом збудження.**

Явище люмінесценції обумовлено випромінюванням речовиною світла за рахунок раніше поглиненої енергії. Енергія може бути повідомлена речовини різними шляхами і в різній формі. Залежно від виду і способу введення енергії (збудження) розрізняють кілька видів люмінесценції.

*Фотолюмінесценція* - світіння, яке викликається променями видимого і ультрафіолетового світла (наприклад, світіння циферблата годин).

*Рентгенолюмінесценція* - світіння під дією рентгенівських променів (світіння просвічують і підсилюють рентгенівських екранів).

*Катодолюмінесценція* - світіння під дією пучка електронів (світіння екрана катодних осцилографів, екранів телевізора, радіолокатора). Тут в якості люмінофора, що покриває екран, використовуються сульфіді і селеніди цинку і кадмію.

*Радіолюмінесценція* - світіння, яке викликається променями радіоактивних речовин.

*Електролюмінесценція* - світіння під дією електричного розряду (газорозрядні трубки), електричного поля.

*Триболюмінесценцією* - світіння при терті і розколюванні кристалів (наприклад, цукру).

*Термолюмінесценція* - світіння при невеликому нагріванні, викликане віддачею раніше акумульованої енергії (наприклад, світіння мінералу флюориту).

*Хемілюмінесценція* - світіння, що відбувається в процесі хімічних реакцій (окислення фосфору).

*Біоломінесценція* - світіння, що спостерігається у живих організмів (комах, бактерій, глибоководних риб і ін.).

Люмінесценція, як і теплове випромінювання, відбувається в результаті повідомлення атому або молекули додаткової енергії, через що вони переходять в збуджений стан. При поверненні атома (молекули) в основний стан випускається фотон. Однак люмінесцентне випромінювання, на відміну від теплового, не може стати рівноважним і припиняється, як тільки буде вичерпаний запас енергії процесу, що породжує люмінесценцію.

Люмінесценцію класифікують:

а) за видом процесів, які викликають збудження атомів і молекул:

1. біоломінесценція - світіння живих організмів (світлячки, бактерії, гриби);
2. електролюмінесценція - світіння газів при електричному розряді;
3. радіо люмінесценція - викликається радіоактивного випромінювання;
4. хемілюмінесценція - світіння при екзотермічних хімічних реакціях;
5. фотолюмінесценція - викликається короткохвильового частиною оптичного спектру.

б) за тривалістю світіння люмінесценція ділиться на флуоресценцію, коли післясвітіння триває до  $10^{-3}$ с, і фосфоресценцію, час післясвітіння становить від  $10^{-3}$ с до декількох хвилин і навіть годин.

в) за механізмом елементарних процесів, що протікають в люмінесціюючих атомах і молекулах.

Хоча з теоретичної точки зору спосіб передачі молекулі додаткової енергії і переведення її в збуджений стан не має особливого значення, на практиці за цією ознакою розрізняють фотолюмінесценцію (збудження світловим випромінюванням), рентгенолюмінесценції (збудження рентгеновими променями), катодолюмінесценцію (збудження пучком прискорених електронів) і т. д. Дещо особно стоять хімічні способи збудження. Розрізняють хемілюмінесценцію, що характеризується тим, що молекула виявляється в збудженому стані в результаті екзотермічної хімічної реакції. Окремим випадком хемілюмінесценції є біоломінесценція, яка спостерігається в живій природі. Однак всі види порушення мають загальні закономірності, які спостерігаються при переході фотоелектронів на збуджені рівні.

1) Перехід не супроводжується порушенням спарених електронів, як в основному так і в збудженому станах. Орієнтація спінов антипаралельними і сумарний спін електронів рівний 0.

2) Час, за яке квант поглинається і переходить на збуджений рівень рівний  $t = 10^{-15}$  с. Період коливальних процесів молекули  $T = 10^{-13}$  с. Тому за час електронного переходу положення ядер молекул практично не змінюється.

3) Кожному електронному переходу відповідає певний напрям осциляції заряду щодо скелета молекули. Електрон переходить на збуджений рівень по суворо визначеній траєкторії. На основі цього введено поняття осцилятора поглинання. Молекули які розміщені в розчині таким чином, що їх осцилятори перпендикулярні до вектора  $E$  світлової хвилі взагалі не будуть поглинати світло. У загальному випадку ймовірність поглинання пропорційна проекції  $E$  на напрям осциляції.

4) Напрям осциляторів різних смуг поглинання як правило не збігаються і по-різному орієнтовані відносно скелета молекули.

Повертаючись до розгляду основних закономірностей явища люмінесценції, слід, перш за все, відзначити, що надходить ззовні надлишкова енергія збудження може бути поглинена молекулою з переходом в збуджений стан тільки в тому випадку, якщо її величина дорівнює різниці енергій

основного ( $S_0$ ) і одного з порушених станів даної молекули. В окремому випадку фотолюмінесценції, це означає, що для переходу молекули з основного рівня  $S_0$  на перший збуджений рівень  $S_1$  (з різницею енергії  $\Delta E$ ) необхідний квант світла з такою ж енергією:

$$\Delta E_1 = h\nu \quad (1.17)$$

де  $h$  - постійна Планка, рівна  $6,62 \cdot 10^{-27}$  ерг·с,  $\nu$  - частота електромагнітних коливань світла ( $\text{с}^{-1}$ ). Або, враховуючи, що:

$$\nu = c / \lambda \quad (1.18)$$

де  $c$  - швидкість світла у вакуумі, а  $\lambda$  - довжина хвилі збуджуючого випромінювання,

$$\Delta E_1 = hc / \lambda \quad (1.19)$$

При дотриманні цих умов молекула може поглинути квант світла і за час, що дорівнює періоду світлових коливань ( $10^{-15}$ с), переходить з основного стану  $S_0$  в збуджений стан  $S_1$ . З огляду на те, що за такий малий відрізок часу ( $10^{-15}$ с) відстань між складовими молекулу атомами не встигає істотно змінитися, згідно з принципом Франка - Кондона, молекула виявляється на одному з вищих коливальних підрівнів збудженого стану  $S_1$  і потрібен певний час для розсіювання відповідної порції енергії  $\Delta E_{k1}$ , щоб молекула виявилася в нижчій точці енергетичної кривої  $S_1$ . Як уже згадувалося вище, збуджений стан молекули  $S_1$  є нестабільним, і через деякий час ( $t \approx 10^{-8}$  с) вона повертається у вихідне основний стан  $S_0$ , випромінюючи надлишкову енергію  $\Delta E_{k2}$  у вигляді кванта світла з довжиною хвилі  $\lambda_2$ , яка визначається рівнянням:

$$\Delta E_2 = hc / \lambda_2 \quad (1.20)$$

При поверненні молекули в основний стан вона знову виявляється, відповідно до принципу Франка - Кондона, на одному з вищих коливальних підрівнів основного стану і розсіює порцію енергії  $\Delta E_{k0}$ , щоб опинитися в нижчій точці енергетичної кривої  $S_0$ . Таким чином, яку випромінює у вигляді кванта світла енергія  $\Delta E_2$  виявляється менше поглинутої при порушенні енергії  $\Delta E_1$  на величину  $\Delta E_{k1} + \Delta E_{k2}$  і довжина хвилі випромінювання  $\lambda_2$  виявляється більше довжини хвилі збуджуючого кванта  $\lambda_1$ . Це характерне для люмінесценції

співвідношення лежить в основі встановленого емпіричним шляхом закону Стокса. Існують, однак, випадки, коли за рахунок внутрішнього перерозподілу енергії довжина хвилі люмінесценції виявляється менше довжини хвилі збуджуючого кванта. Цей різновид зветься антистоксовій люмінесценції.

Одним з найважливіших параметрів люмінесценції молекули є її квантовий вихід  $k$ , який визначається як відношення числа квантів люмінесценції ( $n_{\text{л}}$ ) до числа поглинених за той же час молекулою квантів збуджуючого випромінювання ( $n_{\text{п}}$ ):

$$k = n_{\text{л}} / n_{\text{п}} \quad (1.21)$$

При відсутності будь-яких процесів, крім люмінесценції, число поглинених квантів дорівнює числу квантів люмінесценції і  $k = 1$ . Однак молекула може повернутися з збудженого стану не тільки шляхом випромінювання надлишкової енергії у вигляді світла. Можливі такі процеси, як передача енергії збудження іншій молекулі, фотохімічна реакція, розсіювання енергії у вигляді тепла за участю навколишнього середовища і т. Д. Всі ці процеси призводять до того, що частка молекул, дезактивація яких відбувається за рахунок люмінесценції, зменшується, а може і взагалі стати близькою до нуля.

*1. Резонансна люмінесценція.* При порушенні атом або молекула, поглинаючи енергію, переходять з основного рівня  $S_0$ , на збуджений рівень  $S^*$ , зворотний перехід з  $S^*$  на  $S_0$  викликає поява кванта люмінесцентного випромінювання  $h\nu_{\text{вип}} = h\nu_{\text{пгл}}$ , тобто  $\lambda_{\text{вип}} = \lambda_{\text{пгл}}$  (Рис. 1.10.). Такий механізм має місце в парах деяких простих молекул (Hg, Na, Ca), а люмінесценція називається резонансною. Таке світіння виникає через  $10^{-8}$  с після порушення і тому не є звичайним розсіюванням.

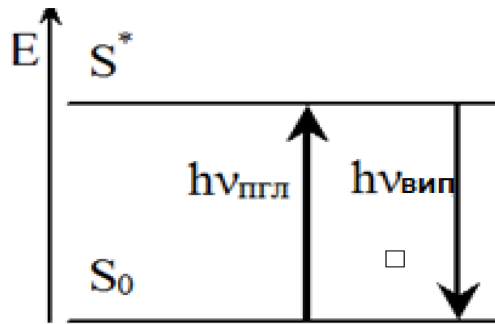


Рис. 1.7. Резонансна люмінесценція.

2. *Спонтанна.* У деяких випадках атом (молекула), що поглинув енергію  $h\nu_{\text{пгл}}$ , переходить з основного рівня  $S_0$ , на збуджений  $S_3^*$ . При взаємодії з іншими частинками вони передають їм частину отриманої енергії і переходять на збуджений рівень  $S_2^*$ . Випромінювальний перехід з  $S_2^*$  на  $S_0$  і утворює люмінесцентне світіння, яке в цьому випадку називається спонтанним. Перехід з рівня  $S_3^*$  на рівень  $S_2^*$  не супроводжується випусканням кванта електромагнітного випромінювання і тому називається безвипромінювальним. Енергія цього переходу поповнює запас внутрішньої енергії тіла.

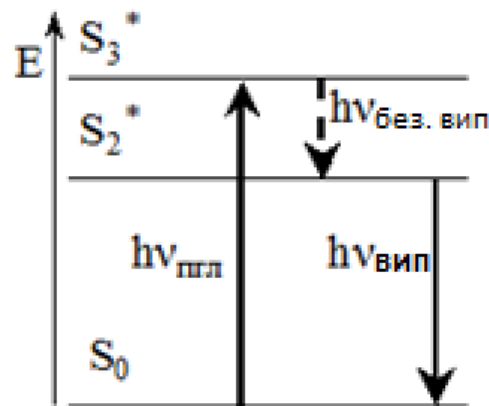


Рис. 1.8. Спонтанна люмінесценція.

3. *Індукційна (метастабільна).* У деяких речовин є енергетичні рівні ( $S_{\text{м.ст}}$ ), перехід з яких в основний стан малоімовірний. Тому атоми, що знаходяться на цьому рівні в збудженому стані можуть існувати відносно довго (до декількох годин). Такі рівні називаються метастабільними. Прискорити перехід в основний стан можна, повідомивши атому додаткову енергію, яка переводить атом на радіаційний рівень  $S_2^*$ . Така люмінесценція називається метастабільною (вимушеною або індукційною).

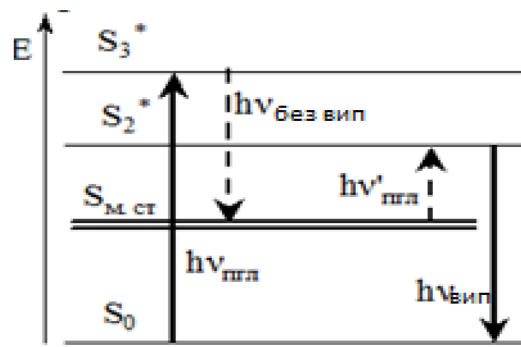


Рис. 1.9. Індукційна люмінесценція.

. 4. *Рекомбінаційна люмінесценція* - є результатом рекомбінаційних процесів - електронів і дірок в напівпровідниках, електронів та іонів у газах.

В загальному випадку речовини здатні люмінесцювати називають люмінофорами. Речовини з особливо тривалим післясвітінням називаються фосфорами.

Особливий інтерес кількісного та якісного аналізу органічних речовин представляє фотолюмінісценція, яка спостерігається у багатьох рідких і твердих тіл, як неорганічної, так і органічної природи. Порушення атомів і молекул зазвичай викликається ультрафіолетовою частиною оптичного діапазону.

Як правило, спектр фотолюмінесцентного випромінювання має більшу довжину хвилі, ніж збудливу випромінювання. Ця обставина викладена в правилі Стокса: при фотолюмінесценції спектр випромінювання в цілому і його максимум, зрушені по відношенню до спектру поглиненого випромінювання в бік більш довгих хвиль.

Якщо фотон поглинається вже порушеною атомом або молекулою, то  $\lambda_{\text{люм}} < \lambda_{\text{плл}}$ . Таке випромінювання називається антистоксовим.

Не всі фотони, поглинені речовиною, викликають вторинне світіння. Частина їх витрачає свою енергію на інші внутрішньо-молекулярні процеси, наприклад, на збільшення швидкості теплового руху. Кількісно цей бік процесу характеризують величиною, званої виходом люмінесценції.

Квантовий вихід - відношення числа квантів люмінесцентного випромінювання до числа поглинаються квантів за одиницю часу:

$$\eta_{\text{КВ}} = \frac{N_{\text{вип}}}{N_{\text{пог}}} \quad (1.22)$$

Вавилов встановив: в інтервалі довжин хвиль, що викликають в даній речовині люмінесценцію, число випромінюваних квантів пропорційно числу поглинених і не залежить від довжини хвилі, тобто  $\therefore \eta_{\text{КВ}} = \text{const}$

Енергетичний вихід - відношення потужності люмінесцентного випромінювання до потужності поглиненої:

$$\eta_{\text{ен}} = \frac{W_{\text{вип}}}{W_{\text{пог}}} = \frac{N_{\text{вип}} h \nu_{\text{вип}}}{N_{\text{пог}} h \nu_{\text{пог}}} = \eta_{\text{КВ}} \cdot \frac{\nu_{\text{вип}}}{\nu_{\text{пог}}} \quad (1.23)$$

Вихід люмінесценції залежить від природи речовини, наявності домішок, температури і деяких інших параметрів і має величину від 1-2% до 70-80%..

### 1.7. Якісний та кількісний люмінесцентний аналіз

Люмінесцентний аналіз поділяють на два види: макроаналіз, коли спостереження за випромінюванням ведуть неозброєним оком і мікроаналіз, коли спектри випромінювання досліджуються за допомогою спектральних приладів.

Макроаналіз застосовується при перевірці якості і сортування харчових продуктів, наприклад, для виявлення початкової стадії псування харчових продуктів. Зокрема, свіжа риба не люмінесціює, злегка зіпсована - випускає блакитне світіння, а сильно зіпсована - жовте і червоне [28].

Флуоресценцію визначають в розчинах з концентрацією від  $10^{-5}$  М і менш, в діапазоні, для якого спостерігається пряма залежність інтенсивності флуоресценції від концентрації. При більш високих концентраціях все більш значна частина надходить світла абсорбується зразком поблизу поверхні кювети, і лінійна залежність величини сигналу від концентрації що визначається речовини порушується.

Всі виміри інтенсивності флуоресценції повинні бути скоректовані з розчинником.

Інтенсивність флуоресценції залежить від:

- температури;



- розчинника;
- величини рН випробуваного розчину;
- присутності в розчині сторонніх часток;
- концентрації кисню в випробуваному розчині;
- стороннього освітлення.

Ефективність флуоресценції обернено пропорційна температурі. Для деяких речовин ефективність флуоресценції може знижуватися на 1 – 2 % при підвищенні температури на 1°C. У таких випадках потрібно термостатування зразків.

Інтенсивність флуоресценції обернено пропорційна концентрації кисню, що є сильнодіючим гасителем флуоресценції. За ступенем гасіння флуоресценції можна визначати концентрацію кисню в навколишньому середовищі. Для видалення кисню через випробуваний зразок пропускають азот або гелій.

Більшість флуоресціюючих речовин чутливо до світла. Під час опромінення у флуориметрі вони можуть піддаватися фото розкладанню з утворенням інших флуоресціюючих продуктів. Такі ефекти виявляються при спостереженні за відгуком детектора в часі і можуть бути знижені шляхом приглушення світла за допомогою світлофільтрів або екранів.

### **1.8. Застосування флуориметрії в мікроаналізі органічних зразків**

Спектри флуоресценції специфічні для визначених речовин. Тому флуоресценція може бути застосована для їх ідентифікації.

При кількісних визначеннях інтенсивність флуоресценції розчину випробуваного зразка порівнюють з інтенсивністю флуоресценції розчину стандартного зразка флуоресціюючої речовини видимої концентрації, вимірної в ідентичних умовах на одному і тому ж приладі.

Розчиняють випробуваний зразок в розчиннику або в суміші розчинників, зазначених у нормативній документації. Переносять розчин в

кювету або пробірку флуориметра і опромінюють збудливим світлом при довжині хвилі, зазначеної в нормативній документації.

Вимірюють інтенсивність світла, що випускається під кутом 90 градусів до збудливий світла після проходження через світлофільтр або монохроматор, що пропускає переважно випускається діапазон довжин хвиль.

Послідовність виконання аналізу наступна. Спочатку в прилад поміщають розчинник або суміш розчинників, що використовуються для розчинення речовини, і встановлюють пристрій, що реєструє на нульове значення. Потім вводять розчин стандартного зразка і встановлюють чутливість приладу таким чином, щоб відгук показань був не менше 50. Якщо для регулювання чутливості потрібна зміна ширини щілини, повинні бути повторені обнулення приладу на розчинник і вимір інтенсивності флуоресценції стандартного зразка. Після цього вводять розчини досліджуваних зразків невідомої концентрації і реєструють показання приладу. У разі лінійної залежності інтенсивності світла, що випускається від концентрації речовини розраховують останню в випробуваному розчині (C) за формулою:

$$C = \frac{I \cdot C_0}{I_0} \quad (1.24)$$

де  $C_0$  - концентрація речовини в стандартному розчині;

$I$  - інтенсивність світла, що випускається випробуваним розчином;

$I_0$  - інтенсивність світла, що випускається стандартним розчином.

Якщо інтенсивність флуоресценції не пряма пропорційна концентрації розчину, вимір може бути зроблено з використанням калібрувальної кривої.

У деяких випадках вимір флуоресценції випробуваного зразка може бути виконано щодо незалежного стандарту (наприклад, флуоресцентного скла або розчину іншого флуоресцентного речовини). В якості стандартів можуть бути використані: розчин відомої концентрації хініну в 0,05 М розчині сірчаної кислоти або розчин флуоресцеїну в 0,1 М розчині натрію

гідроксиду. У таких випадках концентрацію випробуваного зразка слід визначати з використанням попередньо отриманої в тих же умовах калібрувальної кривої.

### 1.9. Люмінесцентна мікроскопія.

Останнім часом в практиці наукових досліджень, широке застосування знайшли методи флуоресцентних зондів і міток - штучного впровадження флуоресціюючих молекул в білки і мембрани клітин, які самі по собі не люмінісцюють. Зонд - це молекула, яка утримується в досліджуваному з'єднанні електростатичними або гідрофобними силами. Мітка - флуоресціююча молекула, що заміщає якийсь фрагмент з'єднання і утворює ковалентні зв'язки з іншими сусідніми групами цим складним молекули [6].

Зміна флуоресценції зондів і міток дозволяє виявити конформаційні перебудови в білках і мембранах. Метод люмінесцентних міток використовують для виявлення в пробах наркотиків і вітамінів С, Д, В, В<sub>2</sub>, а так само інших речовин, що не володіють власною флуоресценцією.

Проводять мікроанализ за допомогою спеціальних люмінесцентних мікроскопів і спектрофлуориметра.

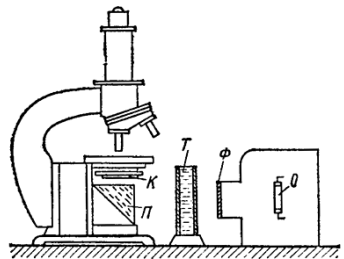


Рис. 1.10. Установа для люмінесцентної мікроскопії.

Установа для люмінесцентної мікроскопії (Рис. 1.10.) складається з ртутної лампи О, світлофільтра Ф, що пропускає тільки ультрафіолетове випромінювання, теплового фільтра Т, кварцової призми П, і конденсора До з кварцовими лінзами. Досліджуваний препарат розташовується на кварцовому або увіолеві предметному склі. Оптична частина мікроскопа виконана зі звичайного скла, тому що через неї проходить видиме світло, що виник в результаті флуоресценції. Люмінесцентна мікроскопія використовується при

вивченні флуоресціюючих природних препаратів або забарвлених флуоресціює фарбою.

Оптична схема спектрофлуориметра представлена на Рис. 1.11:

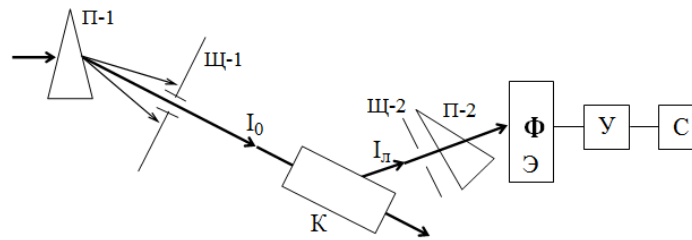


Рис. 1.11. Оптична схема Спектрофлуориметра

Білий світ від джерела S проходить через призму 1 і розкладається в спектр. За допомогою щілини Щ-1 виділяють потрібну ділянку спектра збудження і направляють його в кювету К, де знаходиться аналізоване речовина. Що виникає люмінесцентне випромінювання, через щілину Щ-2 і призму 2 направляють в реєструючий вузол: фотоелектронний помножувач (ФЕП), підсилювач сигналу (У) і самописець (С). Переміщення щілини Щ-2 в поперечному напрямку, дозволяє визначити спектральний склад люмінесцентного випромінювання.

Люмінесцентний аналіз чутливий, не вимагає поділу суміші, його можна проводити для біологічних середовищ, тканин і інших багатокомпонентних систем. Відмінною рисою люмінесцентного аналізу є можливість виявити мізерно малу кількість речовини до  $10^{-9}$ м. Слід зазначити, що люмінесцентним методом легко виявляються сполуки, для яких квантовий вихід люмінесценції більше 1%. Високим квантовим виходом володіє триптофан в білках, вітамін А, В<sub>6</sub>, Е, багато лікарських речовин.

### 1.10. Визначення кількісних параметрів молекулярних сполук методами флуориметрії

Флуориметрія (або флуоресцентна спектрофотометрія) є методом аналізу, заснованим на вимірі флуоресценції. Флуоресценція (один з видів люмінесценції) - випускання світла хімічною речовиною, що знаходиться в

збудженому стані, при переході в основний стан. Початковий перехід речовини з основного в збуджений стан відбувається при цьому виді люмінесценції за рахунок поглинання ним світлової енергії при опроміненні ультрафіолетовим, видимим або іншим електромагнітним випромінюванням. Флуоресценція органічних сполук охоплює спектральну область від 200 до 830 нм [9].

Як правило, довжина хвилі флуоресцентного випромінювання більше довжини хвилі збудження на 20 - 30 нм і більш через втрату частини енергії в збудженому стані (Стоксове зміщення). Поглинання і випускання випромінювання здійснюється завдяки переходу електронів між різними енергетичними рівнями або молекулярними орбіталями. Випускання світла відбувається через певний проміжок часу після його поглинання; цей проміжок часу є тривалість перебування молекули в збудженому стані. Для більшості флуоресціюючих речовин час загасання флуоресценції становить зазвичай  $10^{-9}$  –  $10^{-8}$  с. Короткий час життя флуоресценції відрізняє цей тип люмінесценції від фосфоресценції, яка представляє собою довгоживучі світіння, що має час життя від  $10^{-3}$  с до кількох хвилин.

Інтенсивність флуоресценції вимірюється в умовних одиницях, пропорційних відгуку детектора і позначається символом I.

Спектр збудження флуоресценції є залежність інтенсивності випромінювання в максимумі випускання флуорофора від довжини хвилі або частоти збуджуючого світла. При цьому спектр збудження зазвичай збігається зі спектром поглинання, так само як і інтенсивність флуоресценції пропорційна світлопоглинанню. Комбінування спектрів випускання, отриманих при різних довжинах хвиль збудження, дає тривимірну карту випускання.

Флуоресценція це фізичний процес, який описується формулою:



Збуджена молекула проходить в основний стан за час  $10^{-8}$ - $10^{-9}$ с з випромінюванням кванта світла. При цьому фотоелектрон опускається на

різні коливальні підрівні основного стану. Осцилятори Флуоресценція збігається з осцилятором довгохвильової смуги поглинання. Основні характеристики флуоресценції:

- спектри випромінювання і збудження;
- квантовий вихід;
- час життя;
- поляризація.

Спектр флуоресценції це залежність інтенсивності випромінювання від довжини хвилі (частоти) світла. Спектри флуоресценції зрушені в довгохвильову область по порівнянню з довгохвильової смугою поглинання (правило Стокса) і дзеркально - симетричний їй (правило Левшина). З правила Стокса слід, що енергія кванта флуоресценції менше енергії кванта збуджуючого світла. Як згадувалося вище це обумовлено подвійною втратою енергії на шляху між франк-кондоновськими станами і рівноважним електронно-коливальних основним станом. Також завдяки внутрішньої конверсії спектри флуоресценції не залежить від довжини хвилі збуджуючого світла. Довжина хвилі, при якій перетинаються спектри флуоресценції і поглинання, відповідає електронному 0-0 переходу. Енергія випромінюваного при цьому кванта світла відповідає енергії синглетного електронно-збудженого стану, яка може використовуватися при біохімічних реакціях. Спектри флуоресценції індивідуальна характеристика речовини. Коливальна структура спектрів флуоресценції відображає систему коливальних підрівнів основного стану молекули.

Квантовий вихід флуоресценції - відношення кількості висвітлених квантів до поглинутих. Він відображає ймовірність дезактивації синглетного збудженого стану випромінювальною шляхом.

Як правило, його величина менше 1. Квантовий вихід флуоресценції має постійні значення, незалежно від того світлом який довгі хвилі, в межах смуги поглинання висвітлюють речовина (закон Вавилова). Причина це-встановлення теплової рівноваги в системі збуджена молекула-середовище з

випусканням квантів світла з одного і того ж нижнього коливального підрівні збудженого стану. Закон сталості квантового виходу дає можливість визначати спектри поглинання речовин за допомогою флуориметрії, що має особливе значення для біологічних сполук, сильно розсіюють світло. При цьому змінюємо світло збудження світіння, щоб визначити: на скільки світло цієї довжини хвилі ефективний для порушення світіння:

$$f(\lambda) = n_{\text{фл}} / n_{\text{в}} \quad (1.26)$$

де  $n_{\text{фл}}$  - кількість квантів флуоресценції

$n_{\text{в}}$  - кількість квантів збуджуючого (падаючого на зразок) свата. При одній і тій же квантовій інтенсивності збуджуючого світла кількість порушених молекул, а отже, і інтенсивність флуоресценції буде прямо пропорційна поглинанню :

$$f(\lambda) = B(1-T). \quad (1.27)$$

Виходячи з цього спектр збудження повинен збігатися зі спектром поглинання. Такий збіг має місце для зразків з низьким значенням оптичної щільності  $D$  ( $D < 0,2$ ).

При проведенні кількісних визначень завжди здійснюється перевірка дотримання закону світлопоглинання і найчастіше будуються градувальні графіки по розчинам відомої концентрації.

Головна вимога до використовуваних розчинників – відсутність власного поглинання розчинника на довжині хвилі, на якій проводиться вимір.

## **РОЗДІЛ 2. АНАЛІЗ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ТА ЯКІСНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛІЗУ**

### **2.1. Вимоги до сучасного люмінесцентного флуориметра та спектрофотометру**

При проведенні типових лабораторних аналізів, наприклад для визначення концентрації або контролю чистоти, вибирається переважно спектроскопія УФ і видимої області, що дозволяє отримати простим і швидким способом точні результати дослідження. Рутинна аналітика означає регулярне використання певного методу аналізу, причому, як правило, з великою кількістю різних проб. В даний час відзначається безперечна тенденція до створення умов по доставці аналітичного приладу до досліджуваної проби, а не проби до приладу. В якості ключового поняття тут виступає термін «децентралізація». Досить прості аналізи проводяться прямо на робочому місці, тобто безпосередньо на виробництві, а не транспортуються в центральну лабораторію. Зрозуміло, що це економить і час, і гроші. У свою чергу, центральна аналітична лабораторія розвантажується від примітивної повсякденної роботи і може ефективніше використовуватися для вирішення більш складних завдань.

Основною передумовою правильного фотометричного вимірювання можна вважати наявність надійної високоякісної оптики. Відповідні характеристичні параметри, як то: мале розсіяне світло, висока фотометрична точність і хороша довготривала стабільність, - можуть бути просто запозичені з специфікацій обладнання. Знання цих даних дозволяє зробити правильний вибір на користь тих чи інших фотометрів від різних виробників.

Не менш важливе значення має також найбільш підходяща для поставленої аналітичної задачі реалізація методу і, нарешті, простота і надійність проведення аналізу. Це можливо лише за умови, що процес визначення буде недвозначним і ясным, з чіткою ідентифікацією зразків і наочним представленням результатів. Все більше зростає сьогодні роль таких



факторів, як зручність обслуговування і правильна розшифровка отриманих даних. Вибір оптимальної довжини хвилі для кількісного визначення здійснюється в сучасних спектрометрах з програмним управлінням. З спектрів стандартів, а також репрезентативних проб з матрицею вибирається довжина хвилі, що дає найкращі результати з точки зору лінійності, точності, вибіркості і відтворюваності.

Аналіз проводиться досить швидко і не потребує будь-яких спеціальних знань. Але певна кваліфікація потрібна, зокрема, фахівцям, що займаються розробкою перспективних методів, складанням і перевіркою надійності градуовальних графіків. При цьому іноді виявляється досить корисним забезпечення надійного захисту щодо програми, методу і функції калібрування щоб уникнути можливого некомпетентного втручання. Творець того чи іншого методу може тоді передати «закритий» в електронному сенсі прилад менш досвідченому колезі, якому тоді залишиться тільки запитувати потрібні методи і запускати їх в справу. Для цього досить вставити кювету в фотометр і натиснути пускову кнопку. Подібні аналізи можна проводити далеко від центральної лабораторії і без поточного спеціалізованого контролю [16].

Поряд з нормальною реєстрацією спектра рекомендується здійснювати і циклічне зняття спектру із інтервалами, що вільно обираються - для спостереження за змінами спектра в часі. Подання похідних спектрів за допомогою сучасних спектрометрів не складає проблеми. Для кінетичних досліджень пропонується реєстрація оптичної щільності в часі при обраній вимірюваній довжині хвилі. Програмування довжин хвиль дає можливість проводити вимірювання проби при багатьох довжинах хвиль. Відповідна програма для довжин хвиль знаходить застосування, наприклад, при контролі ступеня чистоти речовин і матеріалів.

Концентраційні вимірювання займають в рутинній аналітиці одне з найважливіших місць. На основі оптичної щільності та належних до них стандартних концентрацій прилад виконує необхідні обчислення і складає

відповідний градуирований графік. Для більш складних вимірювань, тобто в разі митних проб і складних сумішей, існують різні, іноді досить дорогі, способи вимірів, доцільно реалізовані за допомогою комп'ютеризованих програм розшифровки.

Найпростішу інтерпретацію забезпечує аналіз на основі однієї довжини хвилі, причому оптична щільність зазвичай вимірюється в максимумі спектру з подальшим обчисленням концентрації. Якщо потрібно визначити якусь речовину при наявності фону, то повинна бути проведена корекція базової лінії. Залежно від положення останньої може бути обраний метод подвійної або потрійної довжини хвиль. У той час як при вимірюванні за принципом подвійної довжини хвилі базова лінія проходить паралельно осі абсцис, при вимірюванні з потрійною довжиною хвилі проводиться корекція бази по прямій між двома опорними довжинами хвиль  $\lambda_1$  і  $\lambda_3$ , ліворуч і праворуч від вимірюваної довжини хвилі.

## **2.2. Огляд схемних рішень спектрофотометричного обладнання**

Для проведення флуориметричного аналізу використовують прилади двох типів: фільтраційний флуориметр і спектрофлуориметр.

Фільтраційний флуориметр складається з джерела випромінювання, первинного фільтра довжин хвиль, камери для зразка, вторинного фільтра довжин хвиль і системи детектування флуоресценції. Як правило, детектор поміщений під кутом 90° до збудливий світлового потоку. Геометрія прямого кута передбачає детектування тільки виробленого флуоресцентного сигналу. Однак детектор все-таки отримує частину збудливого випромінювання в результаті розсіюють властивостей самого розчину, а також через присутність в розчині твердих частинок. Для усунення цього залишкового розсіювання використовуються спектральні фільтри. Первинний фільтр відбирає короткохвильове випромінювання, здатне до порушення випробовуваних зразків, вторинний фільтр пропускає флуоресценцію в довгохвильовій області, але блокує розсіяне збудження.

Детектори флуориметра перетворюють оптичний сигнал в електричний за допомогою фотопомножувачів різних типів. Кожен тип детектора має специфічні властивості: спектральна область максимальної чутливості, ступінь посилення, співвідношення сигнал / шум.

Спектрофлуориметри відрізняються від фільтраційних флуориметра тим, що замість спектральних фільтрів в них використовуються монохроматори типу призми або решітки. Ці прилади є кращими для аналітичних цілей. У спектрофлуориметра монохроматори забезпечені щілинами. Чим вище щілина, тим вище дозвіл і спектральна частота, але менше чутливість. Вибір розміру щілини визначається поділом між довжинами хвиль збудливого і випускаючим випромінювання і необхідним рівнем чутливості.

Як джерела збудливого випромінювання в флуориметрі використовують:

- ртутні лампи низького тиску, що надають велику кількість довжин хвиль збудження, але не є джерелом випромінювання рівномірного спектра;
- ксенонові газорозрядні лампи, що забезпечують високо інтенсивне майже рівномірне випромінювання в широкому діапазоні спектра (300 - 800 нм) і досить інтенсивне в короткохвильовій області аж до 200 нм;
- лазери, що випромінюють світло високої інтенсивності в дуже вузькому інтервалі довжин хвиль (не більше 0,01 нм) і дозволяють завдяки цьому не використовувати монохроматори або первинні світлофільтри;
- світлодіоди і світлодіодні матриці, що випромінюють світло в певних діапазонах довжин хвиль.

Для розміщення аналізованих проб в флуориметр використовують, як правило, прямокутні кварцові кювети, відполіровані з усіх 4 вертикальних сторін, іноді - циліндричні кювети або пробірки. Зазвичай обсяг випробовуваних зразків становить 2 - 3 мл, але до деяких приладів додаються кювети місткістю від 100 до 300 мкл або капілярні тримачі для ще меншого обсягу.

Світіння тіл і поглинання ними електромагнітного випромінювання тісно пов'язане з явищами, що відбуваються в атомах і молекулах. З цієї причини вивчення спектрів випромінювання і поглинання є важливим засобом пізнання хімічного складу, структури і властивостей речовини.

За зовнішнім виглядом виділяють три основних типи спектрів: лінійчатих, смугасті і суцільні. За способом отримання розрізняють спектри випускання (емісійні спектри) і спектри поглинання (абсорбція спектри).

Лінійчаті спектри випускання складаються з окремих кольорових вузьких ділянок, розділених темними проміжками. Кожному такому ділянці (лінії) відповідає одна певна довжина хвилі. Вони з'являються в результаті електронних переходів всередині не взаємодіють один з одним атомів і іонів різних елементів. Лінійчаті спектри дають розріджені гази або пари в атомарному стані. Вивчення лінійчатих спектрів показало, що кожен хімічний елемент має свій характерний лінійчатий спектр, що відрізняється від спектрів інших елементів числом ліній, їх кольором і взаємним розташуванням.

Смугасті спектри являють собою сукупність більш-менш вузьких кольорових ділянок (смуг), розділених темними проміжками. Застосовуючи спектральні прилади з високою роздільною здатністю, можна спостерігати, що смуги складаються з ряду окремих тісно розташованих ліній. Смугасті спектри характерні для окремих молекул і стають все більш складними зі збільшенням числа атомів в них. Взаємодія атомів змінює структуру енергетичних рівнів. Крім електронних, у молекул з'являються додаткові енергетичні підрівні, пов'язані з коливальним рухом ядер атомів біля положення рівноваги і обертовим рухом молекул. Переходи електронів на ці підрівні і обумовлюють структуру смуг. Смугасті спектри дають розріджені гази або пари в молекулярному стані.

Розпечені тверді і рідкі тіла, а так само гази під високим тиском дають суцільний спектр, в якому кольору поступово переходять один в інший.

Суцільні спектри - це результат взаємодії між собою молекул і іонів. Прикладом суцільного спектра є спектр білого світла.

Спектри поглинання отримують, пропускаючи білий світ через досліджувану речовину (газ, пар, розчин). При цьому певні довжини хвиль будуть поглинатися середовищем більш інтенсивно, ніж інші. В результаті на тлі суцільного спектра з'являються темні лінії (або смуги), характерні для даної речовини. Досліди показують, що лінії поглинання завжди точно відповідають лініям (або смугам) спектра випускання досліджуваної речовини. Це відбувається відповідно до закону Кірхгофа: речовина поглинає тільки ті довжини хвиль, які саме може випускати. Цим законом пояснюється виникнення темних ліній (ліній Фраунгофера), які спостерігаються в спектрі сонячного випромінювання.

Спектри є джерелом найрізноманітнішої інформації про речовину. Методами якісного і кількісного (за інтенсивністю ліній) аналізу визначають хімічний склад речовини, будова атомів і молекул, характер міжмолекулярної взаємодії, структуру енергетичних рівнів, рухливості окремих частин великих молекул і т.д.

Метод визначення хімічного складу речовини називається якісним спектральним аналізом. Точне розташування ліній в спектрі випромінювання кожного елемента наводиться в спеціальних таблицях спектральних ліній. Для визначення вмісту елементів з низькою енергією збудження ( $2 \div 4\text{eV}$ ) використовують фотометрію полум'я (рис.2.1).

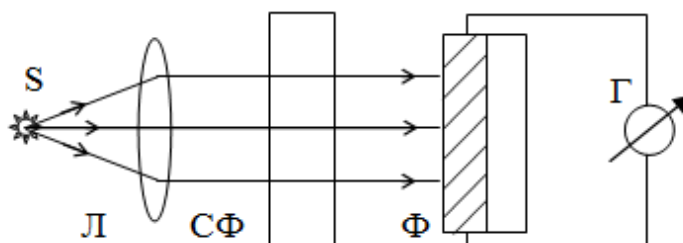


Рис. 2.1. Фотометрія полум'я

Світло від полум'я, в яке введена проба, пропускають через світлофільтр СФ, що має вузьку смугу пропускання  $\Delta\lambda$  в спектральній

області, відповідної шуканого елементу. Далі світло направляють на фотоелемент, з'єднаний з чутливим гальванометром. Маючи набір змінних світлофільтрів, можна вивчити різні ділянки спектру і встановити, чи присутній в пробі той чи інший елемент. Цим способом з великою точністю визначається наявність в пробі лужних і лужноземельних елементів, марганцю, хрому та ін. Фотометрія полум'я застосовується для аналізу природних вод, біологічних рідин, хімічних добрив, медичних препаратів.

Методи кількісного спектрального аналізу за інтенсивністю світіння ліній дозволяють визначати присутність навіть дуже малої кількості хімічного елемента в пробі ( $10^{-6} - 10^{-10}$  г).

### 2.2.1. Призмові спектральні прилади

Спектральними називаються прилади, призначені для вивчення емісійних і абсорбційних спектрів. Найбільш широко в спектральному аналізі використовуються призматичні спектральні прилади. В основі їх роботи лежить явище дисперсії світла - залежність показника заломлення від довжини хвилі. При цьому використовується область нормальної дисперсії.

Схема найпростішого спектрального приладу з призмою зображена на Рис.2.2.

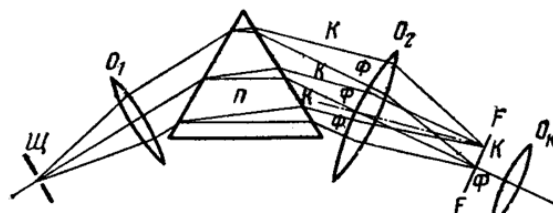


Рис. 2.2. Найпростіший спектральний прилад з призмою

Світло від щілини, що освітлюється джерелом світла, падає на лінзу і, проходячи через неї, утворює паралельний пучок, тому що щілину розташована в фокальній площині лінзи. Щілина і лінза розташовані в трубі, званої коліматором К. Після заломлення в призмі, пучки світла різних довжин хвиль фокусуються лінзою на екрані, де виходить ряд монохроматичних зображень щілини.

Залежно від виду і способу реєстрації спектра, призменні спектральні прилади поділяються на такі види:

а) спектрограф - використовується для фотографування спектрів;  
 б) спектроскопи - служать для візуального спостереження спектрів;  
 в) спектрофотометри - призначені для отримання і фотометрування ліній спектра (вимірювання їх відносної інтенсивності). З цією метою досліджуване випромінювання за допомогою монохроматора виводиться на фотоелемент (або фотопомножувач), що перетворює світловий сигнал в електричний.

г) монохроматори - призначені для виділення вузьких, практично монохроматичних ділянок спектра. Монохроматори зазвичай є складовою частиною більш складних пристроїв, наприклад, спектрофотометрів.

### 2.2.2. Дифракційна решітка у якості дисперигуючого елементу

В основі роботи дифракційної решітки лежить явище дифракції на щілини. Цей оптичний прилад являє собою пластинку, на якій створюється система регулярно чергуємих прозорих (щілин) і непрозорих для світла ділянок (Рис. 2.3.). Відстань між центрами сусідніх щілин називається постійної або періодом решітки -  $d$ .



Рис. 2.3. Пластинка, на якій створюється система регулярно чергуємих прозорих (щілин) і непрозорих для світла ділянок

При нормальному падінні плоскої хвилі різниця ходу хвиль від двох сусідніх щілин дифракційної решітки  $\Delta_r = d \cdot \sin\varphi$  (Рис. 2.3.). Зрозуміло, що для напрямків, де дифракція на щілини дає мінімум (min), інтенсивність буде дорівнює нулю і для всієї решітки. Розглянемо ті напрямки, в яких дифракція на щілини дає максимум (max). В цьому випадку при різниці ходу рівній непарному числу півхвиль, два пучка від сусідніх щілин прийдуть в точку

накладення в протифазі і погасять один одного. Тобто в цих напрямках теж будуть спостерігатися мінімуми інтенсивності. Якщо ж на різниці ходу вкладеться парне число напівхвиль, то пучки від сусідніх щілин будуть взаємно підсилювати один одного, утворюючи в таких напрямках максимуми. Т.ч. умова освіти максимумів матиме вигляд:

$$d \cdot \sin \varphi = 2k \frac{\lambda}{2} \quad (2.1)$$

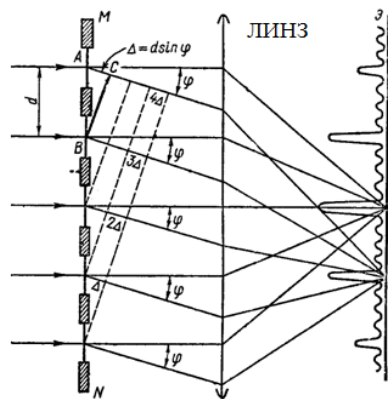


Рис. 2.4. Дифракційна решітка

Якщо паралельний пучок світла падає на дві щілини з розмірами і відстанями між ними, які порівняні з довжиною хвилі світла, виникає ефект інтерференції. Відповідно до закону Гюйгенса, обидві щілини є джерелами простих або сферичних хвиль, які взаємодіють один з одним в просторі, тобто виникає інтерференція: максимальні амплітуди, що збігаються складаються, протилежні амплітуди пригнічують один одного. Якщо накреслити максимуми хвиль у вигляді кіл з центрами в щілинах, відстань між якими дорівнює  $a$  (постійна решітки), то вийде картина як на Рис. 2.5..



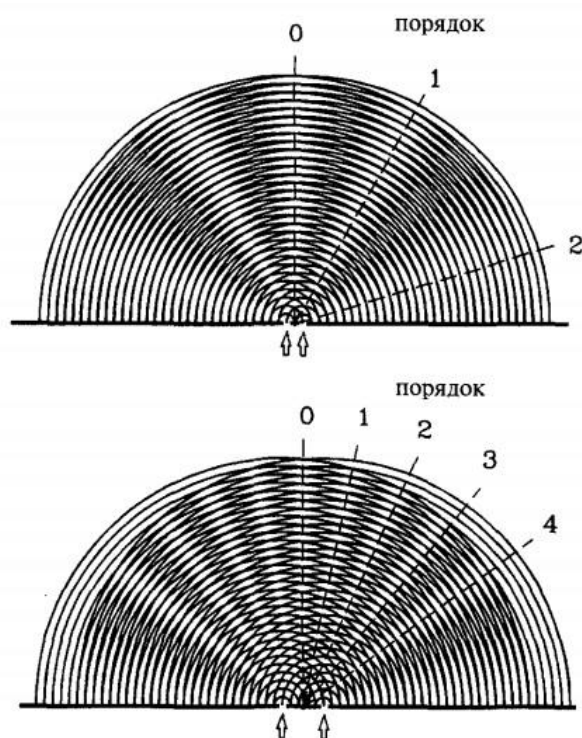


Рис. 2.5. Накладання тільки двох сферичних хвиль монохроматичного світла утворює в залежності від відносної відстані між ними (постійної решітки  $a$ ) типову інтерференційну картину з позначеними максимумами (перетин ліній) і мінімумами в різних напрямках (перетин пропусків між лініями). Щодо нормалі спостерігаються максимуми 0-го, 1-го, 2-го, і т. д. порядків інтерференції. Чим більша відстань від щілин, тим більше порядків перекривається.

В одних напрямках хвилі підсилюють одна одну, в інших напрямках вони пригнічують один одного. На цьому принципі заснована дія оптичних решіток з декількома сотнями щілин на міліметр. Напрямок максимумів залежить від того факту, що гомологічні промені відрізняються тільки на одну довжину хвилі або кратні їй (рівняння решітки):

$$\sin \beta - \sin \varepsilon = \pm m \frac{\lambda}{a} \quad (2.2)$$

$$\beta = \arcsin \left( \pm \frac{m\lambda}{a} + \sin \varepsilon \right) \quad (2.3)$$

Знак «+» відноситься до прозорих, а знак «-» — до відображуючих решіток.

Роздільна здатність решітки  $R = \lambda / d\lambda$  — це її здатність розділювати дві сусідні спектральні лінії. Відповідно до закону Релея, це — той випадок, коли максимум однієї хвилі падає на мінімум другого. Якщо  $N$  — загальна кількість штрихів решітки, тоді:

$$R = \frac{\lambda}{d\lambda} = m \times N \quad (2.4)$$

Чим вище порядок  $m$  і більша кількість штрихів, тим вища роздільна здатність решітки.

Наприклад, решітка з 600 лініями мм і шириною 50 мм дає для першого порядку інтерференції числове розширення  $R = 600 \times 50 = 30\,000$ . Якщо підставити рівняння 2.2 в рівняння 2.44 і позначити загальну ширину решітки як  $W = N \times a$ , то отримаємо:

$$R = W \times \frac{\sin \varepsilon - \sin \beta}{10^{-6} \lambda} \quad (2.5)$$

Таким чином, роздільна здатність решітки залежить від її ширини  $W$ , середньої довжини хвилі і використаної геометрії.

Роздільну здатність не слід плутати з шириною смуги. Наприклад, для 500 нм отримуємо  $d\lambda = 500 / 30000 = 0,0166$  нм. Однак, так як ефективна ширина смуги спектрометра також залежить від ширини щілини і таких оптичних ефектів, як аберація, астигматизм або кома, на практиці дійсна ширина смуги завжди гірша.

Для  $a = 6\,000$  нм і  $N =$  від 2 до 100 ліній отримуємо розподіл енергії, як показано на рис. 3.4. Очевидно, що зі збільшенням кількості штрихів максимума розсіювання загострюються (звужуються) і роздільна здатність решітки зростає.

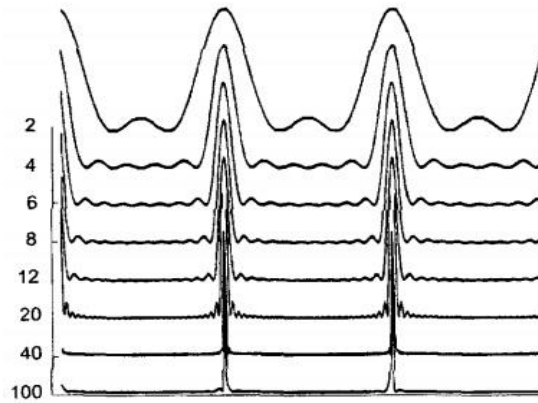


Рис. 2.5. Відносна інтенсивність розсіювання решітки з 2—100 щілинами з фіксованим відстанню  $a$  і із заданим значенням кута падіння  $\varepsilon = \theta$  в залежності від кута розсіювання  $\beta$

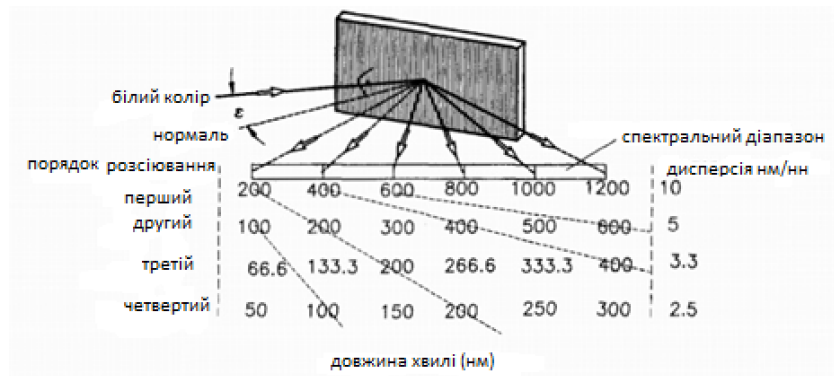


Рис. 2.7. Відхилення (дисперсія) монохроматичного світла в дискретних значеннях.

У фізичному сенсі дифракційна решітка є набором випадкових але розподілених паралельних оптичних збурень. В обговорюваних нами решітках штрихи наносилися механічно або світлотехнікою в (скляній) матриці і володіли відбивачами або пропускаючими властивостями незалежно від самої матриці [20].

Зрозуміло, що для різних довжин хвиль положення і максимумів і мінімумів інтенсивності на екрані буде різним. Якщо направити на решітку пучок світла, що складається з дискретного набору довжин –  $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4, \dots$ , то отримаємо в межах кожного з головних максимумів дискретний набір відповідних ліній - спектр даного випромінювання. При дифракції білого

світла, світла з безперервним набором довжин хвиль від 400 нм до 750 нм, на місці головних максимумів виникнуть райдужні смужки, з плавними переходами одного кольору в інший. Тобто пучки світла з безперервним набором довжин хвиль дають суцільний спектр.

Т.ч. дифракційна решітка дозволяє визначити, з яких довжин хвиль полягає пучок цікавить нас випромінювання, і може бути використана як спектральний прилад.

### 2.3. Роздільна здатність спектральних приладів.

Якість роботи всіх спектральних оптичних приладів оцінюють двома основними характеристиками: дисперсією і роздільною здатністю.

Дисперсія приладу визначає ширину спектральних ліній і кутова (або лінійне) відстань між двома лініями, що відрізняються по довжині хвилі на одиницю (наприклад, на 1 нм).

Кутовою дисперсією  $D$  називається величина:

$$D = \frac{d\varphi}{d\lambda} \quad (2.6)$$

де  $d\varphi$ - кутова відстань між лініями спектра, що відрізняються по довжині хвилі на  $d\lambda$ .

Знайдемо  $D$  для дифракційної решітки, продиференціюємо (2.6).

$$\text{Отримаємо: } d \cos \varphi \cdot d\varphi = k \cdot d\lambda.$$

Звідки:

$$D = \frac{d\varphi}{d\lambda} = \frac{k}{d \cdot \cos \varphi} \quad (2.7)$$

З формули (2.7) випливає, що величина кутової дисперсії  $D$  решітки обернено пропорційна її періоду  $d$  і тим більше, чим вище порядок спектра. Для невеликих кутів  $\cos \varphi \approx 1$

$$D = \frac{k}{d} \quad (2.8)$$

Це означає, що в області головних максимумів невисоких порядків ( $k = 1, 2$ ) спектр розтягнутий рівномірно.

Роздільна здатність (сила) визначає мінімальну різницю довжин хвиль ліній, які в спектрі сприймаються окремо. Роздільна здатність спектральних приладів визначається виразом:

$$R = \frac{\lambda}{d\lambda} \quad (2.9)$$

де  $\lambda$  - середнє значення довжин хвиль  $\lambda_1$  і  $\lambda_2$  для двох близько лежачі ліній, очевидним роздільно;  $d\lambda = \lambda_1 - \lambda_2$ .

Згідно з критерієм Дж. У. Релея, спектральні лінії вважаються повністю дозволеними, якщо максимум однієї збігається з найближчим мінімумом іншої. У цьому випадку інтенсивність в мінімумі між лініями становить 80% від інтенсивності в максимумі. Такий підхід дає для роздільної здатності дифракційної решітки:

$$R = \frac{\lambda}{d\lambda} = kN \quad (2.10)$$

де  $k$  - порядок спектра, а  $N$  - загальне число щілин на решітці.

На практиці поряд з решітками, що працюють на провіт, використовуються і дифракційні решітки, що працюють на відображення.

Можливості спектрального аналізу пов'язані, перш за все, з тією обставиною, що багато молекули, що входять до складу функціональних механізмів клітини, мають досить характерними спектрами поглинання, а найчастіше - і люмінесценції.

Зміна спектральних і люмінесцентних характеристик показують на зміну метаболічних процесів клітини зокрема і організму в цілому, а отже наявність патологічного стану [7].

Дослідження спектральних і люмінесцентних методів в медичній практиці і біології має теоретичне і прикладне, діагностичне значення. Воно дозволяє вивчати механізми дії лікарських препаратів, фізичних, хімічних та інших факторів на клітини, організм і біологічні рідини.

Переваги та обмеження кожного з методів визначається не тільки інформативністю, а також властивостями досліджуваної речовини цінності одержуваної інформації з простотою, незначними витратами часу і коштів на проведення аналізу. Не дивлячись на те що теоретичні основи люмінесцентних і спектральних методів однакові основи дослідження засновані на різних принципах.

#### **2.4. Методичні прийоми кількісного люмінесцентного аналізу**

Як було згадано вище, один з основних способів збудження люмінесценції полягає в використанні квантів світла з коротшою, ніж у люмінесцентного випромінювання, довжиною хвилі. При цьому існують різні способи збудження люмінесценції мікрооб'єкту для подальшого мікроскопічного вивчення його. Найпростіший спосіб представлений на рис. 2, і полягає в тому, що з сумарного світлового потоку джерела (1), сформованого колекторної лінзою (2), вузькосмуговим фільтром (3) вирізається необхідне для збудження випромінювання, що лежить у вузькому спектральному інтервалі. Це випромінювання конденсором (4) фокусується на мікрооб'єкт (5) і збуджує його люмінесценцію. Світло люмінесценції об'єкту (5) і пройшовши крізь об'єкт збудливу випромінювання (на 2-3 порядки більше інтенсивне, ніж люмінесценція) збирається мікрооб'єктива (6), що формує зображення мікрооб'єкту в фокальній площині окуляра (8), розташований між мікрооб'єктива (6) і окуляром (8) замикає світлофільтр (7) призначений для повного усунення пройшов через мікрооб'єкт (5) збудливого випромінювання, що дає можливість розглядати через окуляр (8) зображення мікрооб'єкту в світлі його люмінесценції.

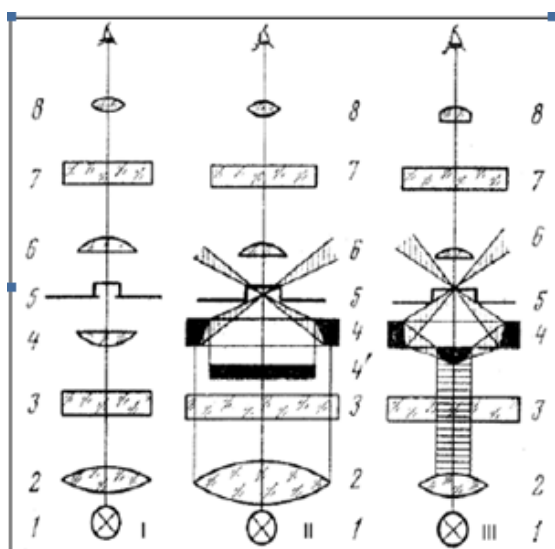


Рис. 2.8. Способи збудження і реєстрації люмінесценції мікрооб'єкта

I – спостереження в проводжуваному світлі;

II – система з параболоїд-конденсатором;

III – освітлення по методу темного поля параболоїд-конденсатором.

Недоліки цього способу, званого порушенням люмінесценції в світлі, очевидні. По-перше, найбільш яскраво люмінесціюють нижні шари мікрооб'єкту, в той час як найбільш зручні для спостереження верхні шари, тобто метод можна застосовувати тільки для досить тонких зрізів. Друга особливість, хоча і не носить принципового характеру, проте, накладає серйозні обмеження на застосування цього методу і полягає в труднощі відділення проходить через об'єкт інтенсивного збудливого випромінювання.

Для дослідження поверхневих шарів в цьому випадку використовують методи дослідження загасання хвиль, що генеруються при внутрішньому відображенні світла.

*Спектроскопія внутрішнього відображення (ВВ)* - добре відомий метод вивчення реакцій в розташованому поблизу безперервної поверхні шарі порядку довжини хвилі світла. В основі СВО лежить явище відбиття світла на кордоні між двома прозорими середовищами з різними показниками заломлення. При повному внутрішньому відбитті світлового пучка в оптично більш щільне середовище в оптично менш щільною середовищі поблизу поверхні, що відбиває генерується електромагнітна

хвиля. Ця хвиля є частиною об'єкту, що відбивається світлового пучка і відповідає цій невеликій частці світла, що проникає в середу з меншим показником заломлення. Ця загасаюча електромагнітна хвиля і є тим самим «чутливим» елементом, який оптично взаємодіє з сполуками. Що знаходяться поблизу або на досліджуваній поверхні. За оптичним взаємодією в даній системі можна стежити за зміною інтенсивності світла, який виходить з оптично більш щільного середовища.

Ми не будемо поглиблюється в даний метод, так в роботі він використовуватися на буде. Варто тільки відзначити, що цей метод активно застосовується в сучасній імунології.

*Збудження також проводять лазерним пучком.* Лазерний пучок має низку параметрів, які досить постійні в часі, а при взаємодії з різними типами матеріалів легко і специфічно змінюються, причому така модифікація піддається вельми точному аналізу. До них відносяться інтенсивність, монохроматичність, фаза, поляризація і т.д. Переваги лазера пов'язані з тим, що ці параметри відтворюються з похибкою менше 1%, а сам лазерний контроль є неруйнівним (тобто без обурення і забруднення досліджуваної системи).



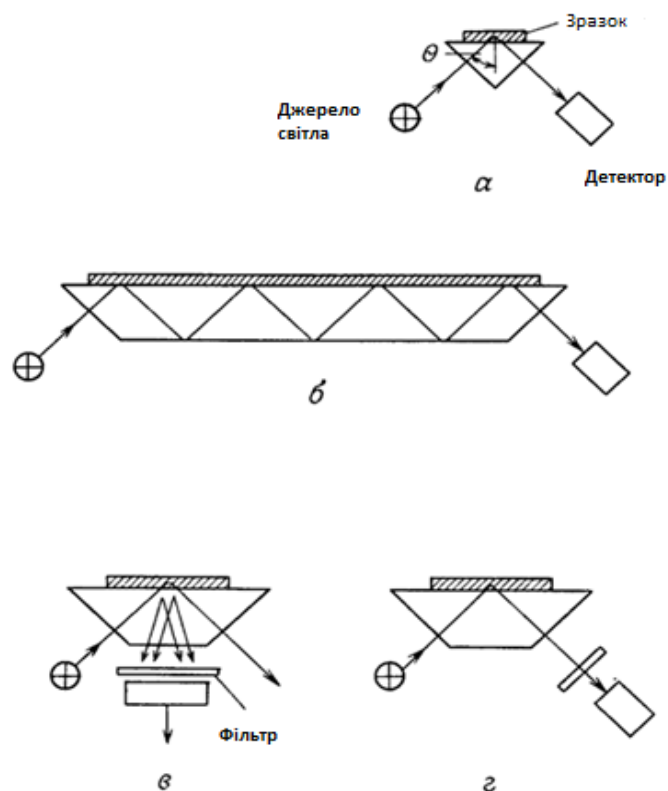


Рис. 2.9. Схеми різних елементів внутрішнього відображення:

- а) призма з одноразовим відображенням.
- б) елемент з багаторазовим відображенням.
- в) детектування флуоресценції під прямим кутом
- г) детектування флуоресценції по ходу відбитого променя

Винятком з розглянутих вище приладів є прилади досліджувані ХЛ. Ці прилади не вимагають джерела збудження, оскільки світло генерується в ході хімічної реакції. Інтенсивність ХЛ пропорційна швидкості генерації продукту, а не його концентрації. Тут вимірюваним параметром є стаціонарне випромінювання світла в міру взаємодії визначається речовини в фазі реагенту.

## 2.5. Прилади реєструючого обладнання і техніка люмінесцентного спектрального аналізу

### 2.5.1 Лавинні фотодіоди

Лавинний фотодіод - це напівпровідниковий фотоприймач, в якому підвищення квантової ефективності реалізується за рахунок внутрішнього посилення завдяки лавинному множенню в назад зміщеному р-n переході [2].

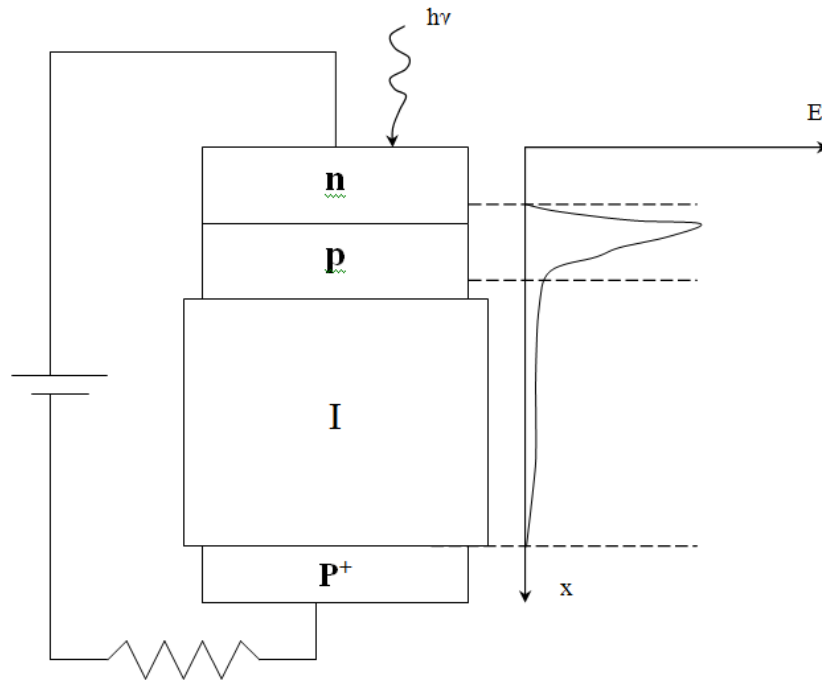


Рис. 2.10. Принцип дії лавинного фотодіода.

Для існування лавинного множення необхідно виконати дві умови:

1) Електричне поле області просторового заряду повинно бути достатньо великим, щоб на довжині вільного пробігу електрон набрав енергію, більшу, ніж ширина забороненої зони:

$$q \cdot \lambda > \frac{3}{2} E_g \quad (2.11)$$

2) Ширина області просторового заряду повинна бути істотно більше, ніж довжина вільного пробігу

$$\lambda \ll W \quad (2.12)$$

Мікропіксельні лавинні фотодіоди (МЛФД) є прилади нового типу для детектування спалахів світла малої інтенсивності (на рівні одиночних фотонів). Основні переваги цих детекторів, в порівнянні з традиційними приладами (ФЕП) в тому, що МЛФД є більш компактним приладом,

нечутливим до магнітного поля, може мати більшу ефективність реєстрації світла, поєднуючи при цьому меншу вартість.

Використання таких фотодіодів дозволяє створити компактні детектори випромінювань, які можуть бути застосовані для розробки приладів нового покоління широкого призначення. Відзначимо деякі області їх застосування: фундаментальні фізичні дослідження; медична діагностична апаратура: рентгенівський томограф, ПЕТ, однофотонний емісійний томограф; реєстрація випромінювань (індивідуальні дозиметри, радіаційна розвідка, моніторинг) і т. д.

МЛФД вдає із себе набір мікроелементів - пікселів. Кожен піксель працює в так званому «гейгеровський» режимі і здатний детектувати одиничні фотони. «Гейгеровський» режим забезпечує дуже високий коефіцієнт посилення до 10<sup>6</sup>. Однак, піксель працює як лічильник фотонів в режимі «так / ні» і не здатний реєструвати інтенсивність падаючого випромінювання. Основна ідея при створенні МЛФД - це об'єднання безлічі таких лічильників (осередків, пікселів) в матрицю на загальній кремнієвій підкладці. Якщо інтенсивність світлового спалаху невелика, то ймовірність виникнення двох і більше фотоелектронів в кожному окремому пікселі мала, в результаті чого утворюється на загальне навантаження сигнал пропорційний числу падаючих на прилад фотонів.

Таким чином, МЛФД, як ціле, є приладом здатним реєструвати інтенсивність світла (кількість фотонів) з динамічним діапазоном, відповідним числу пікселів фотодетектора.

На сьогоднішній день існують дві основні конструкції МЛФД - поверхнево-піксельна і глибинна. Поверхнево-піксельна дозволяє створювати щільності пікселів близько 1000 шт / кв.мм. На відміну від цього, нова глибинна технологія дозволяє створювати щільності аж до 40 000 шт / кв.мм, що значно збільшує динамічний діапазон МЛФД і розширяє області їх можливого застосування [4].

## 2.5.2 Стандартний мікроспектрофлуориметр

Стандартний мікроспектрофлуориметр є найбільш простим у виготовленні, його принципова схема, наведена на Рис. 2.11. Основним елементом оптичної схеми приладу служить трьохпризменний світосильний спектрограф ІСП-51 зі скляною оптикою на область спектра від 370 до 1000 нм. Зчленування спектрографа 1 з мікроб'єктивом 14, досягається тим, що вхідна щілина 7 спектрографа поміщена в площину проміжного зображення мікроскопа, що складається з мікроб'єктива 14 і окуляра Гюйгенса 4 (лінзи 6 і 8).

Оптична система мікроспектрофлуориметра при реєстрації спектрів люмінесценції клітин працює наступним чином. Джерело світла - ртутна дугова лампа 25 - висвітлює колекторну лінзу 24, діючі розміри якої обмежуються діафрагмою 23. Після цього світловий потік проходить через водний Теплофільтр 22 (4% розчин  $\text{CuSO}_4$ ) і світлофільтри 21, які виділяють необхідну для збудження люмінесценції лінію випромінювання ртуті.

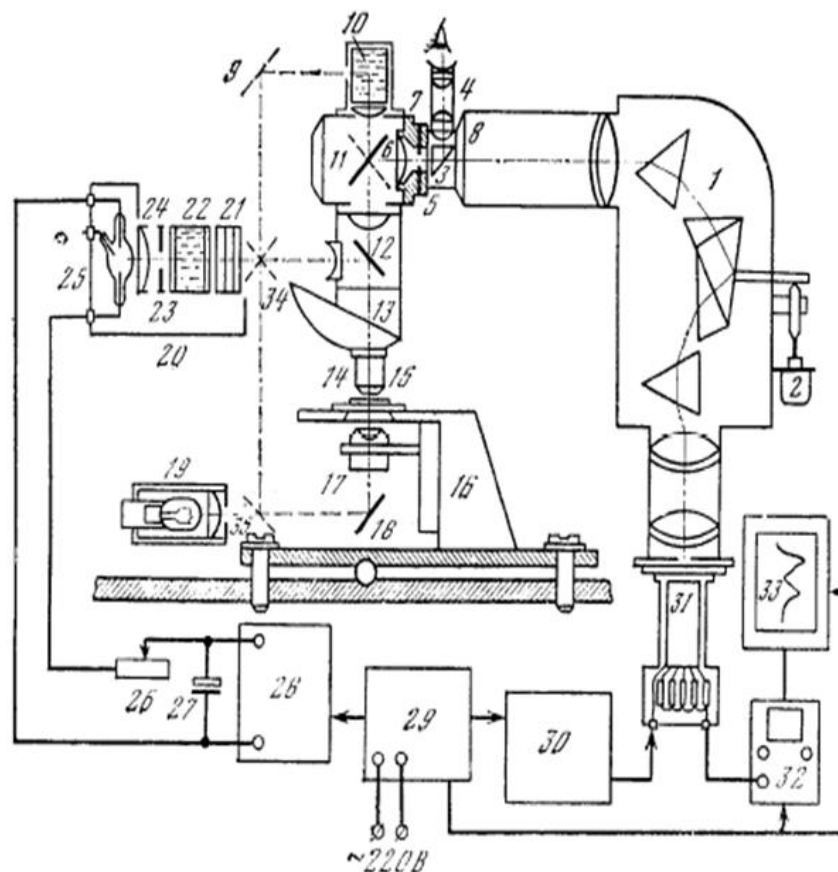


Рис. 2.11. Блок-схема мікроспектрофлуориметра

1-призменний монохроматор (ІСП-51); 2-мотор розгортки спектра;  
 3-поворотна призма; 4-візирна трубка; 5-вузол вхідної щілини; 6-8-  
 лінзи окуляра Гюйгенса; 7 -вхідна щілина; 9,11,18,34,35- дзеркала; 10-  
 кювета; 12-світлоділильна пластина з інтерференційним покриттям; 13-  
 револьверний тримач мікрооб'єктів; 14-об'єктив; 15-препарат.

Збудливу люмінесценцію випромінювання відбивається opak-  
 ілюмінатором з інтерференційної світловідділювальною платівкою 12 і  
 мікрооб'єктива 14, встановленим в стандартному револьверному тримачі від  
 будь-якого біологічного мікроскопа, направляється на мікрооб'єкт 15. При  
 цьому в площину мікрооб'єкту проектується зображення діафрагми 23, що є,  
 таким чином, польовий діафрагмою.

Світло люмінесценції препарату, зібране високоапертурним  
 мікрооб'єктивом 14 і пройшло через платівку 12 з інтерференційним  
 покриттям, поворотним дзеркалом 11 і лінзою 6, направляється в  
 спектрограф ІСП-51. При цьому в площині вхідної щілини 7 спектрографа  
 знаходиться проміжне люмінесцентне зображення мікрооб'єкту. Таким  
 чином, вхідна щілина 7 спектрографа вирізає необхідний ділянку  
 збільшеного зображення досліджуваної клітини. Ця ділянка і його  
 розташування у вхідній щілині спектрографа можна візуально спостерігати  
 при введенні в хід променів поворотною призми 3.

Проміжне зображення об'єкта дослідження в площині польовий  
 діафрагми окуляра Гюйгенса (вхідний щілини 7 спектрографа) розглядається  
 за допомогою візирної трубки 4. При цьому остаточно вибирається для  
 дослідження ділянку мікрооб'єкту. Потім поворотна призма 3 виводиться з  
 ходу променів і світловий потік з вхідної щілини надходить в коліматор  
 спектрографа. Світло люмінесценції вибраної ділянки об'єкта дослідження,  
 обмеженого вхідною щілиною, розкладається призмами в спектр, зображення  
 якого фокусується вихідним об'єктивом фотокамери в площину касети для  
 фотопластинок, де встановлюється вихідна щілина спектрографа.  
 Безпосередньо за нею знаходиться фотокатод фотоелектронного

помножувача зі спектральною чутливістю від 400 до 800 нм. Таким чином, реєструючий вузол разом з вихідною щілиною і кожухом ФЕУ та його подільник напруги може бути встановлений замість звичайної касети для фотопластинок. Роздільна здатність спектрографа при цьому кілька погіршується, однак для широких ліній люмінесценції біологічних об'єктів це поліпшення не настільки істотно. Препарат 15 розміщується на предметному столику 16 від мікроскопа. За допомогою конденсора 17, дзеркала 18 і освітлювача 19 можливо освітлення препарату проходять світлом від лампи розжарювання. Таке освітлення може бути корисним для попереднього вибору ділянки клітини без зайвого освітлення його променями синьо-фіолетової або УФ-області спектра. Випромінювання цього ж джерела світла, виділене вузькосмуговим інтерференційним світлофільтром, може бути використано для контролю розсіюють властивостей досліджуваної області об'єкта, як це згадувалося вище.

Цінним якістю описаної вище базової моделі є простота її виготовлення з вузлів по суті справи знятих з озброєння сучасних лабораторій оптичних приладів. Володіючи високою чутливістю, ця модель мікроспектрофлуориметра може бути використана для дослідження спектрів люмінесценції клітин в області 500-700 нм без корекції реєстрованої кривої на спектральну чутливість установки.

Основним недоліком моделі був завал спектральної характеристики в області від 400 до 500 нм, який визначається спектральною характеристикою стандартної «жовтої» інтерференційної світловідділювальної пластинки 12. Розширити спектральний діапазон мікроспектрофлуориметра можна, замінивши цю платівку на «синю» світловідділювальну пластинку. Для збудження люмінесценції будуть використовуватися тільки промені УФ-області спектра в діапазоні від 300 до 400 нм. При цьому спектральний діапазон мікроспектрофлуориметра, в якому можна реєструвати спектри люмінесценції об'єкту практично без корекції їх на спектральну чутливість приладу, збільшується від 420 до 700 нм.

### 2.5.3. Малогабаритний інвертований мікроспектрофлуориметр

Описана вище установка для мікроспектрального люмінесцентного аналізу клітин має більшу вагу і досить громіздка. У лабораторних умовах ці обставини не відіграють істотної ролі. У той же час необхідність пошуків об'єктів досліджень, найбільш зручних для вирішення проблеми, вимагає найчастіше проведення експедиційних робіт. Особливо важливим це буває при вивченні молекулярної організації функціональних механізмів живої клітини. У цих умовах компактність приладу, його мала вага і габарити, а, отже, транспортабельність набувають істотне значення.

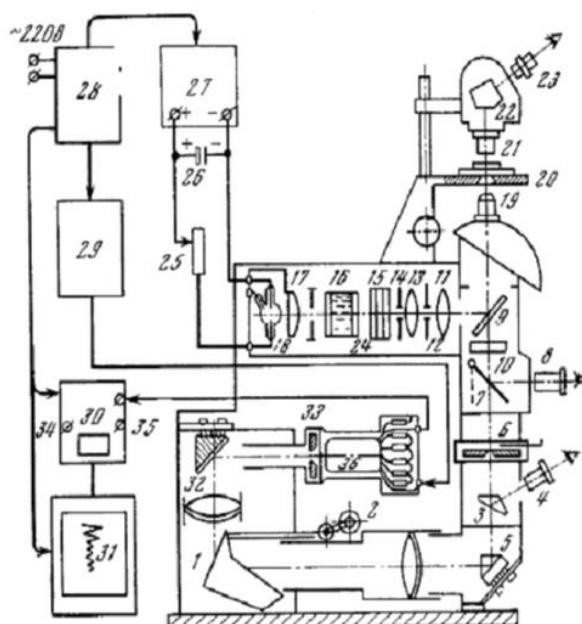


Рис. 2.12. Блок-схема інвертвального мікроспектрофлуориметра: 1-призменний монохроматор; 2-кулачок розгортки спектра; 3-призма; 4-окуляр; 5-поворотна призма; 6-щілинна діафрагма; 7-дзеркало; 8-окуляр; 9-змінна інтерференційна світлоділювальна пластина; 10-замикає світлофільтр; 11,13- лінзи; 12-польова діафрагма; 14- апертурна діафрагма; 15- світлофільтри; 16- рідинний Теплофільтр; 17-колектор; 18- джерело світла; 19- мікро об'єтив; 20 предметний столик з препаратом;

Блок-схема малогабаритного мікроспектрофлуориметра приведена на Рис. 2.12. Цей прилад являє собою подальшу модифікацію базової моделі

(Рис. 2.11). Основна відмінність полягає, перш за все, в застосуванні інвертованою схеми спостереження та реєстрації люмінесценції. Це створює великі зручності при дослідженні люмінесценції і біолюмінесценції клітин дрібних морських тварин, яких можна в спеціальній кюветі помістити на предметний столик 20, отпрепарувати за допомогою біокулярної лупи 22 і, розмістивши в поле зору об'єктива 19 мікроспектрофлуориметра необхідну ділянку клітини, приступити до його спектрального дослідження [30].

Решта змін в порівнянні з базовою моделлю (Рис. 2.11) носять непринциповий конструктивний характер і спрямовані на збільшення компактності системи.

## **2.6. Особливості спектрофотометричного аналізу вітамінів та вітаміноподібних сполук**

Поряд з вивченням будови вітамінів і їх синтетичним створенням, з'явилися проблеми, пов'язані з необхідністю створення чистих штучних зразків, в зв'язку з цим стали активно розроблятися методи аналізу якості і кількості випущених ліків.

В цілому методи оцінки можна поділити на:

- Фізичні, в яких передбачається вивчення фізичних властивостей, не вдаючись до створення хімічних реакцій: визначення прозорості, розчинності, ступеня каламутності, вологості, кольоровості, щільності, температури плавлення, кипіння і затвердіння.
- Хімічні, засновані на хімічних реакціях: визначення зольності, характерних числових показників масел і жирів, реакції середовища (рН).
- Фізико-хімічні, при яких досліджують фізичні явища, що відбуваються в результаті різних реакцій: колориметрія, спектрофотометрія, рефрактометрія, емісійний і флуоресцентний методи, хроматографічний і електрохімічний.



Найпростішим методом визначення вмісту жиророзчинних вітамінів в оліях різної природи є флуоресцентний метод, при якому вимірюють інтенсивність флуоресценції. Флуоресценція є явище, що відбувається при взаємодії електромагнітного випромінювання з речовиною, це явище обумовлено переходом з порушеної синглетного рівня в основний стан, перехід супроводжується випромінюванням кванта світла (свіченням)

Спеціальний прилад - флуориметр - фіксує отриману інтенсивність флуоресценції. Отримані дані досліджуваного речовини порівнюються з даними стандартного зразка з відомою концентрацією і тим самим визначається зміст чистого тіаміну за формулою:

$$X = \frac{(n-n_2) \cdot C}{(n_1-n_2)} \quad (2.14)$$

де  $C$  - концентрація стандартного зразка,  $n$  - інтенсивність флуоресценції досліджуваного розчину,  $n_1$  - інтенсивність стандартного зразка,  $n_2$  - інтенсивність контрольного зразка.

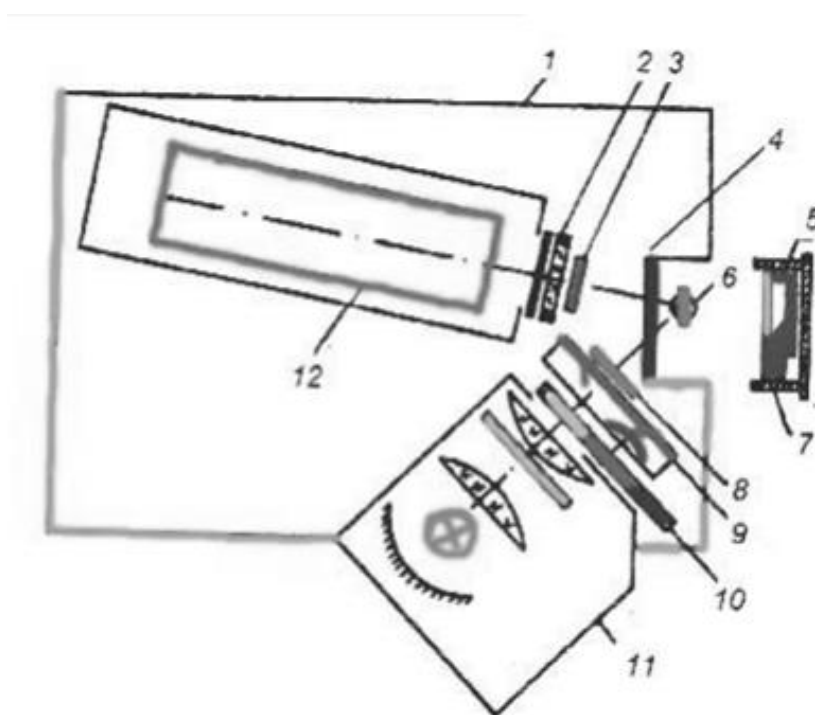


Рис. 2.13 – Схема флуориметра

На малюнку Рис. 2.13 представлена загальна схема флуориметра, де цифрами позначено: 1 - корпус; 2 - відділення для світлофільтрів, які фіксують певну область флуоресценції; 3, 8 - світлофільтри; 4 - шторка; 5 -

кювета; 6 - магнітна мішалка; 7 - держатель кювети; 9 - відділення для додаткових світлофільтрів; 10 - револьверна система зміни світлофільтрів; 11 - джерело УФ-світла; 12- фотоелектронний помножувач.

Переваги флуоресцентного методу аналізу наступні:

- Висока чутливість - яка вихідна кількість досліджуваного зразка необхідно для однозначного розпізнавання в розчині;
- Спостереження відразу за декількома флюорофорами зі своїми кольорами флуоресценції;
- Можна поєднати цей метод з живим організмом або клітиною, так як світло від флуоресценції не поглинається біомолекулами живого організму;
- Швидкість фіксації даних, так як флуоресценція відбувається в лічені наносекунди;
- Висока роздільна здатність, тому що флуоресценцію можна фіксувати часом на вирішенні приблизно 150-200 нм, коли класична мікроскопія не дає такого дозволу і багато клітинні структури не можуть бути проаналізовані.

Для визначення структури того чи іншого вітаміну застосовують спектроскопію протонного магнітного резонансу (ПМР-спектроскопія). Так як ядра вітамінів містять атом спінового моменту, який провокує взаємодії із зовнішнім магнітним полем, іншими ядрами, електронної оболонки ядра з іншими електронами молекули. Отримані в результаті взаємодії резонансні лінії і їх мікроструктура залежать від хімічного оточення атомного ядра. При дослідженні виходять спектри ПМР і по ним вже визначають структуру атома (Рис 2.14)

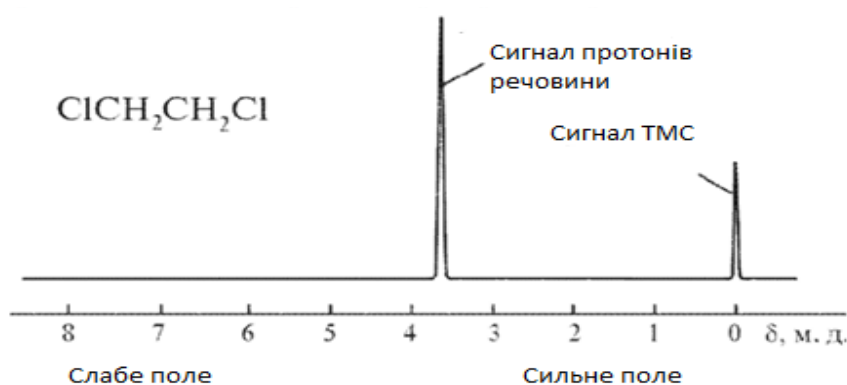


Рис. 2.14. - ПМР-спектр 1,2-дихлоретану.

У ПМР спектроскопії як еталон найчастіше використовують  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$  (Тетраметілсілан, ТМС), який дає одиночний сигнал великої інтенсивності на відміну від більшості інших сигналів. Розташування інших сигналів прилад вважає щодо ТМС. Зрушення сигналу, отриманий в ході розрахунків, називається хімічним зрушенням. Ця величина залежить від оточення атома. На малюнку 2.14 позначені піки сигналів, площа цих піків - інтенсивність сигналу, яка дає інформацію про зміст протонів різних видів в молекулі [27].

Іншим поширеним методом аналізу вітамінів є високоефективна рідинна хроматографія, один з ефективних методів розділення складних сумішей речовин. Переваги даного методу:

- одночасне визначення декількох компонентів;
- усунення впливу компонентів, що заважають;
- комплекс можна швидко перебудувати на виконання інших аналізів.

Основою хроматографічного поділу є участь компонентів суміші, в складній системі Ван-дер-ваальсової взаємодії (переважно до складу групи методів, яка, зважаючи на складність досліджуваних об'єктів, включає попереднє розділення вихідної складної суміші на відносно прості.

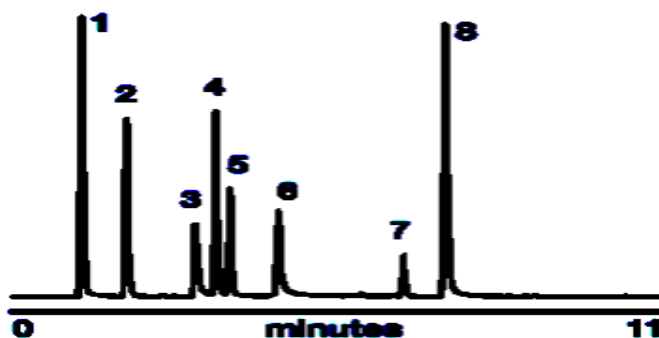


Рис. 2.15. - Хроматограма аналізу ВЕЖК жиророзчинних вітамінів

Отримані прості суміші аналізуються потім звичайними фізико-хімічними методами та спеціальними методами, створеними для хроматографії. Принцип рідинної хроматографії полягає в поділі компонентів суміші, заснованому на різниці в рівноважному розбраті розподілі їх між двома незмішуваними, одна з яких нерухома, а інша рухома (елюент).

## **РОЗДІЛ. 3. АПРОБАЦІЯ МАКЕТУ ВИМІРЮВАЛЬНОЇ УСТАНОВКИ ТА РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИМІРЮВАНЬ**

### **3.1. Класифікація та номенклатура вітамінів і їх специфічні функції в організмі**

Вітаміни - група незамінних для організму людини і тварин органічних сполук, що володіють дуже високою біологічною активністю, присутніх в у незначних кількостях в продуктах харчування, але що мають величезне значення для нормального обміну речовин і життєдіяльності.

Від рівня вітамінної забезпеченості живлення залежить рівень розумової і фізичної працездатності, витривалості і стійкості організму до впливу несприятливих факторів зовнішнього середовища, включаючи інфекції і дії токсинів. У харчових продуктах можуть містяться не тільки самі вітаміни, але і речовини-попередники - провітаміни, які тільки після ряду перетворень в організмі стають вітамінами.

Порушення нормального перебігу життєво важливих процесів в організмі через тривалу відсутність в раціоні того або іншого вітаміну приводять до виникнення важких захворювань, відомих під загальною назвою авітаміноз. У теперішній час такі ситуації практично не зустрічаються. У рідких випадках авітаміноз можливі в слідстві захворювань, результатом яких є припинення всмоктування вітаміну або його посилене руйнування в шлунково-кишковому тракті [18].

В даний час вітаміни можна охарактеризувати як низькомолекулярні органічні сполуки, які, будучи необхідною складовою частиною їжі, присутні в ній в надзвичайно малих кількостях в порівнянні з основними її компонентами.

### **3.2. Класифікація вітамінів**

Вітаміни ділять на дві великі групи: вітаміни, розчинні в жирах, вітаміни, розчинні у воді.

Кожна з цих груп містить велику кількість різних вітамінів, які зазвичай позначають літерами латинського алфавіту. Слід звернути увагу, що порядок цих букв не відповідає їх звичайному розташуванню в алфавіті і не цілком відповідає історичній послідовності відкриття вітамінів.

#### 1. Вітаміни, розчинні в жирах.

- вітамін А (ретинол, каротин);
- D (кальциферол, ергокальциферол, ергостерол, віостерол);
- E (токоферол);
- K (менадион);

#### 2. Вітаміни, розчинні у воді.

Вітаміни В-групи: В1 (тіамін), В2 (рибофлавін, позначається також як вітамін G), В3 (ніацин, нікотинамід, вітамін РР), В4 (аденін) - пуриновое підставу, яке входить до складу РНК, ДНК, нуклеотидів і грає важливу роль в метаболізмі, В5 (пантотенова кислота), В6 (піридоксин), В10, В11 (фактори росту), В12 (кобаламін, ціанокобаламін), В13 (оротовая кислота), В15 (пангамовая кислота), В17 (амигдалин), Вс ( фолієва кислота) - фолієва кислота, відома також як вітамін В9 або вітамін М, Вt (карнітин) - триметиламонієве (бетаїнове) похідне гамма-аміно-бета-гідро ксімасляної кислоти; інгібітор діяльності щитовидної залози, присутній в м'язах і печінці, Вх або ПАБК (параамінобензойна кислота), холін, інозит;

- вітамін - С (аскорбінова кислота);
- F (жирні кислоти);
- G (рибофлавін);
- H (біотин) відомий також як вітамін В8;
- L (фактор лактації, необхідний для вироблення молока);
- М (фолієва кислота), Р (біофлавоноїди), Р4 (троксерутин), Т (речовини, що сприяють росту);

Всі перераховані вище - розчинні у воді вітаміни, за винятком інозиту і вітамінів С і Р, що містять азот в своїй молекулі, і їх часто об'єднують в один комплекс вітамінів групи В.

За молекулярними механізмами дії вітаміни класифікують на три групи:

- до першої групи належать вітаміни, з яких утворюються коферменти та простетичні групи різних ферментів. (вітаміни групи В, вітамін К, деякою мірою вітамін А).
- до другої групи входять вітаміни-прогормони – вітамін Д<sub>3</sub> (1,25-дигідроксихолекальциферол), що регулює процеси обміну кальцієм; вітамін А, який у формі ретиноевої кислота бере участь у процесах росту та диференціювання епітеліальних клітин.
- до третьої групи відносять вітаміни-антиоксиданти – вітамін С (аскорбінова кислота) та вітамін Е (токоферол), які входять у систему антиоксидантного захисту організму від пошкоджуючої дії активних вільнорадикальних форм кисню. До цієї групи також належать біофлавоноїди та каротиноїди (β-каротин, лікопін, лютеїн, які можуть перетворюватися на вітамін А).

Таблиця 3.1.

## Класифікація, номенклатура вітамінів і їх специфічні функції в організмі людини

| Вітамін   | Вітамери  | Активні форми вітамінів  | Специфічні функції вітамінів  |
|---|---|--|---|
| Водорозчинні вітаміни   |   |  |   |
| Вітамін С   | Аскорбінова кислота,<br>дегідро-<br>аскорбінова кислота | Не відомі  | Бере участь в гідроксилюванні проліну в оксипроліну в процесі дозрівання колагену   |
| Тіамін<br>(вітамін В <sub>1</sub> )                                   | Тіамін  | Тіаміндифосфат (ТДФ,<br>тіамінпірофосфат,<br>кокарбоксілаза)     | У формі ТДФ є коферментом ферментів углеводно-енергетичного обміну  |
| Рибофлавін<br>(вітамін В <sub>2</sub> )                               | Рибофлавін  | Флавінмононуклеотид<br>(ФМН), флавіна-<br>деніндінуклеотид (ФАД) | У формі ФМН і ФАД утворює простетичної групи флавінових оксидоредуктаз - ферментів енергетичного, ліпідного, амінокислотного обміну   |
| Пантотенова<br>кислота (застаріла<br>назва - вітамін В <sub>5</sub> ) | Пантотенова кислота                                     | Кофермент А (коензим А;<br>КоА)                                  | У формі КоА бере участь у процесах біосинтезу, окислення і інших перетвореннях жирних кислот і стеринів (холестерину, стероїдних гормонів), в процесах ацетилювання, синтезі ацетилхоліну |
| Вітамін В <sub>6</sub>  | Піридоксаль,<br>піридоксин,<br>піридоксамін             | Піридоксальфосфат<br>(ПАЛФ)                                      | У формі Палфі є коферментом великої кількості ферментів азотистого обміну (трансаміназ, декарбоксілаз амінокислот) і ферментів, які беруть участь в обміні амінокислот.                   |

Продовження таблиця 3.1.

|  |   |  |   |
|--|---|--|---|
| Вітамін В <sub>12</sub><br>(кобаламіни)              | Ціанокобаламін,<br>оксикобаламін                      | Метилкобаламін<br>(СН <sub>3</sub> В <sub>12</sub> ), дезоксиадено-<br>зілкобаламін (дАВ <sub>12</sub> ) | У формі СН <sub>3</sub> В <sub>12</sub> бере участь в синтезі метіоніну з<br>гомоцистеїну; в формі дАВ <sub>12</sub> бере участь у розщепленні<br>жирних кислот і амінокислот з розгалуженим ланцюгом |
| Ніацин (вітамін РР)                                  | Нікотинова кислота,<br>нікотинамід                    | Нікотінамідаденін-<br>дінуклеотид (НАД);<br>нікотінамід-<br>деніндінуклеотид-<br>фосфат (НАДФ)           | У формі НАД і НАДФ є первинним акцептором і донором<br>електронів і протонів в окисно-відновних реакціях, що<br>каталізуються різними дегадрогеназами   |
| Фолат (застаріла<br>назва - вітамін В <sub>с</sub> ) | Фолієва кислота,<br>поліглутамати фолієвої<br>кислоти | Тітетрагідрофолієвая<br>кислота (ТГФК)   | У формі ТГФК здійснює перенесення одноуглеродних<br>фрагментів при біосинтезі пуринових підстав, тимідину,<br>метіоніну   |
| Біотин (застаріла<br>назва - вітамін Н)              | Біотин  | Залишок біотину,<br>пов'язаний з е-<br>аміногруппой залишку<br>лізину в молекулі                         | Входить до складу карбоксилаз, які здійснюють<br>початковий етап біосинтезу жирних кислот   |
| Жиророзчинні вітаміни                                |   |  |   |



Продовження таблиця 3.1.

|                            |   |   |   |
|----------------------------|---|---|---|
| Вітамін А                  | Ретинол, ретиналь, ретиноєва кислота, ретинолу ацетат   | Ретиналь, ретинілфосфата  | У формі ретиналь входить до складу зорового пігменту родопсину, що забезпечує сприйняття світла (перетворення світлового імпульсу в електричний). У формі ретинілфосфата бере участь як переносник залишків цукрів. |
| Вітамін D<br>(кальциферол) | Ергокальциферол (вітамін D <sub>2</sub> ); холекальциферол (вітамін D <sub>3</sub> )                              | 1,25-Диоксихоле-кальциферол (1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> ) | Гормон, який бере участь в підтримці гомеостазу кальцію в організмі; підсилює всмоктування кальцію і фосфору в кишечнику і його мобілізацію з скелета.  |
| Вітамін Е<br>(токофероли)  | а-, b-, g-, d-токофероли  | Найбільш активна форма а-токоферол                                  | Виконує роль біологічного антиоксиданту, інактивує вільнорадикальні форми кисню, захищає ліпіди біологічні мембрани.  |
| Вітамін К                  | Філлохінон (вітамін К <sub>1</sub> ); менахінони (вітаміни К <sub>2</sub> ); нафтохінон (вітамін К <sub>3</sub> ) | Дігдровітамін К   | Бере участь у перетворенні препротромбіна в протромбин, а також в аналогічних перетвореннях деяких білків, що беруть участь в процесі згортання крові, і кісткового білка остеокальцину                             |

### 3.3. Препарати жиророзчинних вітамінів

Вітаміни А, Д, Е, К розчиняються в жирах і маслах. Вони відносно стабільні при звичайній температурі варіння їжі, але інактивуються при окисленні.

**Вітамін А.** Він відомий в двох формах: каротиноїду і ретинолу. Майже не руйнується при кип'ятінні, утворюється в організмі з провітаміну - каротину - жовто-оранжевого пігменту. Відомо близько 40 каратиноподобних речовин (каратиноїдів), які містяться в зелених частинах рослин, в моркві, буряках, гарбузах, томатах, шпинаті, червоному перці, брукви, кропиві, абрикосах, в жовтій і білої кукурудзі. Добре зберігається при квашенні. Вітамін А накопичується в печінці. Особливо багато його в печінці полярних тварин, через що вона отруйна. У великих кількостях міститься в нирках, печінці, молоці, в жовтку яєць, в рибацької ікрі, в маслі (в річному - в 10 разів більше, ніж в зимовому), в печінковому жирі палтуса, камбали, лосося, тріски. У жирі печінки прісноводних риб відкритий вітамін А<sub>2</sub>. При сушінні продуктів активність вітаміну А зменшується. Добова потреба цього вітаміну становить від 1 до 5 мг.

Вітамін А - це циклічний неорганічний одноатомний спирт, який розчинний в більшості органічних розчинників, нестійкий в присутності кисню повітря, чутливий до впливу світла і нагрівання, утворює прості і складні ефіри, більшість яких більш стабільні, ніж сам вітамін А. Каротиноїди належать до великої групи вуглеводневих сполук - пігментів, синтезованих вищими рослинами, грибами, бактеріями. За своєю будовою каротиноїди можуть бути розділені на ряд груп: Ретиноїди структурно пов'язані з вітаміном А, або ретинолом, - жиророзчинних спиртом, що містить чотири кон'юговані подвійні зв'язки.

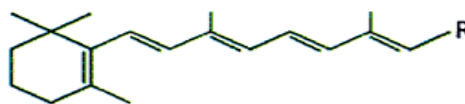
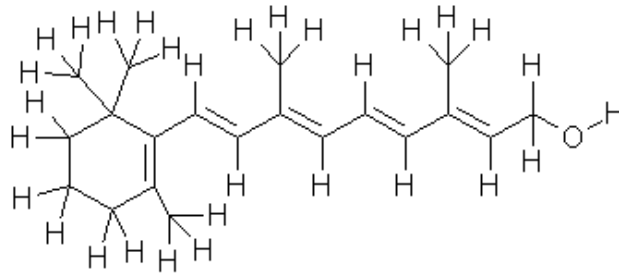


Рис. 3.1. Просторова хімічна формула проретинолу.

Безсумнівним і поки єдиним показником біологічної цінності каротиноїдів є їх здатність перетворюватися в організмі у вітамін А. Каротиноїди, здатні до такого перетворення, об'єднуються під назвою провітаміни А. До їх числа відносяться структурні ізомери каротину - альфа, бета і гамма каротини.



### 3.2. Вітамін А<sub>1</sub> (ретинол)

Молекула вітаміну А складається з трьох головних структурних компонентів: циклічної кінцевої групи, полієнового бічного ланцюга і полярної кінцевої групи. Кожен з цих компонентів можна модифікувати, що дає можливість отримання практично необмеженого числа ретиноїдів, які можуть сильно відрізнятися від вітаміну А по своїй токсичності, фармакологічному профілю та фармакокінетики. З понад 4000 досліджених до теперішнього часу ретиноїдів стадії клінічного застосування досягли лише кілька з'єднань, що володіють сприятливим терапевтичним індексом. Їх можна розділити на три наступні категорії:

- 1) Ретинол;
- 2) Ізомери ретиноєвої кислоти:
  - повністю транс-ретиноєва кислота - природний метаболіт ретинолу (лікарський препарат - Весаноїд®)
  - 3-цис ретиноєва кислота, або ізотретиноїн, що застосовується для лікування захворювань шкіри (лікарський препарат - Роаккутан)
  - 9-цис-ретиноєва кислота, що проходить дослідження в онкогематології

3) Монохроматичні похідні. Два з них вже випускаються в якості препаратів для лікування захворювань шкіри:

- етретінат (Тігасон);
- ацитретин (неотігазона).

Природні джерела вітаміну А містять його переважно у вигляді ефірів. У зв'язку з цим разом з їжею в організм надходять головним чином ефіри вітаміну А, переважно у вигляді пальмітату. Основним джерелом каротину в харчуванні людини є продукти рослинного походження - овочі, плоди, ягоди (морква, червоний перець, томати, зелень петрушки, салат, шпинат, абрикоси, обліпиха, шипшина тощо.). Однак при використанні в якості джерел вітаміну А продуктів, що містять каротин, слід мати на увазі, що їх біологічна активність з урахуванням засвоюваності каротину приблизно в 6 разів менше, ніж біологічна активність вітаміну А. Добова потреба в вітаміні А для дорослої людини становить 1,0 мг, для вагітних і годуючих жінок 1,25-1,5 мг, для дітей і підлітків від 0,4 до 1,0 мг.

Вітамін А необхідний для росту і розвитку організму, що росте, забезпечує нормальну функцію зору, структурну цілісність епітеліальних тканин, формування скелета. Крім того, ретинол підвищує стійкість організму до інфекційних, простудних захворювань. Бере участь в утворенні зорових пігментів, забезпечує зростання очей, адаптацію його до різних умов.

При гіповітамінозі спостерігається погіршення зору в сутінках (куряча сліпота), зниження апетиту, схуднення, сухість шкіри, сивіє волосся, спостерігається зроговіння епітеліальних клітин (гіперкератоз), слизової оболонки дихальних шляхів, сечостатевого органів, рогової оболонки очей. Підвищується сприйнятливості до туберкульозу і запалення легенів. При нестачі вітаміну А припиняється утворення ферменту лізоциму, захисного фактора проти багатьох інфекцій. При гіпервітамінозі настають важкі розлади обміну речовин, травлення, недокрив'я.

**Вітамін Д (кальциферол, вігантол).** Стійкий до високої температури і кисню. Його провітаміном є спирт ергостерину, який під впливом ультрафіолетових променів перетворюється в кальциферол.

Існує кілька провітамінів і вітамінів: D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>. Провітамін ергостерин міститься в пивних дріжджах, риbachому жирі, жирі печінки камбали, ікрі риб, вершковому маслі, молоці, яєчному жовтку. Добова потреба в цьому вітаміні становить від 0,01 до 0,025 мг і підвищується зі збільшенням вмісту фосфору в їжі.

Вітамін D (кальциферол) відноситься до жиророзчинних вітамінів стероїдної природи. Назва "вітамін D" (VD) присвоєно групі речовин, представленої більш ніж 10 структурними аналогами, що володіють біологічною активністю. В даний час відомі вітаміни D<sub>2</sub> (ергокальциферол, рослинного походження) і D<sub>3</sub> (холекальциферол, тваринного походження, а також ряд інших метаболітів VD).

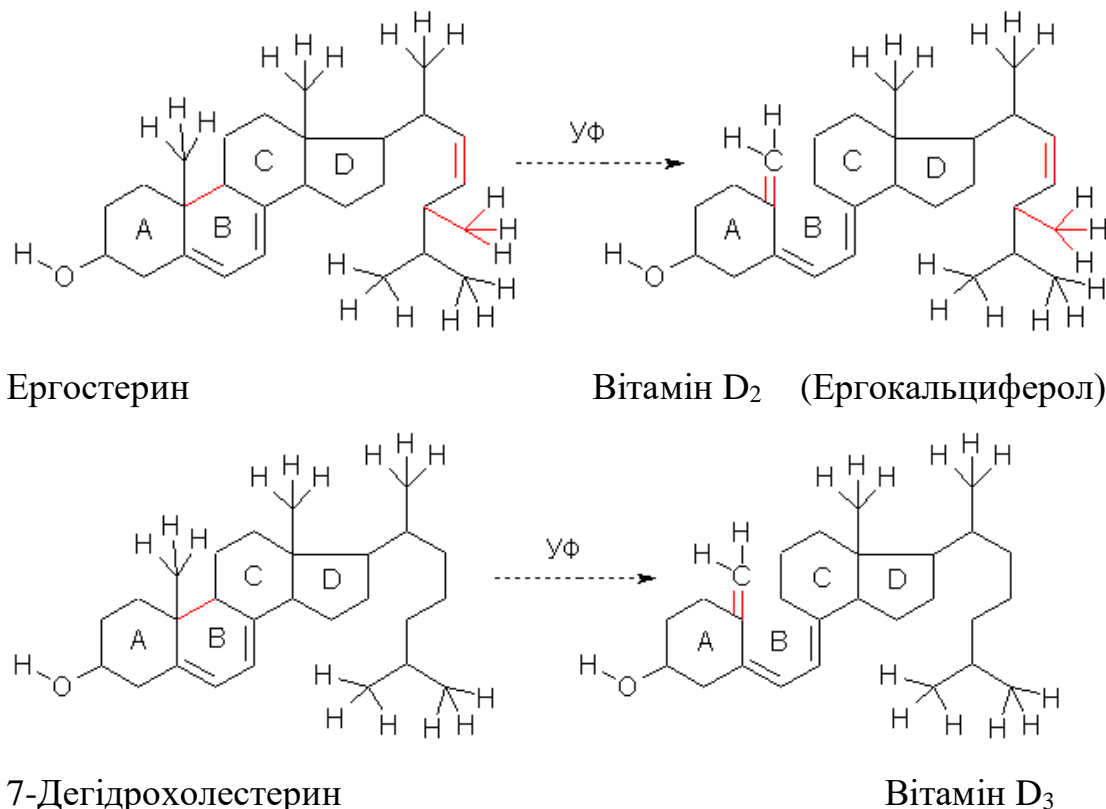


Рис. 3.3. Структурні формули вітамінів D

Кальциферол активує певні біологічні процеси за механізмом, подібному з механізмом дії стероїдних гормонів. Основна біологічна роль кальтріола - це стимуляція всмоктування кальцію і фосфору в кишечнику, які необхідні для утворення кристалів гідроксиapatиту, відкладаються в колагенових фібрилах кістки. Він також має відношення до реабсорбції кальцію нирками і мобілізації кальцію з кісток.

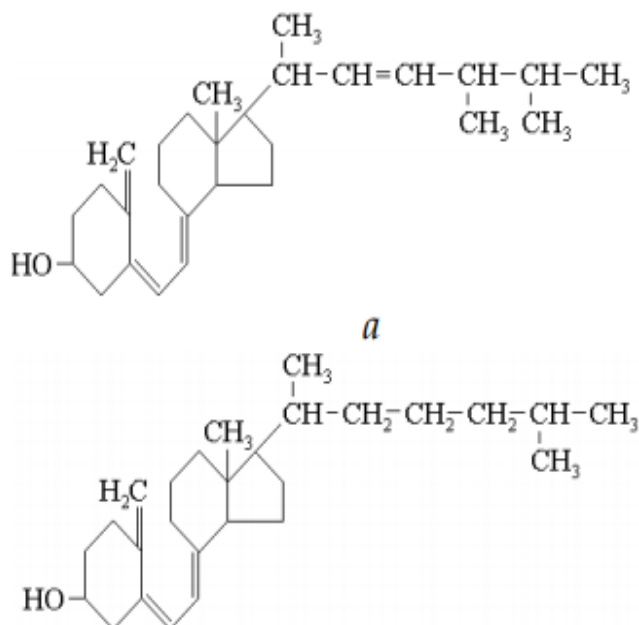


Рис. 3.4. - Структурні формули вітаміну D<sub>2</sub> (а) і D<sub>3</sub> (б)

Вітамін D<sub>3</sub> синтезується в шкірі людини під дією ультрафіолетових променів, бере участь в засвоєнні солей кальцію і фосфору, відкладення їх в кістках і реабсорбції в ниркових каналцях. Нестача вітаміну D<sub>3</sub> в раціоні дітей призводить до виникнення рахіту, до зниження опірності організму до інфекції, легко відбуваються переломи кісток. У хворих на рахіт відносно велика голова і збільшений живіт, затримується поява перших зубів і розвиток дентину; м'язова слабкість; порушується формування кісток, вони стають гнучкими, і викривляються руки, ноги. Підвищується збудливість нервової системи.

Вітамін D<sub>3</sub> впливає на функції щитовидної залози. При гіпервітамінозе вітамін D<sub>3</sub> діє як отрута, порушується жировий обмін, відбувається втрата у вазі, різко підвищується вміст кальцію і фосфору в

крові і надлишкове відкладення їх в кістках, в нирках, в серце, в кровоносних судинах. Добова потреба у вітаміні D<sub>3</sub> становить 0,015-0,0025 мг.

### **3.4. Розробка макету вимірювальної установки**

Під час розробки макету вимірювального засобу для визначення кількісних показників вітамінів А та D в соняшниковій олії, основна частина наших досліджень проводилася на базі та з використанням обладнання науково-дослідного підприємства «ЛАМБІТ» інституту колоїдної хімії та хімії води ім. А. В. Думанського НАН України. При розробці нашого макету, за основу ми взяли прилад «Сенсор-Л» для визначення концентрації сполук нітратів у колоїдному розчині в рідкій фазі методом 3-хвильової фотометрії в ультрафіолеті.

При виборі конструктивних рішень макету ми застосували конструктивну схему приладу «Сенсор-Л» з метою розширення можливостей приладу в якості вимірювача квантового виходу люмінесценції застосувавши пару світлодіодів у спектральному діапазоні 365 та 385 нм та систему комплементарних обрізуючих світлофільтрів на турелі у якості диспергуючих елементів. В якості фотодетектора знайшов застосування малошумний широкосмуговий фотоприймач TSL267 фірми «TAOS», що дозволило прийняти та зробити оцінку потужності світла, яке пройшло через кварцову кювету.

При виборі способу детекції виходу люмінесценції досліджуваних зразків ми зупинилися на способі реєстрації люмінесценції при якому фотоприймач розміщено під кутом 90° до нормалі проходження збуджуючого випромінювання.

Таке схемне рішення дозволяє застосувати включення 2-х світлодіодів в лінію. В даному випадку збуджуюче випромінювання повністю гаситься після проходження кювети із зразком і не створює завад при роботі фотодетектора. Також, в такому випадку є можливість почергового

включення світлодіодів накачки, що мають довжини хвиль 365 та 385 нм що при умові використання стандартних пар оптичних фільтрів збудження і емісії в комплекті дозволяє виділяти вузький спектр збуджуючого випромінювання та квантового виходу люмінесценції в межах  $\pm 5$  нм від базису.

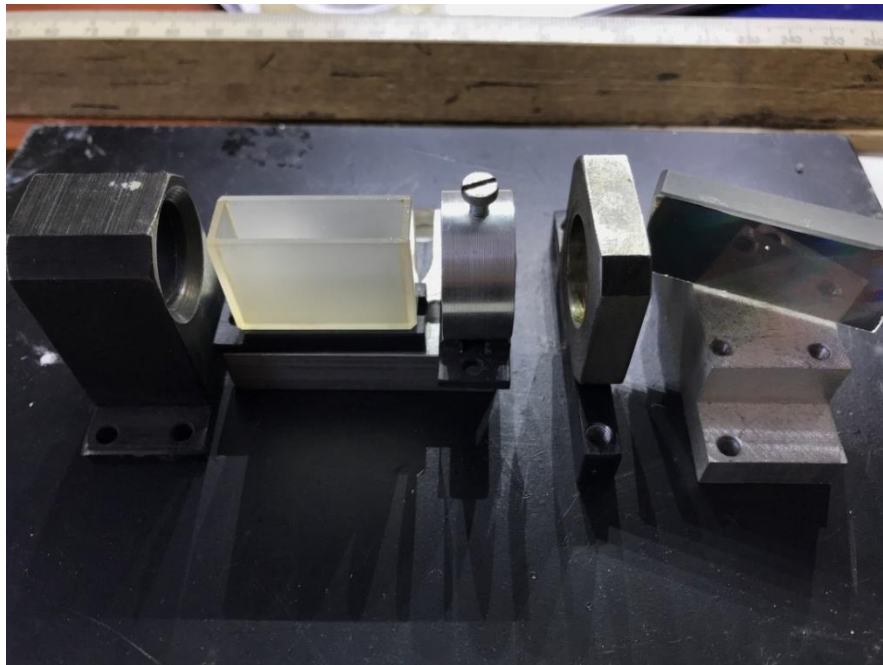


Рис. 3.5. Загальний вигляд системи кріплення смугових фільтрів та диспергуючого елемента для виділення вузького спектру збуджуючого випромінювання.

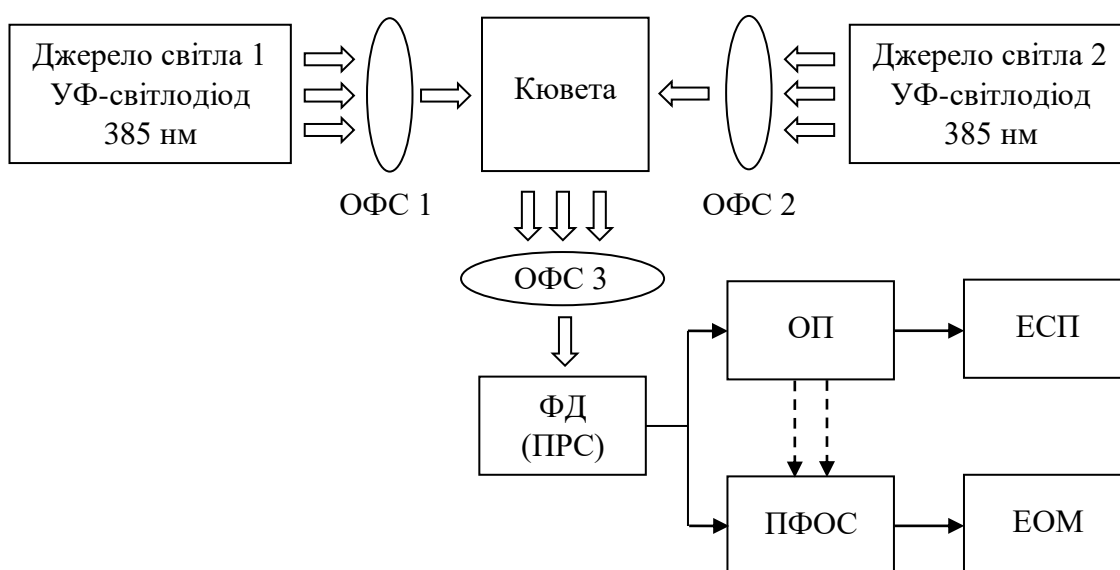


Рис. 3.6. Структурна схема макету вимірювального засобу «Сенсор-Л» призначеного для люмінесцентного визначення люмінесценції вітамінів



Представлений дослідний зразок пристрою для визначення концентрації речовин здатних до люмінесценції включає корпус з установленими всередині стабілізованим по струму джерелом живлення, джерелами УФ-випромінювання на 2-х довжинах хвиль, кюветою, турелями для смугових світлофільтрів та модулем з фотоприймачем розміщеним під кутом  $90^\circ$  до нормалі проходження збуджуючого випромінювання (Рис.3.5).

Макет вимірювальної установки містить оптичні формуючі системи (ОФС 1, ОФС 2, ОФС 2) що складаються із світло збиральної лінзи та кріплення для швидкої зміни смугових фільтрів.

Засіб вимірювань включає пристрій реєстрації оптичного випромінювання ПРС (напівпровідниковий малoshумний фотодетектор TSL267 з можливістю зняття сигналу як в аналоговій формі (при підключенні трансімпедансного підсилювача на вихід фотодетектору) так і при підключенні фотодетектору до вбудованого пристрою формування та обробки сигналу (ПФОС) вимірювача «Сенсор-Л» на базі 10 розрядного АЦП Arduino UNO R3 (ATmega328), що перетворює характеристики вихідного аналогового сигналу на виході фотодетектору в умовні одиниці інтенсивності люмінесценції методом широтно-імпульсної модуляції (ШІМ) та здатний до вимірювання різницевої напруги на виході фотодетектору в лінійному режимі роботи. В процесі вимірювань поточні результати вимірювань можуть відображатися на екрані індикаторної панелі вимірювача «Сенсор-Л» (ЕСП) або заноситися в ЕОМ для подальшої обробки [22].

Згідно специфікації фотодіодного підсилювача даний вимірювальний елемент дозволяє проводити вимірювання інтенсивності світлового потоку як по струму так і по напрузі, при внесенні додаткових опорів у вимірювальне коло.

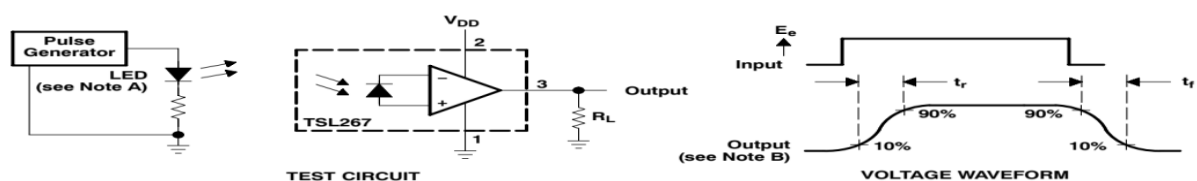


Рис. 3.7. Електрична схема взаємодії випромінювача та фотодетектору вимірювальної установки

Даний модуляційний режим роботи випромінюючого світлодіода та фотоприймача потребує додаткових пристроїв компенсації темного струму фотодіода, використання драйвера світлодіода що забезпечує керування світлодіодом (джерелом випромінювання) за допомогою широтно-імпульсної модуляції – (ШІМ) та пристрою корекції похибок при квантуванні.

У якості основного оптичного джерела збудження люмінесценції було застосовано фотодіод LTPL-C034UVH385 фірми «Liteon Optoelectronics» що має пік випромінювання в області 365 нм.

У якості додаткового оптичного джерела збудження люмінесценції застосовано фотодіод LTPL-C034UVH385 фірми «Liteon Optoelectronics», що має пік випромінювання в області 385 нм, що дозволяє використати двоканальну схему накачки та збільшити квантовий вихід люмінесценції.

Таке рішення виключає більшість недоліків ламп розжарення у якості джерел випромінювання, та при правильному підборі світлодіодів по енергетичним характеристикам та лінійності спектральної кривої дає змогу здешевшати кінцевий зразок засобу реєстрації спектральної яскравості, потребує менших затрат електроенергії, має кращі характеристики часу роботи до настання деградації (а у випадку ламп розжарення – до деструкції) нагрівального елемента, та в меншій мірі виключає можливість фізичного пошкодження джерела випромінювання [23].

В той же час використання фотодіода (у подальшому – лінійки фотодіодів) із вбудованим операційним підсилювачем, дозволяє уникнути необхідності використання фотодетекторів (на основі фоторезистивних елементів) із системою охолодження, а також дозволяє реєструвати дуже малу інтенсивність випромінювання.

Так як фотодіоди являються мало-інерційними приймачами випромінювання (їх інерційність не залежить від рівня збудження, тобто від потужності потоку випромінювання), відповідно вони мають низький рівень шуму і високу чутливість, що дозволяє використовувати їх для вимірювання дуже малих потоків випромінювання ( $P_{min} \approx 10^{-12}$  Вт).

Нами було вибрано лінійний режим роботи світло- та фотодіоду, виконавши підбір елементів для реєстрації люмінесценції відповідно до електричних параметрів вбудованого ПФОС приладу «Сенсор-Л», що дозволяє підключення серії фотодіодів з робочою напругою  $U = 3-6 \text{ В}$ , та частотними спотвореннями на виході фотодетектору не більше  $6 \text{ rms}$  ( $\mu\text{V}/\sqrt{\text{Hz}}$ ) при роботі на частотах до  $1 \text{ КГц}$  в діапазоні напруг  $V_0 = 0,1-4,5 \text{ В}$ .

Основним методом реєстрації квантового виходу люмінесценції на даному етапі розробки вимірювальної установки є застосування аналогової електричної схеми включення, організованої на базі простого трансімпедансного підсилювача, з подальшою обробкою результатів та побудовою характеристичних графіків кількісних параметрів досліджуваних речовин засобами Microsoft Excel. На рисунку 4.6 зображено компонування структурних елементів макету вимірювальної установки під час роботи із дослідними зразками.

### **3.5. Удосконалений метод та спосіб реєстрації квантового виходу люмінесценції слабolumінесціюючих сполук**

Якісний люмінесцентний аналіз заснований на порівнянні форми спектрів досліджуваної суміші речовин з формою спектра індивідуальних сполук, які можуть входити до складу досліджуваної суміші. Як і в разі абсорбційної спектрофотометрії, для ідентифікації флуоресціюючих речовини найбільше значення мають положення максимуму, наявність та характер тонкої структури спектрів, смуг флуоресценції. Важлива особливість флуоресценції суміші декількох з'єднань полягає в тому, що спектр суміші змінюється при зміні довжини хвилі збудження, оскільки при різних довжинах хвиль можуть переважно збуджуватися різні сполуки.

Із загального числа поглинених фотонів частина, рівна квантовому виходу флуоресценції  $\eta$ , висвітиться зразком в різних напрямках і в усій спектральній області люмінесценції. З світлового потоку за допомогою

світлофільтрів або монохроматора можна виділити і сфокусувати на приймач світла світловий потік, який буде зареєстрований в вигляді фотоструму:

$$I_{\text{люом}} = I_0 K \cdot (1-T) \cdot \eta \quad (3.1)$$

Таким чином, інтенсивність люмінесценції  $I_{\text{люом}}$  пропорційна інтенсивності збуджуючого світла  $I_0$ , квантовому виходу люмінесценції  $\eta$ , коефіцієнту поглинання світла  $(1-T)$ . Коефіцієнт пропорційності  $K$  залежить від тілесного кута, в межах якого зібрано світло люмінесценції, ширини спектру що обрізається монохроматором або світлофільтром спектральної області пропускання монохроматора або світлофільтру і чутливості приймача світла.

Якщо збудження люмінесценції здійснюється монохроматичним світлом, яке виділяються за допомогою монохроматора, то з'являється можливість виміряти залежність інтенсивності люмінесценції від довжини хвилі збуджуючого світла. Характер цієї залежності ясний з рівняння Оскільки квантовий вихід флуоресценції для конкретного флуоресціюючої речовини, відповідно до закону Вавілова, від довжини хвилі збудження не залежить (так само як і константа  $K$ ) ясно, що форма спектра збудження повторює форму залежності від довжини хвилі коефіцієнта поглинання, тобто функції  $T=f(\lambda)$ . Так як  $K$  і  $\eta$  - постійні, то можна сказати, що спектр збудження флуоресценції в розведених розчинах збігається (за формою) зі спектром поглинання флуоресціюючого з'єднання.

Одна з переваг методу реєстрації люмінесценції полягає в тому, що для вирішення багатьох біологічних завдань не потрібне використання складних і дорогих приладів. Якщо не потрібно проведення точних спектральних вимірювань або застосування техніки дослідження швидко протікаючих процесів, а потрібно виміряти інтенсивність флуоресценції при збудженні і реєстрації в відносно широкій області спектру ( $10 \pm 1$  нм), то можна використовувати найпростіший флуориметр зі світлофільтрами. При вимірі люмінесценції істотним є вибір світлофільтрів, необхідних для виділення спектру, що збуджує люмінесценцію, і обрізання виходу люмінесценції.

### 3.6. Спектральні характеристики жиророзчинних вітамінів

В процесі розробки калібрувальних графіків для визначення масової частка жиророзчинних вітамінів в соняшниковій олії ми використовували жиророзчинні вітаміни А-ретинол, D<sub>2</sub> - ергокальциферол, що були куплені в аптеці. Дані препарати мають наступні характеристики:

1. Ретинолу ацетат: міжнародна та хімічна назви: Retinol; транс-9,13-диметил-7-(1,1,5-триметилцикло-гексен-5-іл-6)-нонатетраєн-7,9,11,13ол; основні фізико-хімічні властивості: прозора масляниста рідина від світло-жовтого до темно-жовтого кольору, без прогірклого смаку; допускається наявність специфічного запаху; склад: 1 мл розчину містить 0,0344 г (100 000 МО) вітаміну А; допоміжні речовини: олія соняшникова рафінована дезодорована марки «П» виморожена.



Рис. 3.8. Ретинолу ацетат.



Рис. 3.9. Ергокальциферол

2. Ергокальциферол: діюча речовина: ergocalciferol; 1 мл розчину містить ергокальциферолу (вітамін D<sub>2</sub>) 1,25 мг (50000 МО); допоміжна речовина: олія соняшникова рафінована дезодорована марки «П» виморожена. Лікарська форма: розчин оральний, олійний. Основні фізико-хімічні властивості: прозора оліїста рідина від світло-жовтого до темно-жовтого кольору, без прогірклого смаку. Допускається наявність специфічного запаху. Активність ергокальциферолу виражається у

міжнародних одиницях: 0,025 мкг хімічно чистого вітаміну D<sub>2</sub> відповідає 1 МО.

Флюоресцентний аналіз соняшникової олії використовує наявність природних флуоресцентних компонентів, включаючи токофероли та феофітини, а також продукти їх окислення. Олії являють собою складні системи, і тому звичайні флюоресцентні методи, спираючись на запис спектрів одиночного випромінювання або збудження, часто є недостатніми, якщо вони безпосередньо застосовуються. У таких випадках використовується методи загальної люмінесценції або синхронної скануючої флуоресценції, що поліпшують аналітичний потенціал вимірювань флуоресценції. Аналітичні застосування флуоресценції до соняшникової олії включають розрізнення між різними сортами якості, виявлення домішок, ідентифікацію оригінальних олій, кількісне визначення флуоресцентних компонентів, моніторинг термічного фото окислення та зміни якості олії при зберіганні. Таким чином, флюоресцентні спектри, є дуже надійним способом для ідентифікації сортів соняшникової олії та комбінація аналізу основних компонентів з цим методом можуть надати достовірну інформацію в цьому відношенні.

У нашому експериментальному зразку спектральну чистоту випромінювання збудження забезпечує світлодіод, півширина випромінювання якого не перевищує 20 нм в області 365 нм. Для виділення лінії люмінесценції використовувалися фільтри, в тому числі смугові інтерференційні.

Порівняльна характеристика флуоресцентних спектрів випромінювання зразків соняшникової та оливкової в діапазоні довжин хвиль 450-705 нм наведені на рисунку 3.10. Тут спектри випромінювання чистих зразків EVOO демонструють чіткий розрізнений пік флуоресценції в діапазоні 650-700 нм (максимум при 674,1, який можуть бути віднесені до груп хлорофілу. Слід зазначити, що оливкова олія показує інший пік в діапазоні довжин хвиль 275-297 нм завдяки наявності токоферолів. Однак на даному рисунку цього не

видно, так як довжина хвилі збудження, що використовується в експерименті, становить 408 нм. З іншого боку, чиста соняшникова олія показує пік флуоресценції в діапазоні від 450 до 550 нм (максимум при 492,7 нм), що інтерпретується як підвищений вміст лінолевої кислоти.

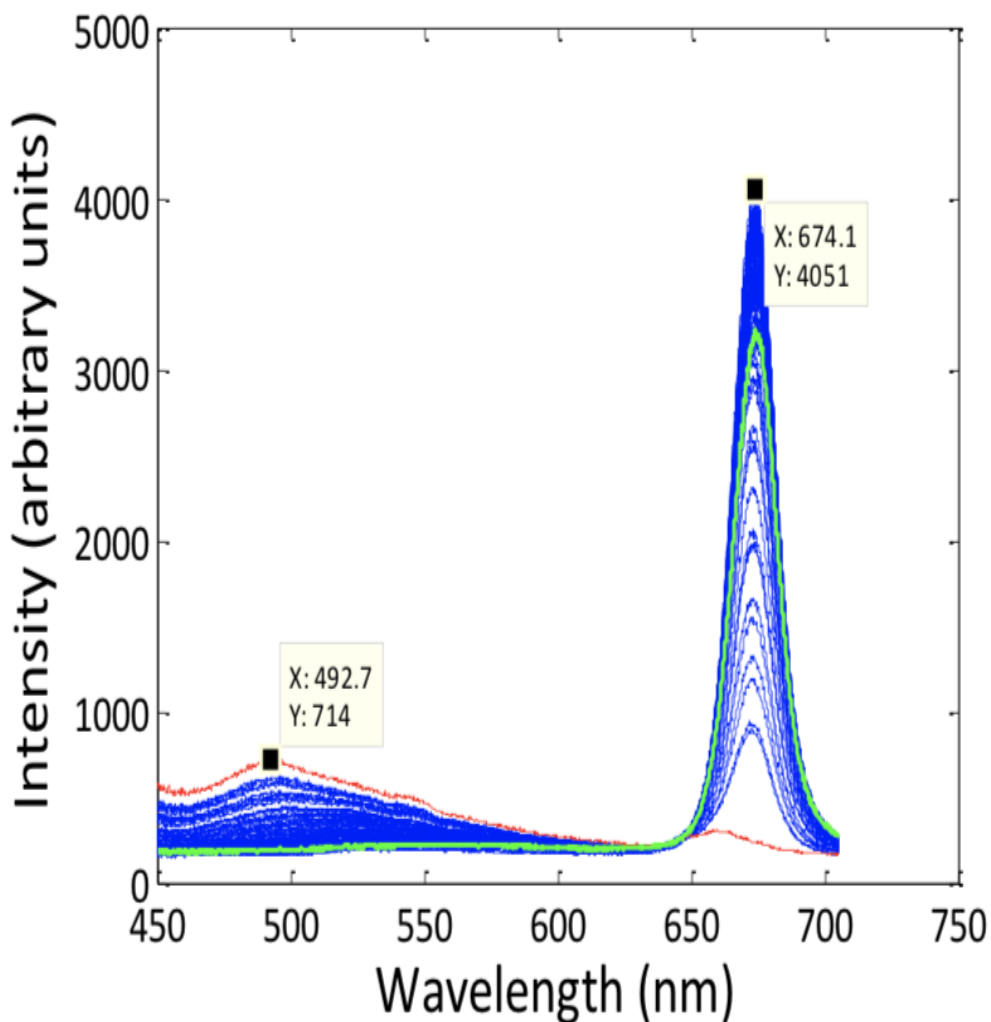


Рис. 3.10. Спектри флуоресценції зразків харчових олій: зелений для очищеної оливкової олії, блакитний - для переробленої олії, червоний - для соняшникової олії рафінованої дезодорованої марки «П» (розчинник).

У таблиці 3.2 наведено середні арифметичні значення результатів кількісних вимірів, які проведені за допомогою виготовленого експериментального зразку малогабаритного вимірюючого засобу. Кількість вимірювань для кожного зразку становила 40 разів для серії з певною концентрацією, при  $P=0.95$ .

Таблиця .3.2.

Інтенсивність люмінесценції хімічних сполук вибраних концентрацій.

| Діапазон збуджуючого випромінювання      | Тип світлофільтру, діапазон обрізки     | Концентрація, С (мг/л), моль/л - контроль | Інтенсивність люмінесценції, од. |
|--|---|---|----------------------------------|
| Вітамін А (Ретинол)                      |   |   |                                  |
| 365±5 нм                                 | СЗС-21<br>(max <sub>проп.</sub> =480нм) | 100                                       | 243                              |
|  |   | 400                                       | 671                              |
|  |   | 800                                       | 1240                             |
|  |   | 1200                                      | 1910                             |
|  |   | 1600                                      | 2480                             |
| Вітамін D <sub>2</sub> (Ергокальциферол) |   |   |                                  |
| 365±5 нм                                 | СЗС-21<br>(max <sub>проп.</sub> =480нм) | 20  | 530                              |
|  |   | 80  | 910                              |
|  |   | 160                                       | 1450                             |
|  |   | 240                                       | 1820                             |
|  |   | 480                                       | 2444                             |

Результати вимірювалися в одиницях пропорційності що відповідали зміні значення напруги на виході фотодетектору (1 од. інт. = 0,01 В) в робочому діапазоні фотодетектору з трансімпедантним підсилювачем  $U = 2,4-32,4$  В, при темновому струмі фотодетектору 100 мА та частотному діапазоні роботи  $f_{роб.} = 10-10^4$  Гц. В даному випадку увесь відносний динамічний діапазон можливих значень напруги на виході фотодетектору складав 3000 відносних одиниць.

Така схема вимірювань дозволяє калібрувати динамічний діапазон вимірювального засобу по відомим відносним концентраціям хімічних сполук здатних до люмінесценції в чистих розчинниках. Зняття результатів вимірювань можливе як в аналоговій формі на виході фотодетектору



(вимірюючи різницю потенціалів на виході 5 до землі) та записом результатів в таблицю із подальшою обробкою статистичних даних. Реакція фотодіода реєструвалася універсальним вимірювальним приладом типу В7-21 з малими внутрішніми похибками ( $\delta=0,3\%$ ) з кроком вимірювань 0,01 В. Для шунтування виходу операційного підсилювача був використаний резистор номіналом 10 КОм.

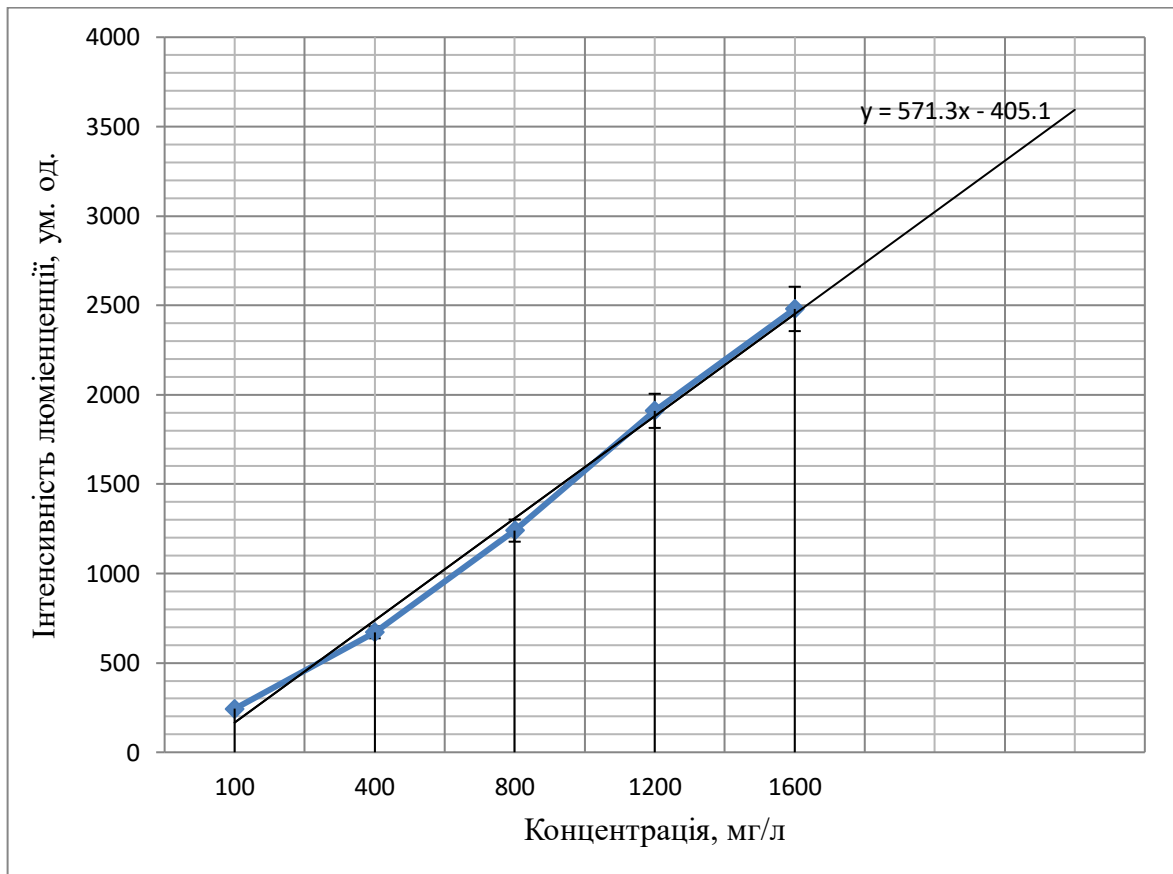


Рис. 3.11. Калібрувальний графік для визначення інтенсивності люмінесценції вітаміну А (Ретинолу) в чистій соняшниковій олії

Дослідження проводилися з метою знаходження відмінностей у спектрах. У вимірювальну кювету вводилося 5 мл титрованого аптечного розчину вітамінів заданої масової концентрації, після цього кювету з досліджуваним зразком містилася в кюветне відділення спектрофотометра, де вона опромінювалася УФ-світлодіодом. Інтенсивність спектру флуоресценції знімалася з усього обсягу зразка.

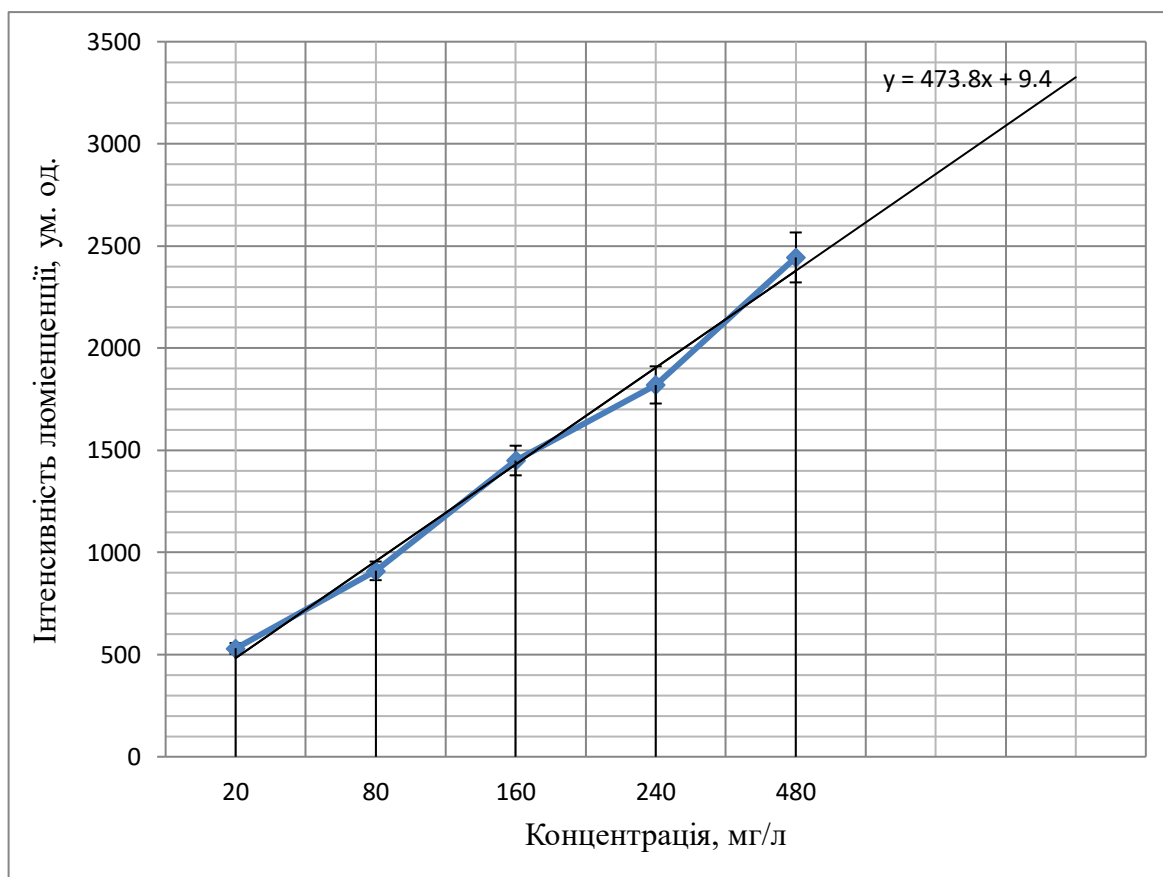


Рис. 3.12.Калібрувальний графік для визначення інтенсивності люмінесценції вітаміну D<sub>2</sub> (Ергокальциферолу) в чистій соняшниковій олії

В результаті проведення вимірів із використанням вбудованого ПФОС приладу «Сенсор Л» згідно структурної схеми і використанням синьо-зеленого світлофільтру СЗС-21 були отримані наступні залежності інтенсивності квантового виходу люмінесценції від концентрації (мг/л) при роботі із зразками соняшникової олії дезодорованої вимороженої марки «П» в яку було додано розраховану наперед концентрацію вітаміну А. В даному випадку, динамічний діапазон вимірюваних значень по напрузі становив відповідно 9000 та 18000 відносних одиниць що відповідали робочому діапазону по напрузі  $U_{роб.} = 2,4-32,4$  В.

Статистичні дані були отримані з схеми досліду із застосуванням синьо-зеленого світлофільтру СЗС-21 в комбінації із оптичним склом ОС-11, ОС-12, ОС-13, ОС-14, що дозволило виділити робочий спектральний діапазон в області 420-620 нм.

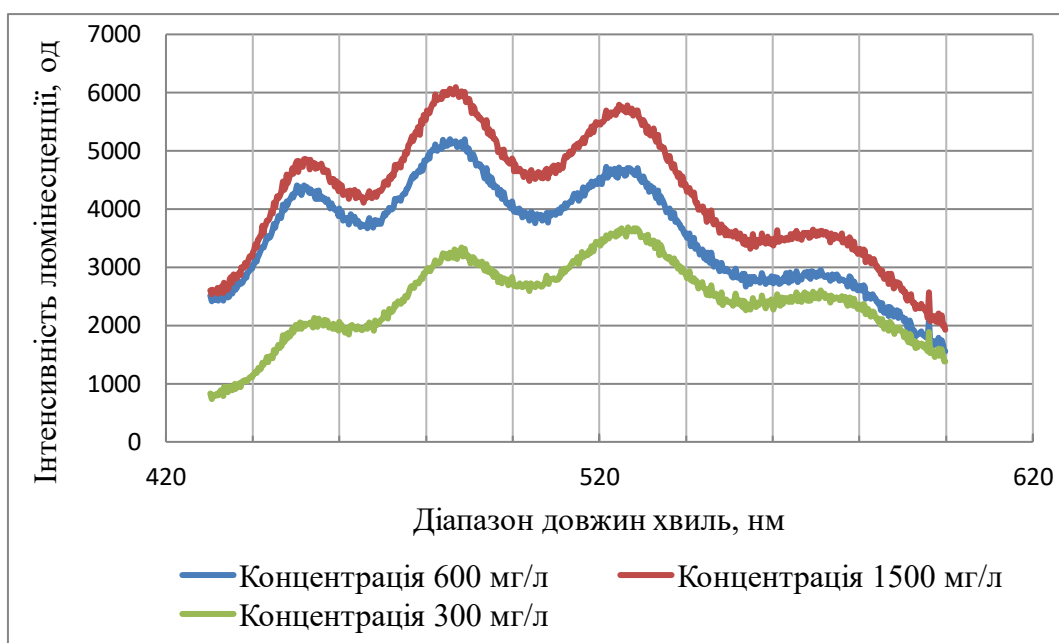


Рис. 3.13.. Інтенсивність квантового виходу люмінесценції вітаміну А (Ретинолу) у перерахунку на чисту речовину концентрації відповідно 300 мг/л, 600 мг/л та 1500 мг/л (СЗС-21).

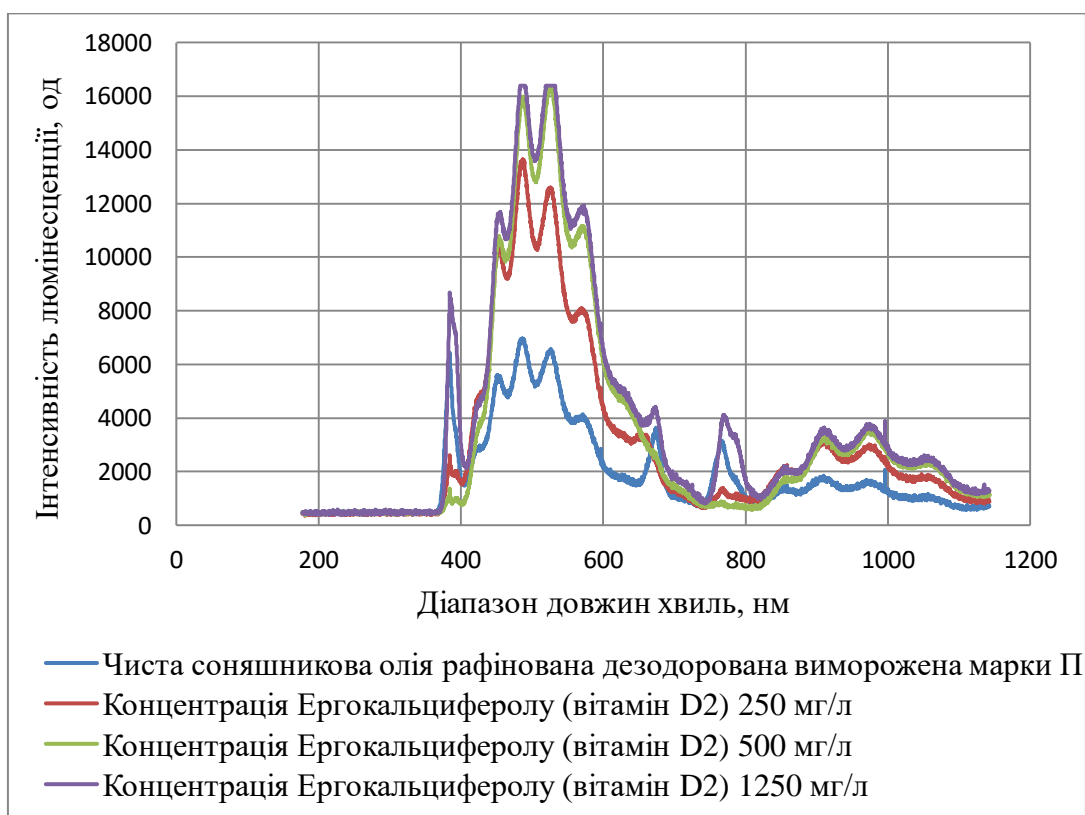


Рис. 3.14. Зміна інтенсивності квантового виходу люмінесценції вітаміну D<sub>2</sub> (Ергокальциферолу) у перерахунку чисту речовину концентрації відповідно 250 мг/л, 500 мг/л та 1250 мг/л.

Експерименти показують чіткі відмінності між спектрами. Ці відмінності можуть визначатися не тільки різними спектрами вітамінів, але і різними спектрами жирних розчинників, які обов'язково входять до складу вітамінів цієї фармацевтичної групи.

## ВИСНОВКИ ДО РОДІЛУ

Провівши огляд сучасних та доступних матеріалів і методик по визначенню жиророзчинних вітамінів та зробивши аналіз отриманих нами статистичних даних, можна стверджувати, що встановлення методичної основи розробки та сертифікації вимірювального обладнання, що визначає квантовий вихід люмінесценції  $\Phi(f)$  вітамінів різної хімічної будови можна провести двома абсолютними методами з комплементарними принципами вимірювань: тут оптична спектроскопія використовується для ідентифікації жиророзчинних вітамінів А та D в зразку, а люмінесцентна УФ-спектрофотометрія використовується в якості експрес-методики для визначення масової частки жиророзчинних вітамінів А та D в соняшниковій олії по їх квантовому виходу люмінесценції.

## **РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА СТАРТАП ПРОЕКТУ «ВИЗНАЧЕННЯ МАСОВОЇ ЧАСТКИ ВІТАМІНІВ ГРУПИ А,Д В СОНЯШНИКОВІЙ ОЛІЇ»**

### **4.1 Опис ідеї проекту**

Одним з перспективних напрямків масложирової промисловості та її інноваційного розвитку є розробка нових і вдосконалення існуючих технологій отримання та переробки рослинних масел, що дозволяють отримувати олійні масла з високою харчовою і біологічною цінністю, які необхідні для виробництва високоякісних продуктів харчування.

В області виробництва харчових продуктів повинно передбачатися три основних напрямки: збереження природного комплексу біологічно активних речовин традиційних масових харчових продуктів, розширення їх асортименту та використання природних комплексів біологічно активних речовин в якості харчових добавок.

Головний шлях – це підвищення біологічної цінності раціонів харчування. Це завдання має вирішити зміна промислової технології, в результаті чого люди отримають більше цінні продукти харчування. Тому однією з головних цілей нашого дослідження є саме розробка еспрес методу контролю жиророзчинних вітамінів, що дозволить контролювати технологічних процес виробництва олійних масел, заради оптимального збагачення його необхідними вітамінами.

Рослинні масла поряд з іншими компонентами складають основу раціонального харчування людини. Одним з найбільш важливих джерел жирів є соняшникова олія. У загальному балансі рослинних масел в Україні становить 70%.

Соняшникова олія має невисокий вміст токоферолів, а вміст каротиноїдів в ньому дуже мало. Тому біологічна цінність соняшникової олії може бути істотно підвищена за рахунок збагачення її природними комплексами рослинних каротиноїдів і токоферолів.

На даний час існує дуже багато методів дослідження складу і властивостей олійних культур. Усі вони ґрунтуються на використанні фізичних, хімічних, біохімічних та інших ефектів взаємодії досліджуваного об'єкту з вимірювальними засобами.

При застосуванні більшості методів визначення складу продуктів, цей процес займає дуже багато часу, особливо при визначенні їх якісного складу.

Люмінесцентний аналіз знайшов застосування в різних областях науки і техніки. Такий аналіз здійснюється в основному за допомогою візуальних спостережень (або із застосуванням телеметричних засобів). У випадку кількісного визначення компонентів харчових продуктів використовуються методи флуоресценції, які включають в себе різні операції з розділення, очищення складових, обробки продукту флуорохромами та ін. Абсолютна чутливість люмінесцентного методу досить висока. Відносна концентрація речовини також може бути дуже малою, – для яскраво люмінесціюючих речовин вона становить величину порядку 10-10г/г. Даний метод застосовують для кількісного визначення поліциклічних органічних сполук, вітамінів, білків, нітратів, сульфідів, ціанідів, токсичних металів у складі харчових продуктів (молоці, м'ясі та рибі), для діагностики псування овочів, плодів і виявлення в продуктах консервантів, лікарських препаратів, канцерогенних речовин та ін.

Тому розробка конкурентоспроможної методики отримання соняшникової олії, збагаченої жиророзчинними вітамінами, що володіють функціональними властивостями за рахунок вмісту біологічно активних речовин і призначених для систематичного вживання різними групами населення, набуває особливої актуальності. Це обґрунтовує вибір теми і актуальність дослідження, а також повністю відповідає вимогам державної політики в області розробки нових продуктів харчування з функціональними властивостями.

В цьому розділі буде проведено аналіз стартап проекту який має на меті визначити чи наш продукт має шанси вийти на ринок і конкурувати з продуктами які вже зайняли на ньому своє місце.

У таблиці 4.1 зображено зміст ідеї та можливі базові потенційні ринки, в межах яких потрібно шукати групи потенційних клієнтів.

Таблиця 4.1.

Опис ідеї стартап проекту.

| Зміст ідеї  | Напрямки застосування   | Вигоди для користувача   |
|---|---|--|
| Розробка приладу для ідентифікації та визначення концентрації хімічних сполук органічної природи здатних до люмінесценції в багатокомпонентних системах в рідкій фазі | Визначення наявності домішок та їх відносних концентрацій в продуктах харчування, питній воді, лікарських засобах під час виробництва та в процесі зберігання.        | Впевненість в складі продуктів.  |
|   | Контроль наявності вибраних хімічних сполук (синтетичних та натуральних барвників нітратів, сульфідів, стабілізаторів) у виробничому циклі певного харчового продукту | Забезпечення себе від можливого негативного впливу небезпечних речовин, надмірних концентрації дозволених до застосування домішок в харчових продуктах та органічній сировині. |
|   | Контроль наявності небезпечних домішок у продуктах контролюючими державними лабораторіями та лабораторіями санепідемнагляду   |  |
|   | Визначення наявності домішок у продуктах при їх експорті та імпорті.  | Можливість реалізації вітчизняної продукції що відповідає стандартам держави імпортера на світових ринках  |

Серед основних конкурентів на ринку можна виділити Спектрометр Ocean Optics TORUS-25, (2015, США), Спектрометр Carl Zeiss CGS UV-NIR, (2016, Німеччина) та Аналізатор рідини Флюорат-02-5М\*, (2014, Росія)

Таблиця 4.2.

Визначення сильних, слабких та нейтральних характеристик ідеї проекту.

| №<br>п/<br>п | Техніко-<br>економічні<br>характерис-<br>тики ідеї | (потенційні) товари/концепції<br>конкурентів |                     |                 |                     | W<br>(слабка<br>сторона) | N<br>(ней-<br>трльна<br>сторона) | S<br>(сильна<br>сторона) |
|--------------|--|--|---------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|
|              |  | Мій<br>проект                                | Конк<br>у-<br>рент1 | Конку-<br>рент2 | Конку<br>-<br>рент3 |                          |                                  |                          |
| 1.           | Вартість<br>приладу, \$                            | 650  | 1470                | 3240            | 9300                | -                        | -                                | +                        |
| 2.           | Швидкість<br>встановлення                          | 5  | 10                  | 25              | 15                  | +                        | -                                | -                        |
| 3.           | Вартість<br>обслуговуванн<br>я                     | 80   | 300                 | 400             | 500                 | -                        | -                                | +                        |
| 4.           | Відсоток браку                                     | 3  | 7                   | 3               | 6                   | -                        | +                                | -                        |
| 5.           | Затрати на<br>виробництво                          | Середні                                      | Серед<br>ні         | Низькі          | Серед<br>ні         | +                        | -                                | -                        |
| 6.           | Відносини з<br>органами<br>державної<br>влади      | Добрі  | Добрі               | Добрі           | Нейтр<br>альні      | -                        | +                                | -                        |
| 7.           | Торгова марка                                      | Немає  | Є                   | Є               | Є                   | +                        | -                                | -                        |

Отже, пропонується прилад , що дозволить визначати масову частку жиророзчинних вітамінів групи А та D в соняшниковій олії люмінесцентним методом. І один з вирішальних факторів це те, що прилад дозволить контролювати технологічних процес виробництва олійних масел, заради оптимального збагачення їх необхідними вітамінами.

Завдання зробити прилад доступним для широкого використання у експрес-метрії, зменшити його вартість та тривалість вимірювань.

Далі проводимо аналіз потенційних техніко-економічних переваг ідеї порівняно із пропозиціями конкурентів:



– визначаємо перелік техніко-економічних властивостей та характеристик ідеї;

– визначаємо попереднє коло конкурентів (проектів-конкурентів) або товарів-замінників чи товарів-аналогів, що вже існують на ринку, та проводимо збір інформації щодо значень техніко-економічних показників для ідеї власного проекту та проектів-конкурентів відповідно до визначеного вище переліку;

– проводимо порівняльний аналіз показників: для власної ідеї визначено показники, що мають а) гірші значення (W, слабкі); б) аналогічні (N, нейтральні) значення; в) кращі значення (S, сильні) (табл. 4.2).

Для формування конкурентоспроможності запропонованого товару на ринку визначений перелік слабких, сильних та нейтральних характеристик та властивостей ідеї.

#### **4.2 Технологічний аудит ідеї проекту**

В межах даного підрозділу проводимо аудит технології (методу визначення ), за допомогою якої можна реалізувати ідею створення проекту.

Визначення технологічної здійсненності ідеї проекту передбачає аналіз складових які вказані в таблиці 4.3.

Проаналізувавши таблицю можна зробити висновок що наш проект можна реалізувати за допомогою більшості методів, які доступні на даний момент, але серед доступних нам ми обираємо метод флуорисцентної фотостимульованої люмінесценції та будемо використовувати його для реалізації нашої ідеї.

Таблиця 4.3.

## Технологічна здійсненність ідеї проекту.

| №<br>п/п  | Ідея проекту   | Технології її реалізації  | Наявність технологій                                   | Доступність технологій |
|---|--|---|--|------------------------|
| 1.  | Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії | Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії на основі флуорисцентної фотостимульованої люмінесценції | Метод визначення на якому побудований прилад відкритий | Метод доступний        |
| 2.  | Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії | Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії на основі термостимульованої люмінесценції               | Метод визначення на якому побудований прилад відкритий | Метод доступний        |
| 3.  | Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії | Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії на основі електростимульованої люмінісценції             | Метод визначення на якому побудований прилад відкритий | Метод малодоступний    |
| Обрана технологія реалізації ідеї проекту: Розробка приладу для визначення масової частки вітамінів груп А, D в соняшниковій олії на основі флуорисцентної фотостимульованої люмінесценції. |  |   |  |                        |

### 4.3 Аналіз ринкових можливостей запуску стартап проекту

Визначимо ринкові можливості, які можна використати під час ринкового впровадження проекту, та ринкові загрози, які можуть перешкодити його реалізації.

Це дозволяє спланувати напрями розвитку проекту із урахуванням стану ринкового середовища, потреб потенційних клієнтів та пропозицій проєктив-конкурентів.

Спочатку проведемо аналіз попиту: наявність попиту, обсяг, динаміка розвитку ринку (таблиця 4.4).

Таблиця 4.4.

#### Попередня характеристика потенційного ринку стартап-проекту

| № п/п | Показники стану ринку (найменування)                     | Характеристика  |
|-------|--|---|
| 1     | Кількість головних гравців, од                           | 3   |
| 2     | Загальний обсяг продаж, грн/ум.од                        | 156400 (10x15640)   |
| 3     | Динаміка ринку (якісна оцінка)                           | Зростає   |
| 4     | Наявність обмежень для входу (вказати характер обмежень) | Патентування продукту, середня конкуренція, високий показник якості обслуговування. |
| 5     | Специфічні вимоги до стандартизації та сертифікації      | ДСТУ EN 61326-2-1:2016<br>ДСТУ EN 61010-2-033:2017<br>ДСТУ EN 61010-2-201:2017      |
| 6     | Середня норма рентабельності в галузі (або по ринку), %  | 69%   |

За результатами аналізу таблиці можна зробити висновок що ринок є привабливим для входження за попереднім оцінюванням.

Надалі визначаємо потенційні групи клієнтів, їх характеристики, та формуємо орієнтовний перелік вимог до товару для кожної групи (табл. 4.5).

Таблиця 4.5.

#### Характеристика потенційних клієнтів стартап-проекту

| № п/п | Потреба, що формує ринок | Цільова аудиторія (цільові сегменти ринку) | Відмінності у поведінці різних цільових груп клієнтів | Вимоги споживачів до товару |
|-------|--------------------------|--|---|-----------------------------|
|-------|--------------------------|--|---|-----------------------------|

|  |   |  |  |   |
|--|---|--|--|---|
|  | Спрощення визначення масової частки жиророзчинних вітамін в соняшниковій олії | Промислові підприємства, які займаються виготовленням олійної продукції з соняшникових культур . Підприємства, які реалізують продукцію на території держави, або купують її для експорту. | Технічні стандарти які встановлюються на підприємствах. Після купівлі нашого засобу вимірювань з інтегрованим програмним забезпеченням клієнт може користуватися нею при розрахунках на протязі вказаного періоду після чого йому доведеться продовжити договір з продавцем. | <p>- до продукції Невеликі розміри приладу. Можливість проведення експрес аналізу. Невелика чутливість приладу до зовнішніх чинників. Можливість виведення результатів на комп'ютер. Безперебійна робота приладу. Зрозуміле управління приладом. Великий термін експлуатації.</p> <p>- до компанії-постачальника Відповідність приладу заданим характеристикам. Можливість технічної підтримки при виникненні перебоїв в роботі приладу. Ввідний інструктаж по роботі з програмним забезпеченням.</p> |
|--|---|--|--|---|

При купівлі даного продукту клієнт може зіткнутися з певними проблемами. Для їх попередження і швидкого виправлення необхідні створення та доставка якісного приладу, наявність висококваліфікованих працівників для роботи із засобом вимірювань, та забезпечення сприятливих умов роботи з вимірювальним засобом на об'єкті замовника для своєчасного усунення можливих технічних проблем в роботі вимірювального засобу. (таблиця 4.6).

Таблиця 4.6.

## Фактори загроз

| № п/п | Фактор                                  | Зміст загрози   | Можлива реакція компанії  |
|-------|---|---|---|
| 1.    | Конкуренція                             | Можливість появи на ринку іноземних аналогів з кращими характеристиками і нижчою ціною. | Вивчення продукції конкурентів та вдосконалення своєї, для задоволення всіх потреб користувачів.      |
| 2.    | Інфляція                                | Зміна курсу гривні, за рахунок чого можуть зменшитися продажі                           | Реалізація продукту в більш стабільній (іноземній) валюті та моніторинг економічної ситуації в країні |
| 3.    | Наявність локального конфлікту на сході | Може вплинути на коло потенційних покупців.   | Пошук нових клієнтів на міжнародному ринку  |
| 4.    | Постачання                              | Проблема з фірмами постачальниками  | Зміна політики розповсюдження продукту  |
| 5.    | Технічний                               | Збої в роботі програмного забезпечення приладу.   | Спрощення алгоритмів налаштування або впровадження постійної підтримки кваліфікованих техніків        |

Наявність певних загроз реалізації продукції дозволить нам вчасно вдосконалювати прилад та завжди бути в курсі всіх наукових новинок та економічної ситуації в країні. Окрім певних загроз, ми маємо ряд переваг та можливостей. (таблиця 4.7).

Таблиця 4.7.

## Фактори можливостей

| № п/п | Фактор           | Зміст можливості  | Можлива реакція компанії  |
|-------|------------------|---|---|
| 1.    | Науково-технічні | Зміниться технологія виготовлення товару.                     | Впровадження більш економічно вигідних методів, що дозволять зменшити собівартість приладу. |
| 2.    | Попит            | Збільшення попиту на товар на ринку.                          | Збільшення продажів, а відповідно і прибутків компанії                                      |
| 3.    | Економічні       | Політика протекціонізму; підтримка інноваційного виробництва. | Підвищення/пониження ціни на продукт; зменшення податкового тиску                           |

|    |                  |   |  |
|----|------------------|---|--|
| 4. | Політико правові | Може вплинути на купівлю/продаж товару.   | Зміна напрямків імпорту  |
| 5. | Екологія         | Підвищення зацікавленості людей впливу різних речовин і продуктів на навколишнє середовище. | Реклама своєї продукція яка допомагає виявити підприємства які мають попит на товар. |

Таблиця 4.8.

## Ступеневий аналіз конкуренції на ринку

|                                       |   |  |
|---------------------------------------|---|--|
| Особливості конкурентного середовища  | В чому проявляється дана характеристика | Вплив на діяльність підприємства (можливі дії компанії, щоб бути конкурентоспроможною) |
| 1. Тип конкуренції                    | Олігополія                              | Можливість домовленості з іншими олігополістами для отримання взаємної вигоди          |
| 2. Рівень конкурентної боротьби       | Національний                            | Вдосконалення продукту і пошук можливості виходу на міжнародний ринок                  |
| 3. За галузевою ознакою               | Міжгалузева                             | Розширення ринку за рахунок збільшення попиту  |
| 4. Конкуренція за видом товарів       | Товарно-видова                          | Вдосконалення та реклама для показу переваг  |
| 5. За характером конкурентних переваг | Нецінова                                | Вдосконалення свого продукту і при цьому невелике зменшення цін відносно конкурентів   |
| 6. За інтенсивністю                   | Не марочна                              | Розробка бренду і його активна реклама   |

Після аналізу конкуренції проведемо більш детальний аналіз умов конкуренції в галузі.

Таблиця 4.9.

## Аналіз конкуренції в галузі за М. Портером

|                  |   |   |   |  |   |
|------------------|---|---|---|--|---|
| Складові аналізу | Прямі конкуренти в галузі                 | Потенційні конкуренти                             | Постачальники   | Клієнти  | Товари-замінники                            |
|                  | На даний момент на ринку присутні 3 прямі | Потенційним конкурентам і є іноземні компанії які | Постачальникам і є інтернет магазини який займаються розповсюдження | Основними клієнтами є підприємства легкої промисловості. | Компанія володіє доволі сильною пропозицією |

|           |   |  |   |  |  |
|-----------|---|--|---|--|--|
|           | конкурент, які займають ся виготовленням даного обладнання.                     | згодом можуть вийти на наш ринок. Патенти на продукти. Законодавчі обмеження. Гнучкі ціни.               | м програмного забезпечення для контролю жиророзчинних вітамінів. Диференціація витрат. Концентрація постачальників. Значення розміру поставок | Розмір закупівель. Система інформації. Прибутки. Контроль якості.  | ю, максимальна схожі доступні аналоги практично відсутні                                   |
| Висновки: | Проводити аналіз конкурентних пропозицій, працювати над зниженням собівартості. | Високий ризик входу нових гравців, адже вхідні бар'єри є не дуже високими. Потенційних конкурентів немає | Так як концентрація постачальників доволі висока вони не диктують умови роботи на ринку.  | Для клієнтів все вагомим є питання ціни, вони хочуть платити менше. Для задоволення їх потреб потрібно розробляти нові пропозиції і підтримувати якість продукту | Підтримувати хороші позиції на ринку та конкурентну перевагу, розробляти нові види товарів |

Провівши аналіз факторів робимо обґрунтування конкурентоспроможності. Точна оцінка конкурентоспроможності можлива лише після впровадження приладу, тому робимо лише попередню оцінку конкурентоспроможності.

Таблиця 4.10.

#### Обґрунтування факторів конкурентоспроможності

| № п/п | Фактор конкурентоспроможності   | Обґрунтування (наведення чинників, що роблять фактор для порівняння конкурентних проєктів значущим)   |
|-------|---------------------------------|---|
| 1     | Ціна                            | Підтримка зворотного зв'язку з клієнтами, усунення виникнутих проблем при роботі, вдосконалення приладу, а відповідно збільшення попиту на продукт, що в результаті дозволить знизити ціну. |
| 2     | Велика кількість постачальників | Наявність приладу та своєчасна доставка продукту клієнту.   |
| 3     | Висока якість                   | Висока якість і точність приладу, яка дозволяє клієнту отримувати максимально точний результат вимірювань.  |
| 4     | Технічна підтримка              | Наявність досвідчених спеціалістів, які зможуть швидко вирішити будь яку проблему в роботі приладу.   |
| 5.    | Наявність патентів              | Наявність патенту на приладу, це дає споживачу упевненість в тому що він купує сертифікований продукт   |

Таблиця 4.11.

## Порівняльний аналіз сильних та слабких сторін приладу

| № п/п | Фактор конкурентоспроможності   | Бали 1-20 | Рейтинг товарів-конкурентів у порівнянні з нашим приладом |    |    |   |    |    |    |   |
|-------|---------------------------------|-----------|---|----|----|---|----|----|----|---|
|       |                                 |           | -3  | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |   |
| 1     | Наявність патентів              | 16        | +   |    |    |   |    |    |    |   |
| 2     | Велика кількість постачальників | 15        |   |    |    | + |    |    |    |   |
| 3     | Висока якість                   | 17        | +   |    |    |   |    |    |    |   |
| 4     | Технічна підтримка              | 19        |   | +  |    |   |    |    |    |   |
| 5.    | Ціна                            | 14        |   |    |    |   |    |    |    | + |

З таблиць 4.10 та 4.11 бачимо, що фактори конкурентоспроможності суттєві та мають великий позитивний внесок при впровадженні нового програмного забезпечення для визначення масової частки жиророзчинних вітамінів в соняшниковій олії. Основною перевагою та головним досягненням є висока якість продукту та технічна підтримка на протязі всього терміну його використання споживачем.

Таблиця 4.12.

## SWOT- аналіз стартап-проекту

|  |   |
|--|---|
| <p><b>Сильні сторони:</b><br/>           За наявності патентів споживач впевнений в якості отриманого продукту.<br/>           За рахунок хорошої підтримки ми закріплюємо свої позиції на ринку.<br/>           Завдяки високій якості продукту приваблюються нові клієнти.</p>   | <p><b>Слабкі сторони:</b><br/>           Так як на ринку багато постачальників, у клієнтів багатий вибір продукту, компанії необхідно проводити рекламу свого продукту і збільшувати кількість його постачальників.<br/>           За рахунок високої ціни клієнти обирають більш дешевий продукт, що призводить до втрати потенційного заробітку.</p>                        |
| <p><b>Можливості:</b><br/>           1. Зміниться технологія виготовлення товару.<br/>           2. Збільшення попиту на товар на ринку.<br/>           3. Політика протекціонізму; підтримка інноваційного виробництва.<br/>           4. Може вплинути на купівлю/продаж товару.<br/>           5. Підвищення зацікавленості людей впливу різних речовин і продуктів на навколишнє середовище.</p> | <p><b>Загрози:</b><br/>           1. Можливість появи на ринку іноземних аналогів з кращими характеристиками і нижчою ціною.<br/>           2. Зміна курсу гривні, за рахунок чого можуть зменшитися продажі<br/>           3. Може вплинути на коло потенційних покупців.<br/>           4. Проблема з фірмами постачальниками.<br/>           5. Збої в роботі приладу.</p> |



На основі SWOT-аналізу розробляємо альтернативи ринкової поведінки для виведення стартап-проекту на ринок та орієнтовний оптимальний час їх ринкової реалізації з огляду на потенційні проекти конкурентів, що можуть бути виведені на ринок.

Визначені альтернативи аналізуються з точки зору строків та ймовірності отримання ресурсів.

Таблиця 4.23.

#### Альтернативи ринкового впровадження стартап-проекту

| № п/п | Альтернатива (орієнтовний комплекс заходів) поведінки ринкової       | Ймовірність отримання ресурсів | Строки реалізації |
|-------|--|--------------------------------|-------------------|
| 1     | Стратегія нейтралізації ринкових загроз сильними сторонами стартапу  | Висока                         | 1 рік             |
| 2     | Стратегія компенсації слабких сторін наявними ринковими можливостями | Висока                         | 1 рік             |
| 3     | Стратегія виходу з ринку   | Низька                         | 1 рік             |

З зазначених альтернатив обираємо стратегію компенсації слабких сторін стартапу наявними ринковими можливостями.

#### 4.4 Розроблення ринкової стратегії проекту

Розроблення ринкової стратегії першим кроком передбачає визначення стратегії охоплення ринку: опис цільових груп потенційних споживачів.

Таблиця 4.14.

#### Вибір цільових груп потенційних споживачів

| № п/п | Опис профілю цільової групи потенційних клієнтів | Готовність споживачів прийняти продукт                                     | Орієнтовний попит в межах цільової групи (сегменту)  | Інтенсивність конкуренції в сегменті | Простота входу у сегмент       |
|-------|--|--|--|--------------------------------------|--------------------------------|
|       | Промислові компанії                              | Зазначатиметься готовністю підприємств піти на додаткові витрати пов'язані | Залежатиме від рівня та від темпу розвитку економіки | Середня                              | Середні бар'єри входу на ринок |
|       | Державні   |  |  | Середня                              | Середні                        |

|   |   |   |                                    |         |                                |
|---|---|---|------------------------------------|---------|--------------------------------|
|   | установи контролю якості продукції.                         | з вдосконаленням приладу та розширення його функціональних можливостей. | взагалі і галузі споживача зокрема |         | бар'єри входу на ринок         |
|   | Інститути, вчені яких проводять дослідження в даній області |   |                                    | Середня | Середні бар'єри входу на ринок |
| Які цільові групи обрано:<br>Під час аналізу потенційних груп споживачів було прийнято рішення що компанія буде працювати із промисловими компаніями. |   |   |                                    |         |                                |

За результатами аналізу потенційних груп споживачів ми обрали цільові групи, для яких будемо пропонувати свій прилад та визначили стратегію охоплення ринку: стратегію диференційованого маркетингу, тому що працюємо із конкретним сегментом, розробляючи для нього програму ринкового впливу.

Для роботи в обраному сегменті ринку необхідно сформувану базову стратегію розвитку.

Таблиця 4.3.

#### Визначення базової стратегії розвитку

| № п/п | Обрана альтернатива розвитку проекту                               | Стратегія охоплення ринку  | Ключові конкурентоспроможні і позиції відповідно до обраної альтернативи                | Базова стратегія розвитку* |
|-------|--|----------------------------|---|----------------------------|
|       | Підсилення сильних сторін стартапу за рахунок ринкових можливостей | Диференційований маркетинг | Якісний продукт, до якого прихильні споживачі, постійний зворотній зв'язок з клієнтами. | Стратегія диференціації    |

Наступним кроком є вибір стратегії конкурентної поведінки (табл. 4.16).

Таблиця 4.4.

## Визначення базової стратегії конкурентної поведінки

|       |  |  |   |                                   |
|-------|--|--|---|-----------------------------------|
| № п/п | Чи є проект «першопрохідцем» на ринку? | Чи буде компанія шукати нових споживачів, або забирати існуючих у конкурентів? | Чи буде компанія копіювати основні характеристики товару конкурента, і які? | Стратегія конкурентної поведінки* |
|       | Ні                                     | Передбачається розвиток ринку  | Ні, не буде. Буде утворено унікальну продукцію                              | Зайняття конкурентної ніші        |

На основі вимог споживачів з обраного сегменту до постачальника і продукту, а також в залежності від стратегії розвитку та стратегії конкурентної поведінки розробляємо стратегію позиціонування яка визначається у формування ринкової позиції, за яким споживачі мають ідентифікувати проект.

Таблиця 4.5.

## Визначення стратегії позиціонування

|       |  |                           |  |  |
|-------|--|---------------------------|--|--|
| № п/п | Вимоги до товару цільової аудиторії                    | Базова стратегія розвитку | Ключові конкурентоспроможні позиції власного стартап-проекту   | Вибір асоціацій, які мають сформувати комплексну позицію власного проекту (три ключових) |
|       | Вдосконалення продукту враховуючи побажання споживачів | Стратегія диференціації   | Висока якість продукту. Формування лояльності і прихильності споживачів, підтримка вхідних бар'єрів. | Якість.<br>Ціна.<br>Зворотній зв'язок із виробником.<br>Технічна підтримка.              |

Результатом даного підрозділу є система рішень щодо ринкової поведінки компанії, вона визначає в якому напрямі буде працювати компанія на ринку.

#### 4.5 Розроблення маркетингової програми стартап-проекту

Під час розроблення маркетингової програми першим кроком є розробка маркетингової концепції товару, який отримає споживач. У таблиці 5.16 підсумовуємо результати аналізу конкурентоспроможності товару.

Таблиця 4.6.

## Визначення ключових переваг концепції потенційного товару

| № п/п | Потреба   | Вигода, яку пропонує товар  | Ключові переваги перед конкурентами (існуючі або такі, що потрібно створити)  |
|-------|---|---|---|
|       | Потреба в визначенні масової частки вітамінів, для безпеки їх використання. | Отримання результатів про склад вітамінів, який важко або неможливо визначити іншими пристроями або методами. | Постійна технічна підтримка.<br>Безперебійна робота приладу.<br>Систематизація та спрощення обробки результатів досліджень. |

Таблиця 4.7.

## Опис трьох рівнів моделі товару

| Рівні товару   | Сутність та складові   |      |                |
|--|--|------|----------------|
| I. Товар за задумом  | Створення приладу для визначення концентрації жиророзчинних вітамінів здатних до люмінесценції на основі флуорисцентної фотостимульованої люмінесценції. Можна виділити наступні вигоди використання:<br>Максимально точне визначення складу вітамінів.;<br>Можливість розповсюдження продуктів на міжнародні ринки, завдяки прозорості їх складу. |      |                |
| II. Товар у реальному виконанні  | Властивості/характеристики   | М/Нм | Вр/Тх /Тл/Е/Ор |
|  | 1.Довговічність (немає строку давності)  | Нм   | Тх             |
|  | 2. Гарантійний термін (довгий термін гарантійного обслуговування)  | Нм   | Е              |
|  | 3.Досконалість виробничого виконання (Досконалий дизайн)   | Нм   | Тл             |
|  | 4.Вартість обслуговування (Низька вартість обслуговування)   | Нм   | Вр             |
|  | Якість: відповідає нормам ДСТУ EN 61326-2-1:2016, ДСТУ EN 61010-2-033:2017, ДСТУ EN 61010-2-201:2017   |      |                |
|  | Пакування: прилад в малогабаритному корпусі із стильним дизайном запакований в коробку із зазначенням всіх характеристик приладу та його зображенням.  |      |                |
|  | Марка:   |      |                |
| III. Товар із підкріпленням  | До придбання товару, користувач може запросити до себе спеціаліста та протестувати прилад, провівши на ньому ряд необхідних досліджень протягом одного робочого дня.   |      |                |
|  | Після придбання товару один раз в квартал клієнта буду відвідувати спеціаліст для налаштування, калі бровки, усунення несправностей, та неточностей у роботі приладу.  |      |                |
| За рахунок чого потенційний товар буде захищено від копіювання: Від копіювання товар буде захищено шляхом патентування коду (отримання сертифікату про |  |      |                |

інтелектуальну власність) та надання кожній проданій копію індивідуального ліцензійного коду який необхідно вводити при запуску приладу.

Далі визначаємо цінові межі, якими необхідно користуватися при визначенні ціни продукту, щоб він користувався попитом на ринку. При аналізі цінових меж та встановленні ціни необхідно враховувати ціни на прилад, які пропонують конкуренти та доходи потенційних клієнтів. (табл. 4.20).

Таблиця 4.20.

## Визначення меж встановлення ціни

| № п/п | Рівень цін на товари-замінники | Рівень цін на товари-аналоги | Рівень доходів цільової групи споживачів | Верхня та нижня межі встановлення ціни на товар/послугу |
|-------|--------------------------------|------------------------------|--|---|
|       | 22 000 – 100 000 грн.          | 35 100 – 117 000 грн.        | 300 000 – 400 000 грн.                   | 17 990-20 490 грн.                                      |

Таблиця 4.21.

## Формування системи збуту

| № п/п | Специфіка закупівельної поведінки цільових клієнтів | Функції збуту, які має виконувати постачальник товару       | Глибина каналу збуту        | Оптимальна система збуту |
|-------|---|---|-----------------------------|--------------------------|
|       | Покупка товару один раз                             | Доставка товару покупцю, його встановлення та налаштування. | Канал збуту нульового рівня | Мережа інтернет          |

Таблиця 4.8.

## Концепція маркетингових комунікацій

| № п/п | Специфіка поведінки цільових клієнтів  | Канали комунікацій, якими користуються цільові клієнти    | Ключові позиції, обрані для позиціонування | Завдання рекламного повідомлення   | Концепція рекламного звернення  |
|-------|--|---|--|--|---|
|       | Необхідність контролю масових часток жиророзчинних вітамінів<br>Можливість виведення | Мережа інтернет, виставки, семінари, друкована продукція. | Спеціалізовані виставки                    | Проінформувати клієнта про те, що за допомогою приладу стає можливим максимально точне визначення масових часток | Хочеш знати з чого складаються твої продукти – тобі до нас.<br>Втомився вірити брехні на етикетках – докопайся до |

|  |  |  |  |   |
|--|--|--|--|---|
| олійної продукції на міжнародні ринки, через чистоту і прозорість їх складу. |  |  | жиророзчинних вітамінів які важко визначити звичними методами, про які замовчують виробники. | істини. Ще досі віриш, що вживаєш корисні продукти в яких так багато вітамінів, ми це перевіримо! |
|--|--|--|--|---|

Результатом даного підpunkту є ринкова програма яка включає концепцію збуту, просування, аналіз ціноутворення, вона залежить від цінностей та потреб потенційних клієнтів, переваги ідеї, стан ринку на якому буде впроваджено проект на даний момент та його динаміку, та відповідну обрану альтернативу поведінки на ринку.

#### 4.6 Висновки

Провівши детальний аналіз стартап проекту, можна зробити висновок, що даний продукт буде цікавий потенційним клієнтам і має хорошу можливість ринкової комерціалізації. У зв'язку з хорошою динамікою ринку на розроблений продукт буде хороший попит у споживачів, і з точки зору рентабельності проект обіцяє бути дуже прибутковим. З огляду на потенційні групи клієнтів перспективи впровадження проекту є дуже високими. Але за рахунок того, що на ринку вже є присутні аналоги продукту який розробляється бар'єр входження на ринок є досить високим. Тому для успішного виходу на нього треба надати нашому продукту властивостей які будуть виділяти його серед конкурентів. На даний момент продукт є конкурентоспроможним але для підвищення довіри споживачів і формування своєї бази клієнтів необхідно:

Адаптація існуючих класичних фізико-хімічних методик аналізу масових часток вітамінів групи А, D для даного виробу. Удосконалення програмного забезпечення для автоматизації реєстрації вхідних вимірювальних сигналів та інтерпретації сигналів вимірювальної інформації.

Формування внутрішньовиробничих карт звітності з якості продукції отриманих за допомогою розробленого засобу вимірювань з подальшою реєстрацією результатів вимірювань в ДП"Укрметртестстандарт".

Проведення публічної презентації результатів проекту серед цільової групи користувачів, та широкого кола науковців на профільних заходах.

Провести дієву рекламну компанію за допомогою електронних та друкованих профільних для галузі застосування засобу вимірювань видань, для зацікавлення продуктом потенційних користувачів.

Надати можливість проведення тестових вимірювань приладом на протязі серії робочих днів з можливістю залучення сторонніх фахівців для навчання персоналу замовника.

Підтримувати зворотній зв'язок з клієнтами, удосконалювати вимірювальний засіб для задоволення рекамацій клієнтів що виникли в процесі технічного обслуговування засобу вимірювань.

Як альтернативний варіант впровадження нашого стартап проекту для ринкової реалізації проекту доцільно обрати початок продаж нашого продукту в мережі інтернет і для одного сегменту ринку, а тільки після закріплення на ринку вже починати шукати клієнтів в інших сегментах і пропонувати їм наш продукт.

## ВИСНОВКИ

Метою нашої магістерської дисертації було вдосконалення визначення масової частки вітамінів групи А та D в соняшниковій олії.

Проведені нами дослідження квантового виходу люмінесценції вибраних хімічних сполук та наведені в роботі статистичні дані, показують переваги даного методу в експрес-метрії та при поточних операціях контролю та визначенні якості жиророзчинних вітамінів групи А та D. Даний метод має високу вибірковість та достатню точність вимірювань у рамках експрес-метрії, є мало затратним та потребує вимірювального обладнання з низькою металоємністю, а також характеризуються відсутністю впливу на об'єкт дослідження.

У ході виконання магістерської дисертації було:

1. Проведено огляд методик виявлення вітамінів груп А та D в соняшниковій олії що базуються на основі спектрофотометричних (фотостимульована люмінесценція) методах дослідження хімічних речовин.

2. Виконано огляд та дослідження характеристик фотодіодних детекторів, придатних для використання у якості первинних перетворювачів для реєстрації інформативних параметрів жиророзчинних вітамінів груп А та D в соняшниковій олії методами фотостимульованої люмінесценції та розроблено схему їх включення.

3. Зроблено порівняльний аналіз і підбір потужних напівпровідникових УФ-світлодіодів у якості джерела збудження люмінесценції.

4. Розроблено калібрувальні графіки для визначених інформативних параметрів досліджуваних вітамінів в соняшниковій олії на окремих етапах процесу вимірювань.

5. Розроблена методика дозволить визначити кількісні та якісні характеристики жиророзчинних вітамінів груп А та D, що в майбутньому дозволить впровадження її в технічний процес виготовлення соняшnikової олії, заради оптимального збагачення олії корисними жиророзчинними вітамінами



Подальше практичне впровадження вищезазначених методів та засобів пропонується у вигляді промислового зразка вимірювального засобу, що може використовуватися у багатьох сферах харчової промисловості, щоб здійснювати контроль якості та визначення вмісту вітамінів в соняшниковій олії на етапі її виготовлення в технічному процесі, заради збагачення її біологічно цінними вітамінами.

Довгостроковими результатами нашої роботи є апробація розробленого макету вимірювальної установки в різних режимах роботи, його удосконалення та формування бази даних жиророзчинних вітамінів груп А та D в різних видах соняшникової олії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бахшиев Н.Г. Введение в молекулярную спектроскопию. Учеб. пособие. Л.: Изд.ЛГУ, 1987, 216с.
2. Берштейн И. Я. Спектрофотометрический анализ в органической химии / И. Я. Берштейн, Ю. Л. Каминский. – Л. : Химия, 1975. – 232 с.
3. Вилков Л.В., Пентин Ю.А. Физические методы исследования в химии(Структурные методы и оптическая спектроскопия).М.: Высш. школа, 1987, 367с.
4. Власова И. В. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Проблема неаддитивности светопоглощения / И. В. Власова, В. И. Вершинин, Т. Г. Цюпко // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т. 66, № 1. – С. 25-33.
5. Глоба И.И. Оптические методы и приборы контроля качества.- Минск, БГТУ, 2003, 424 с.
6. Глоба И.И., Ламоткин С.А. Хроматографические и спектральные методы анализа.- Минск, БГТУ, 2008. 408 с.
7. Григорьянц А.Г., Коротаева М.А., Алехнович В.И., Шиганов И.Н. Инструментальные методы контроля состава и свойств полидисперсных сред. /А.Г. Григорьянц, М.А. Коротаева, В.И. Алехнович, И.Н. Шиганов // Наука и образование: научное издание МГТУ им. Н.Э. Баумана. – 2012. – №2. – С. 51-64.
8. Дрозд А. В. Внутрішньолабораторна перевірка якості спектрофотометричних вимірювань / А. В. Дрозд, Н. О. Леонова, О. С. Каліненко // Метрологія та прилади.– 2010. – № 5 (25). – С. 62–66.
9. Другов Ю.С., Родип А.А. Пробоподготовка в экологическом анализе. С-Петербург, Анатолия, 2002.С 283.
10. Эммануэль Н.М., Кнорре Д.Г. Курс химической кинетики. Москва, Высшая школа. -1984. -С. 180-182.

11. Изучение фотохимической активности водных растворов гуминовых кислот, выделенных из почв в пределах горизонта. Химия в интересах устойчивого развития. Новосибирск ,т.13 (2005) 79–83.
12. Кижa Д. А., Лукин С.Б. Фотолюминесцентные методы контроля качества кофе. /Д.А. Кижa, С.Б. Лукин, // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. – 2006. – №8 (31). – С. 131-138.
13. Леонова Н. А. Контроль накопления тяжелых металлов в объектах растительного происхождения методом многокомпонентной спектрофотометрии / Н. А. Леонова, А. В. Дрозд // «Екологічні аспекти регіонального партнерства в надзвичайних ситуаціях» : Перша міжвузівська науково-методична конференція, 21 листопада 2012 р. : тези доп. – Харків, 2012. – С. 59–60.
14. Лукин С.Б., Демин Р.Е. Исследование возможности диагностики качества мясных продуктов на основе спектров люминесценции. /С.Б. Лукин, Р.Е. Демин// Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. – 2004. – №12. – С. 172-175.
15. Люминесцентный метод контроля / Е.И.Тимошкин, Г.А.Маршалкин, А.В.Титкова, И.С.Алехина // Пищевая пром-сть. 1989. - №12. - с. 54- 55.
16. Орлова А.О. Анализ многокомпонентной смеси по двумерным спектрам люминесценции. Современные технологии. Труды молодых ученых ИТМО. Под ред. проф. С.А. Козлова, СПб, СПб ГИТМО (ТУ), 2001, с.24-31.
17. Орлова А.О., Маслов В.Г. Применение метода последовательных исключений для определения люминесцирующих компонент фотосинтезирующих объектов. Оптический журнал, 2002, Т.69, №3, С.21-24
18. Основы аналитической химии: В 2 кн. / Под ред. Ю.С. Золотова.М.: Высшая школа, 2000, 264 с.

19. Патент 101854 Україна. Спосіб фотометричного визначення нітратів у джерелах водопостачання. МПК G01 №21/25, G01 №21/23 – опублікований 13.05.13, Бюл. №9
20. Перьков И. Г. Спектры аддитивных свойств и их модификация в неселективных методах анализа многокомпонентных систем / И. Г. Перьков // Журн. аналит. химии. – 1991. – Т. 46. – Вып. 10. – С. 2069-2087.
21. Прикладная физическая оптика. Под ред. В.А.Москалева С.-Пб.: Политехника, 1995, 316 с.
22. Специфікація мікроконтролеру ATmega328. [Електронний ресурс]: – Режим доступу: [http://ww1.microchip.com/downloads/en/DeviceDoc/Atmel-42735-8-bit-AVR-Microcontroller-ATmega328-328P\\_Data\\_sheet.pdf](http://ww1.microchip.com/downloads/en/DeviceDoc/Atmel-42735-8-bit-AVR-Microcontroller-ATmega328-328P_Data_sheet.pdf) – Назва з екрану.
23. Специфікація плати розширення Arduino UNO R3 на базі мікроконтролера ATmega328. [Електронний ресурс]: – Електронні дані. – Режим доступу: <https://www.farnell.com/datasheets/1682209.pdf> – Назва з екрану.
24. Шаталов И.Ф., Воронин А.В., Пурьгин П.Н. Химико-токсикологический анализ «летучих» и «лекарственных» ядов. // Уч.пособие. Самара: ООО «Содружество Плюс»: ГОУВПО «Сам-ГМУ». 2004. - 116-122.
25. Wilson, R. G. Fourier Series and Optical Transform Techniques on Contemporary Optics: An Introduction, John Wiley & Sons, New York, 1995, pp. 124-128.
26. Valeur, B.; Berberan-Santos, M.N. Molecular Fluorescence: Principles and Applications, 2nd ed.;Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2013, p 138-142.
27. Rahul Chib, Bogumil Zelent, Yan Wang, et al. (2017). Edible Luminescent Probes as Sensors of Food Quality: Identification and Selection. (National) Biophysical Journal, Volume 112, Issue 3, Supplement 1, p 454-459, 3 February 2017.

28. Pilipenko A.T., Zui O.V., Terletsкая A.V. // Journal of Water Chemistry and Technology. – 1991. – 13, № 9. – С. 108–119.
29. Pavia, D. L. Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry, Saunders College Publishing, 1997, pp. 96-100.
30. Niki K., Kiso Y., Takeuchi T. et al. // Analytical Methods. – 2010. – V. 2. – P. 678-683.
31. Maria G. Corradini, Yan Lavinia Wang , An Le, et al. Identifying and selecting edible luminescent probes as sensors of food quality. AIMS Biophysics, AIMS Biophysics, 2016, 3(2): p 319-339.
32. Görög, S. Ultraviolet-Visible Spectrophotometry in Pharmaceutical Analysis, CRC Press Boca Raton Fl, 33487, 1995, pp. 215-220.