

형광분석법을 이용한 정량분석

ver. 2022.03

▣ 시약 및 기구

- 시약 : Na_2HPO_4 , Disodiumfluorescein(uranine)
- 기구 : Spectrofluorometer(F-7000), 형광 cell, 부피플라스크(500 mL 1개 50 mL 2개), 비커(50 mL 5개), 피펫(10 mL 2개, 5 mL 2개), 일회용 스포이드

▣ 실험방법

1. 용액 만들기

- (1) 0.05 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ in 증류수 - 250 mL 제조 (부피플라스크) : 용매로 사용
 $0.05 \text{ M} \times 0.25 \text{ L} \times 358.14 \text{ g/mol} = 4.4768 \text{ g}$, Na_2HPO_4 4.477 g
- (2) 위의 용액을 이용하여 1 mg/mL의 uranine을 50 mL 제조 (부피플라스크)
 $1 \text{ mg/mL} \times 50 \text{ mL} = 50 \text{ mg} = 0.05 \text{ g}$
- (3) 10 $\mu\text{g/mL}$ uranine 용액 50 mL 제조 (위의 용액을 1/100으로 묽힌다. 부피플라스크)
: (2) 용액 0.5 mL 넣고 표선 까지 채운다.
- (4) 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 $\mu\text{g/mL}$ uranine 용액 25 mL를 비커에 제조
10 $\mu\text{g/mL}$ uranine 용액 2.5, 2, 1.5, 1, 0.5 mL를 넣어서 만든다.
- (5) 위의 5가지 용액을 적당량 섞어 미지농도의 용액 제조
- (6) Sample Cell을 넣고 측정한다.
- (7) 미지용액의 농도를 구한다.

※ 주의사항

1. 셀은 대각선으로 잡고 사용한다.
2. 빛이 지나가는 부분에 먼지 또는 이물질이 없도록 주의한다.
3. Sample을 Cell에 넣기 전에 증류수로 씻어내고 아세톤으로 헹군 후 드라이기로 건조시킨 뒤 사용
4. uranine 용액을 만들거나 묽힐 때는 반드시 증류수가 아닌 0.05 M Na_2HPO_4 용액을 사용해야 하며, 반드시 가장 진한 농도의 용액이 아닌 10 $\mu\text{g/mL}$ uranine 용액을 사용하여 묽힌다.
5. 용액은 항상 실험 시작 전에 만들어 사용하고, 용액을 충분히 잘 섞은 후 묽힌다.
6. 빛에 민감하므로 어두운 곳에 보관하거나 은박지로 감싸둔다.
7. 실험은 묽은 용액부터 측정한다.

형광분석기 매뉴얼

2022.03.

1. 자동전압조정기 ON : 레버 올리고 파란버튼 누르기. (켜져있는 경우 손대지 말 것!)



2. F-7000의 Power ON (장비 왼쪽 하단)

- Lamp warming 10분 이상 시킨 후 측정 시작(Lamp수명이 짧아지니 꼭 지킬 것!)
- 장비사용 대장에 사용자 작성하기

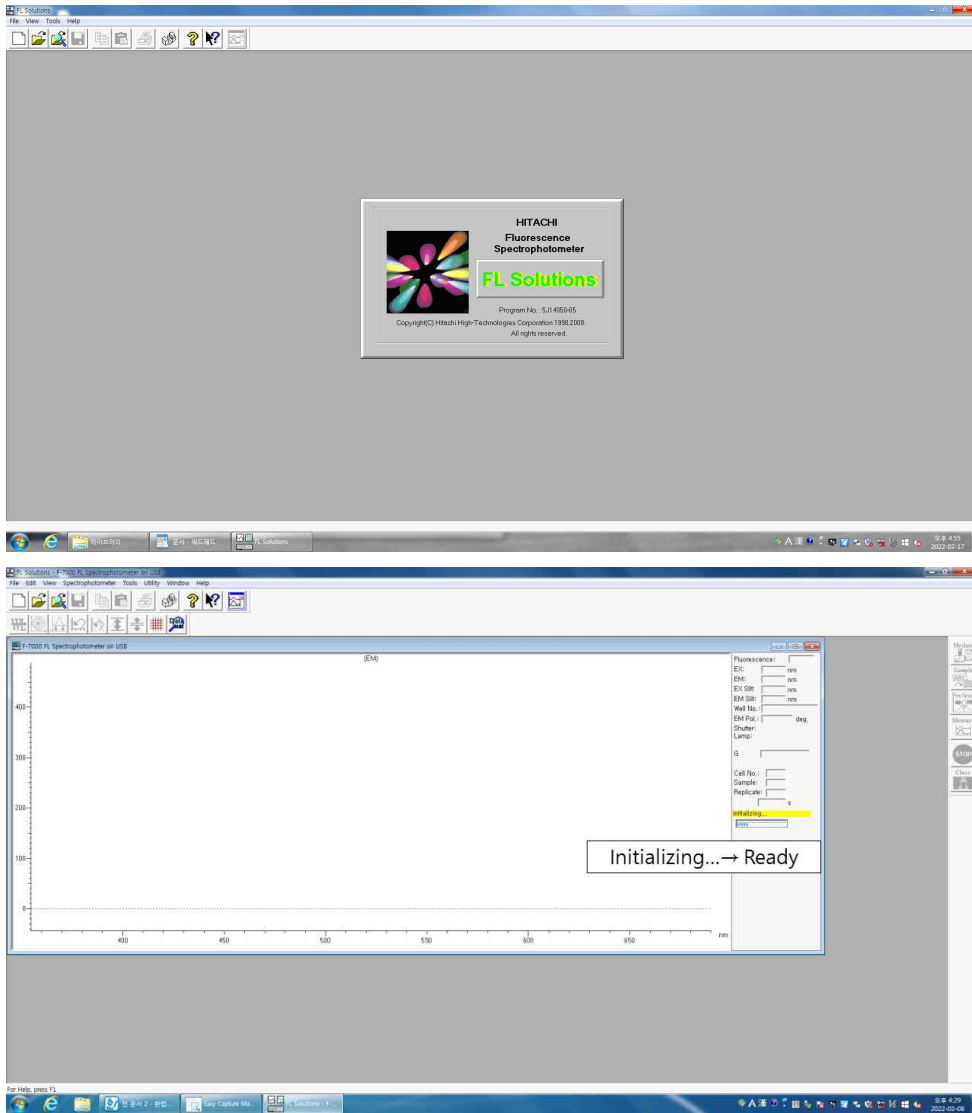


3. PC ON : 바탕화면의 FL Solutions 2.1 for F-7000 프로그램 실행



※ 바탕화면에 '기물실' 폴더도 있으니 기억하자 : 폴더 안 해당 분반 폴더에 데이터 저장





Fluorescence:

EX: nm

EM: nm

EX Slit: nm

EM Slit: nm

Shutter: Open

Lamp: ON

Sample:

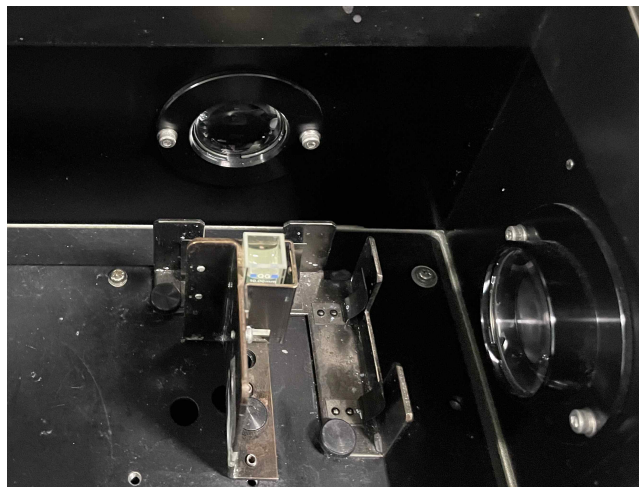
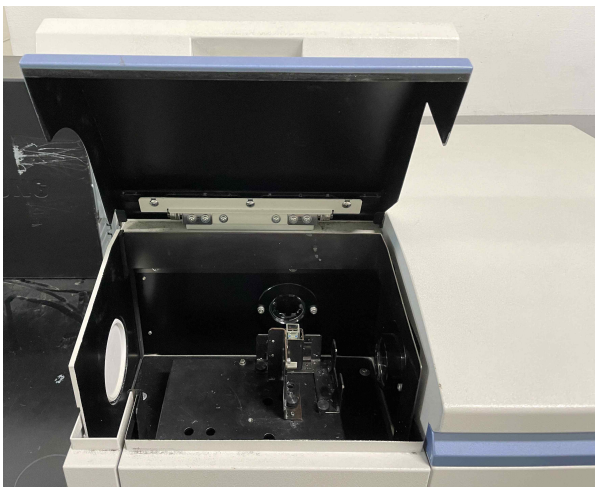
Replicate:

Ready

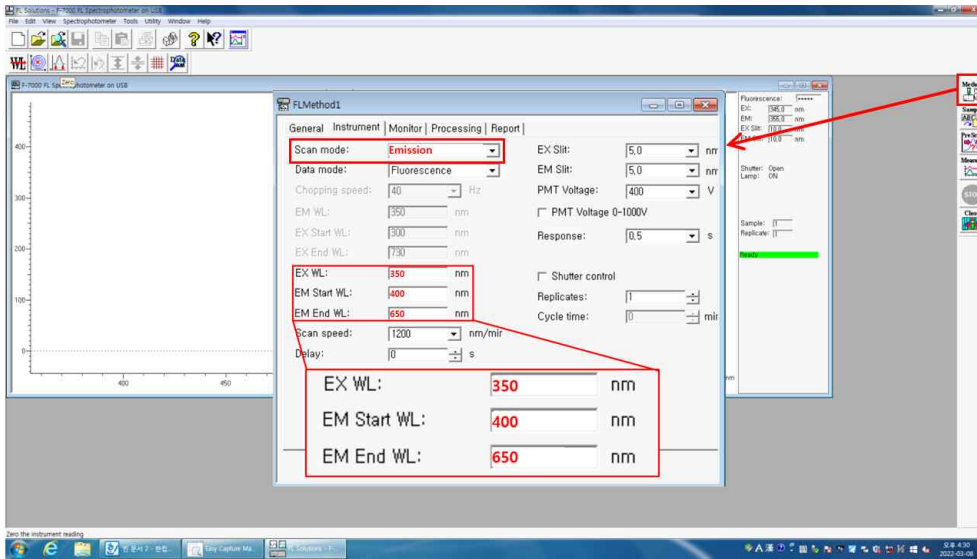
- initializing이 끝나고 Ready로 바뀌면 측정이 가능하다.
- Lamp가 켜져있는지 확인

4. Sample 측정

- 장비 On 10분 후 측정하기
- 1) 장비에 sample 장착한다.

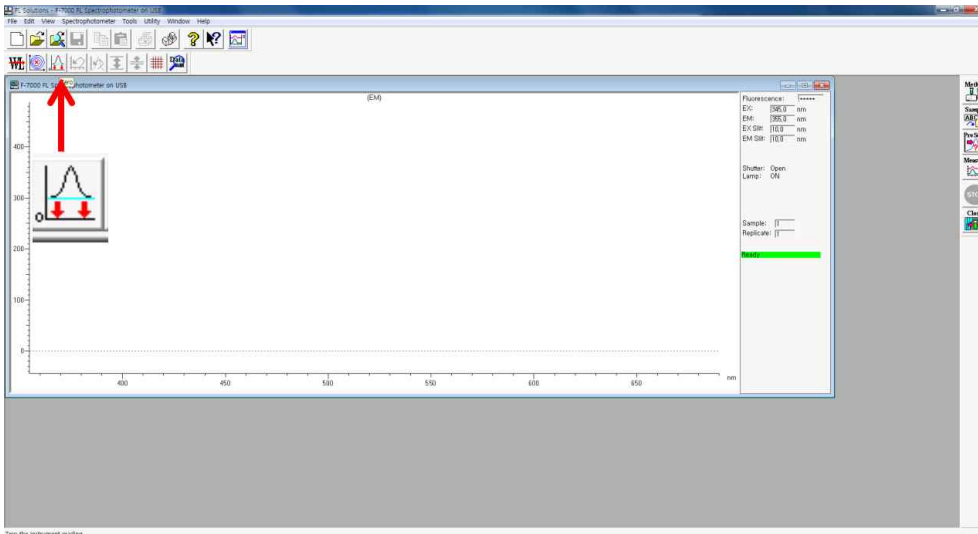


2) parameter 입력
- Method 클릭

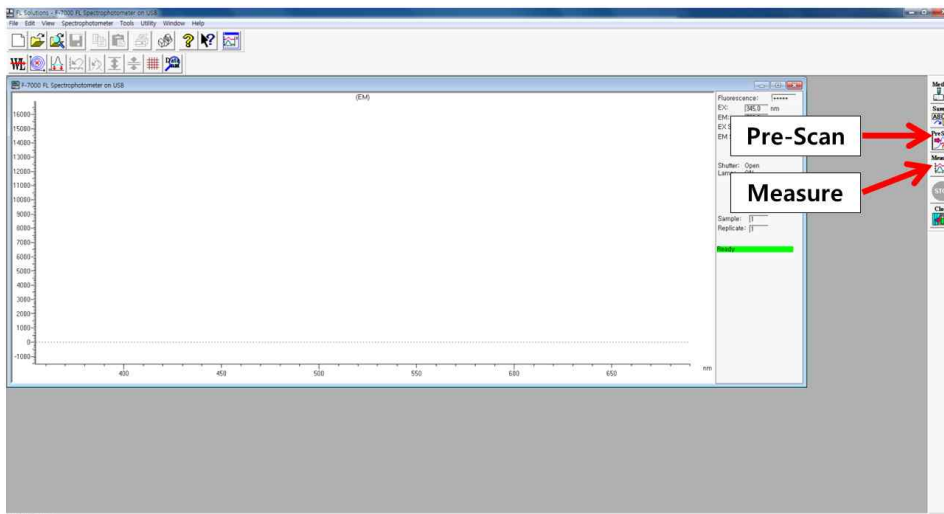


Scan mode : Emission
Ex WL : 350 nm
Em Start WL : 400 nm
Em End WL : 650 nm

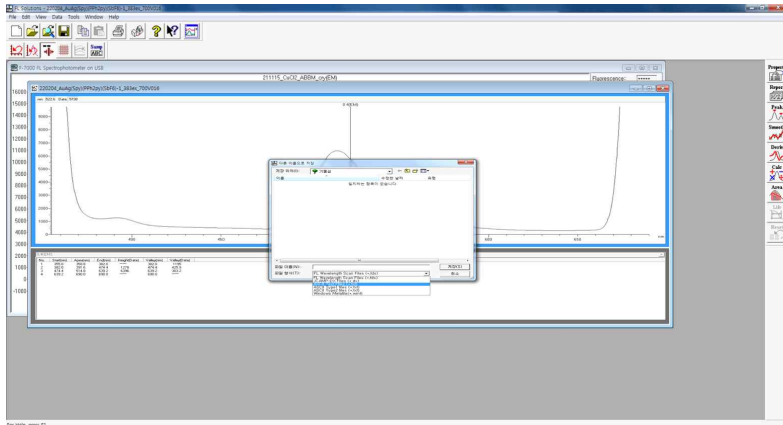
3) Auto Zero 클릭 : base line 0로 만들기



4) Pre-Scan 클릭 - Ready - Measure 클릭
- 시료 측정이 완료될 때까지 반복 조작한다.

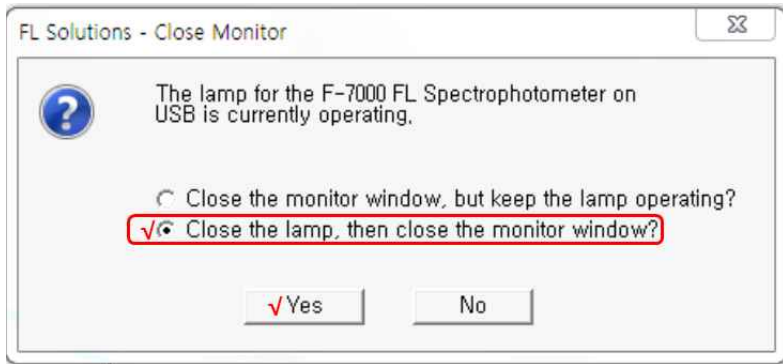


5. Data 저장 : File – Save as – 바탕화면 기물실 폴더 – 분반 폴더 선택
 - 파일형식 ASCII Text Files(*.txt) 선택 – 파일명 입력하고 저장



6. 종료

1) 램프 끄기 체크 후 종료



2) 장비 전원, PC 끄기

3) 자동전압조정기 끄기 : TGA 장비 사용시 그냥 두기

7. 실험결과 분석

- λ_{EM} 값을 이용하여 K값 결정 후 미지시료의 농도를 결정

$$F = KC$$

