

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова
Министерство здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)

Учебно-методическое обеспечение дисциплины
Физико-химические методы исследования
основная профессиональная образовательная программа высшего образования –
программа специалитета
30.00.00 Фундаментальная медицина
30.05.01 Медицинская биохимия

Кафедра аналитической, физической и коллоидной химии

ТЕТРАДЬ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

(физико-химические инструментальные методы исследования)

**ОПТИЧЕСКИЕ, ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ,
ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ**

30.05.01 МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ

ФИО

курс _____ группа _____

Кафедра аналитической, физической и коллоидной химии

**В.Ю. ГРИГОРЬЕВА, И.Л. УДЯНСКАЯ, В.Г. ЯНКОВА,
С.В. ГРИБАНОВА, Ю.Я. ХАРИТОНОВ, И.И. КРАСНЮК**

ТЕТРАДЬ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

**ОПТИЧЕСКИЕ, ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ,
ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ**

Учебное пособие

Москва 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	5
Методы фармакопейного анализа	
Тема I. Оптические методы анализа	7
<i>Общая характеристика фотометрических методов анализа</i>	8
Занятие 1. Спектрофотометрическое определение никеля(II) реакцией с диметилглиоксимом в присутствии окислителей	11
Занятие 2. Фотоэлектроколориметрическое определение дихромат- и перманганат-ионов в растворе при их совместном присутствии	20
Занятие 3. Фотоэлектроколориметрическое определение концентрации перманганат-ионов в растворе	30
<i>Общая характеристика флуориметрических методов анализа</i>	35
Занятие 4. Определение содержания рибофлавина (витамина B ₂) в растворе флуоресцентным методом анализа	37
Решение задач	46
Тема II. Хроматографические методы анализа	52
<i>Тонкослойная хроматография (ТСХ). Общая характеристика метода</i>	52
Занятие 1. Анализ смеси аминокислот	66
Разделение и идентификация смеси алкилпроизводных фенотиазина (АФ)	69
<i>Газожидкостная хроматография. Общая характеристика метода</i>	73
Занятие 2. Анализ смеси ацетон-гексан-бензол методом ГЖХ	82
<i>Ионообменная хроматография. Общая характеристика метода</i>	88
Занятие 3. Разделение ионов железа(III) и меди(II) и их количественное определение в растворе	91
Занятие 4. Определение массовой доли калия хлорида в образце	98
Решение задач	101

Тема III. Электрохимические методы анализа	107
<i>Введение</i>	107
<i>Общая характеристика потенциометрического анализа</i>	108
Занятие 1. Прямая потенциометрия	111
Определение содержания фторид-иона в растворе с применением фторид-селективного электрода	111
Занятие 2. Потенциометрическое титрование	120
Определение массовой доли новокаина в препарате	120
Занятие 3. Кулонометрический анализ	130
<i>Общая характеристика кулонометрического анализа</i>	130
Определение массы натрия тиосульфата в растворе методом кулонометрического титрования	134
Решение задач	142
 Содержание письменной контрольной работы по теме «Физико-химические методы анализа»	 149

ПРЕДИСЛОВИЕ

Рабочая тетрадь представляет собой практическое руководство к лабораторному практикуму, тестовым заданиям, контрольным работам по физико-химическим (инструментальным) методам анализа (оптические, хроматографические, электрохимические), ориентированное преимущественно на вузовскую подготовку специалистов по фармацевтическим специальностям.

Рабочая тетрадь составлена на основе учебника Ю.Я. Харитонova «Аналитическая химия (аналитика)» в двух книгах (М.: «Высшая школа», 5-е издание, 2010 г.), Государственной фармакопеи XIII online и учебно-методических разработок, составлявшихся и использовавшихся в учебном процессе в течение многих лет коллективом преподавателей кафедры аналитической химии (ныне – кафедры аналитической, физической и коллоидной химии) Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова.

Предусматривается проведение занятий по следующим темам.

Оптические методы анализа. Три занятия. Рекомендуется проведение лабораторных работ по спектрофотометрии, фотоэлектроколориметрии и флуориметрии (люминесцентный анализ).

Хроматографические методы анализа. Три занятия. Рекомендуется проведение лабораторных работ по тонкослойной хроматографии, газожидкостной хроматографии, ионообменной хроматографии.

При наличии соответствующего оборудования можно рекомендовать также проведение лабораторной работы по высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Электрохимические методы анализа. Три занятия. Рекомендуется проведение лабораторных работ по прямой потенциометрии, потенциометрическому титрованию, кулонометрическому титрованию.

При наличии соответствующего оборудования можно рекомендовать также проведение лабораторных работ по кондуктометрии, полярографии, амперометрии.

В рабочей тетради не приведены описания конкретных лабораторных установок и приборов (спектрофотометры, фотоэлектроколориметры, флуориметры, хроматографы, ионометры, кулонометрические установки и др.), так как в настоящее время отечественные и зарубежные фирмы выпускают приборы и оборудование разных марок и конструктивных вариантов. Подробное описание этих приборов и установок целесообразно давать в специальных дополнительных методических инструкциях и руководствах, специфичных и неодинаковых для разных кафедр вузов и составляемых кафедрами для внутреннего использования в зависимости от того, какими приборами и установками располагает та или иная кафедра.

При составлении пособия в основном использовалась нижеследующая литература.

1. Харитонов Ю.Я., Григорьева В.Ю., Краснюк И.И.(мл.) Аналитическая химия (аналитика). В двух книгах. Издание 7. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022.
2. Харитонов Ю.Я., Григорьева В.Ю. Примеры и задачи по аналитической химии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.
3. Государственная фармакопея XIII online/ pharmascorp.eia.ru/
4. Харитонов Ю.Я., Джабаров Д.Н., Качественный анализ. Титриметрия. Сборник упражнений. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015.
5. Титриметрический анализ. Коллектив авторов / Под редакцией Харитонова Ю.Я. – М.: Издание ММА им. И.М. Сеченова, 1996.
6. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – М.: Химия, 1989.
7. Харитонов Ю.Я., Черкасова О.Г. Электронная библиотека. Том 3. Аналитическая химия. – М.: Русский врач, 2004.

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

(оптические, хроматографические, электрохимические методы)

Физико-химические и физические методы анализа основаны на использовании зависимости между измеряемым физическими свойствами веществ и их химическим составом.

Методы физико-химического анализа широко применяются для анализа лекарственных веществ, что отражено в ОФС Государственной фармакопеи XIII online.

Лабораторный практикум включает выполнение работ по оптическим, хроматографическим и электрохимическим методам анализа.

ТЕМА I.

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

На изучение темы отводятся три занятия, включающие краткое рассмотрение основных теоретических положений, решение задач по теме и экспериментальную часть. По этой теме проводится два занятия по фотометрическим методам и одно занятие по флуоресцентным методам анализа.

Цель изучения темы

На основе знания теоретических основ и законов фотометрических методов научиться обоснованно выбирать и практически применять спектрофотометрические и фотоэлектроколориметрические методы анализа количественного определения веществ.

На основе знания сущности явления и основных законов люминесценции научиться обоснованно выбирать и практически применять методы флуоресцентного анализа для количественного определения веществ в растворе.

ОФС. 1.2.1.1.0003.15. Спектрофотометрия в УФ и видимой областях.

ОФС 1.2.1.1.0006.15. Флуориметрия.

Общая характеристика фотометрических методов анализа

Фотометрические методы количественного анализа основаны на зависимости оптических свойств вещества (испускание, поглощение, рассеяние, отражение, преломление, поляризация света), проявляющихся при взаимодействии электромагнитного излучения с веществом, от концентрации этого вещества в анализируемой системе.

В определенном интервале концентраций вещества и при постоянных условиях эксперимента зависимость интенсивности светопоглощения от количества вещества выражается в виде объединенного основного закона светопоглощения (основного закона фотометрии), который в логарифмической форме имеет вид:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l,$$

где A – оптическая плотность (экстинкция, погашение, absorbance) – безразмерная величина;

ε – молярный коэффициент или показатель погашения (коэффициент экстинкции – absorptivity), л·моль⁻¹·см⁻¹,

c – молярная (обычно) концентрация светопоглощающего вещества в анализируемом растворе, моль/л;

l – длина (толщина) светопоглощающего слоя, см.

Оптическая плотность растворов измеряется при аналитической длине волны $\lambda_{\text{макс}}$, при которой величина оптической плотности раствора в его спектре поглощения имеет максимальное значение.

Если концентрацию анализируемого раствора выразить в г/100 мл раствора и обозначить ее буквой W , то основной закон светопоглощения будет иметь вид:

$$A = E_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot W \cdot l,$$

где $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ – удельный коэффициент погашения.

Иногда удельный коэффициент погашения обозначают буквой “ E ” без индексов.

При проведении фотометрических определений обычно используют спектрофотометрические и фотоэлектроколориметрические методы анализа.

Методы спектрофотометрии основаны на использовании световых потоков, проходящих через анализируемый раствор, с высокой степенью монохроматизации. Методы фотоэлектроколориметрии основаны на использовании немонахроматических световых потоков, сформированных специальными светофильтрами, которые имеют максимальное светопропускание при различных длинах волн.

При выполнении фотометрического анализа растворов сложных смесей, компоненты которых поглощают при одной и той же длине волны (но не взаимодействуют между собой и подчиняются основному закону светопоглощения), используют закон аддитивности оптической плотности: оптическая плотность раствора при определенной длине волны складывается из оптических плотностей отдельных компонентов смеси, поглощающих при этой длине волны.

При проведении фотометрического анализа концентрацию вещества в анализируемом растворе определяют различными методами.

Метод градуировочного графика (метод калибровочных кривых). Готовят серию эталонных растворов определяемого вещества с концентрациями c_1, c_2, c_3, c_4 и т. д. Измеряют оптическую плотность A каждого эталонного раствора при аналитической длине волны по отношению к раствору сравнения и по полученным данным строят график в координатах $A - c$. Затем в тех же условиях измеряют оптическую плотность анализируемого раствора и по градуировочному графику определяют концентрацию определяемого вещества $c(X)$ в анализируемом растворе.

Метод одного стандарта. Готовят эталонный раствор определяемого вещества с концентрацией $c(ст)$, близкой к концентрации анализируемого раствора $c(X)$, и измеряют оптическую плотность стандартного раствора $A(ст)$ при аналитической длине волны по отношению к раствору сравнения. Затем в тех же условиях измеряют оптическую плотность $A(X)$ анализируемого раствора и рассчитывают его концентрацию $c(X)$ из соотношения:

$$c(X) = c(\text{ст}) \cdot \frac{A(X)}{A(\text{ст})}$$

Определение концентрации по молярному или удельному коэффициенту погашения. Значение соответствующего коэффициента погашения при аналитической длине волны должно быть известно или определяется в процессе эксперимента.

Измеряют оптическую плотность $A(X)$ анализируемого раствора с концентрацией $c(X)$ при аналитической длине волны в кювете с толщиной поглощающего слоя l . Концентрации вещества в анализируем растворе рассчитывают по формулам:

$$c(X) = \frac{A(X)}{\varepsilon \cdot l} \qquad W(X) = \frac{A(X)}{E \cdot l},$$

где концентрация $c(X)$ анализируемого раствора выражена в моль/л, а концентрация $W(X)$ выражена в г/100 мл раствора.

Фотоэлектроколориметрия применяется при анализе таких лекарственных препаратов, как левомецетин, ментол, новокаин, стрептомицин, рутин и многие другие.

**Занятие 1. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
НИКЕЛЯ(II) РЕАКЦИЕЙ С ДИМЕТИЛГЛИОКСИМОМ
В ПРИСУТСТВИИ ОКИСЛИТЕЛЕЙ**

Цель занятия: количественное определение содержания никеля в анализируемом растворе методом спектрофотометрии.

Целевые задачи:

1. Приготовление серии эталонных растворов соли никеля.
2. Построение спектра поглощения раствора комплексной соли никеля и выбор аналитической длины волны.
3. Расчет значений молярных коэффициентов погашения для приготовленных растворов соли никеля.
4. Построение градуировочного графика для определения концентрации никеля в растворе.
5. Расчет содержания никеля в растворе по градуировочному графику и с использованием молярного коэффициента погашения.

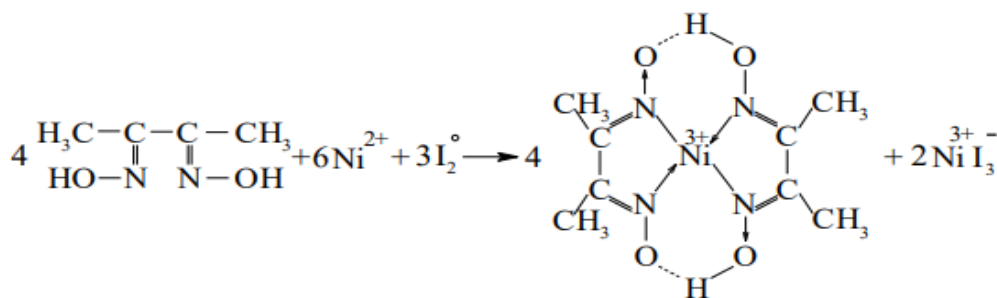
Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

1. Сущность фотометрических методов анализа и их возможности.
2. Классификацию фотометрических методов анализа в зависимости от степени монохроматизации используемых световых потоков.
3. Зависимость оптической плотности раствора от различных факторов.
4. Основной закон светопоглощения.
5. Физический смысл величин молярного и удельного коэффициентов погашения растворов и возможности их использования для определения массы веществ в анализируемых растворах.
6. Принципиальную оптическую схему фотометрических приборов.

Сущность работы

Водные растворы солей никеля имеют обычно слабую окраску, обладают малым значением величины молярного коэффициента погашения. Применение фотометрического метода ввиду его малой чувствительности в данном случае невозможно. Для получения оптимальных результатов предварительно проводят фотометрическую реакцию никеля(II) с диметилглиоксимом в щелочной среде в присутствии окислителя (йода, брома, водорода пероксида и др.). В условиях проведения реакции происходит окисление никеля(II), вероятно, до трехвалентного состояния, образование комплексного соединения с диметилглиоксимом с максимумом поглощения при 470 нм и высоким значением молярного коэффициента погашения комплекса. Возможное уравнение реакции будет соответствовать следующей схеме:



Определение никеля основано на зависимости оптической плотности растворов полученных комплексов от концентрации соединения никеля в исходных водных растворах.

Методика работы

1. Приготовление 100 мл эталонного раствора, содержащего 0,4000 мг/мл никеля (раствор А).

Навеску никеля сульфата гептагидрата в г, необходимую для приготовления заданного раствора, рассчитывают по формуле:

$$m(\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}) = \frac{T(\text{Ni}^{2+}) \cdot V_{\text{к}}(\text{Ni}^{2+}) \cdot 10^{-3} \cdot M(\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})}{M(\text{Ni}^{2+})},$$

где $T(\text{Ni}^{2+}) = 0,4000$ мг/мл; $V_{\text{к}}(\text{Ni}^{2+}) = 100$ мл.

$m(\text{нав.}) =$

Взятую на аналитических весах навеску количественно переносят в мерную колбу на 100 мл, растворяют в небольшом объеме дистиллированной воды, добавляют 0,2 мл концентрированной серной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и получают раствор А.

2. Приготовление 100 мл эталонного раствора, содержащего 0,0400 мг/мл никеля (раствор Б).

В мерную колбу на 100 мл помещают 10 мл раствора А, доводят объем дистиллированной водой до метки и получают раствор Б.

3. Приготовление эталонных растворов никеля(II).

В пять мерных колб на 100 мл вносят 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 мл эталонного раствора Б. Затем в каждую колбу добавляют по 2–3 капли концентрированной хлороводородной кислоты, 1,0 мл раствора йода, 1,0 мл раствора диметилглиоксима, 5,0 мл раствора натрия гидроксида. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

4. Приготовление раствора сравнения.

В мерную колбу на 100 мл вносят 5 мл дистиллированной воды, 2–3 капли концентрированной хлороводородной кислоты, 1,0 мл раствора йода, 1,0 мл раствора диметилглиоксима, 5,0 мл раствора натрия гидроксида. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

5. Выбор аналитической длины волны.

На спектрофотометре измеряют оптическую плотность A эталонного раствора № 3 в области длин волн 400–500 нм с интервалом в 10 нм. Вблизи

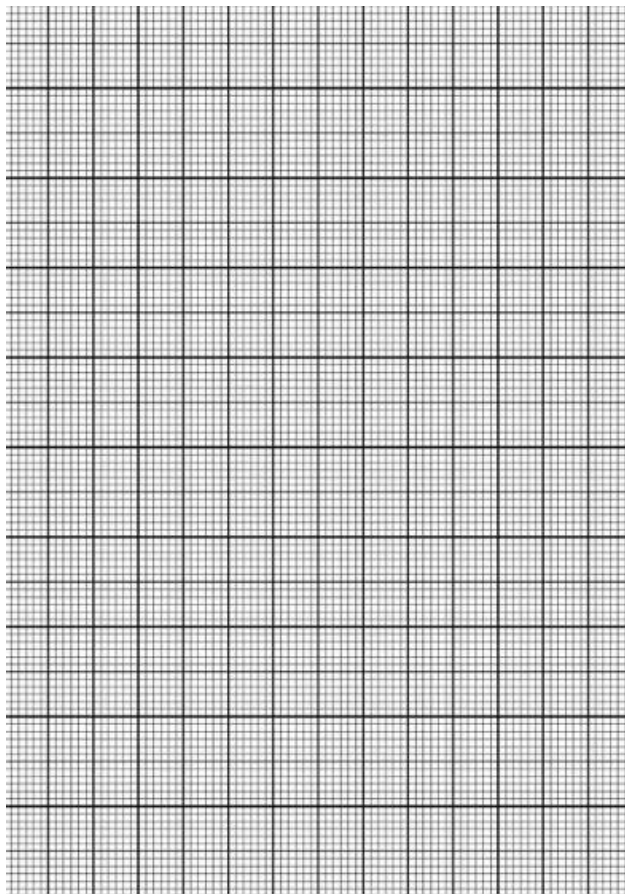
максимума поглощения интервал уменьшают до 2 нм. Измерение проводят в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см по отношению к раствору сравнения. Полученные данные вносят в табл. 1.

По полученным данным на миллиметровой бумаге строят спектр поглощения раствора комплексного соединения никеля с диметилглиоксимом в координатах *оптическая плотность раствора A* – *длина волны λ* .

Для проведения дальнейшего анализа выбирают аналитическую волну, соответствующую максимальной оптической плотности в полученном спектре поглощения $\lambda_{\text{макс}}$.

Таблица 1.

λ , нм	A
400	
410	
420	
430	
440	
450	
460	
462	
464	
466	
468	
470	
472	
474	
476	
478	
480	
490	
500	



Спектр поглощения раствора комплексного
соединения никеля с диметилглиоксимом

6. Измерение оптических плотностей эталонных растворов.

Оптическую плотность эталонных растворов никеля(II) измеряют при выбранной длине волны на спектрофотометре в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см относительно раствора сравнения. Измерение проводят не менее двух раз и определяют среднее значение оптической плотности $\bar{A}$ для каждого раствора.

Рассчитывают титр приготовленных эталонных растворов в пересчете на никель в мкг/мл по правилу разбавления и их молярные концентрации в моль/л по формуле и с учетом единиц измерения используемых величин.

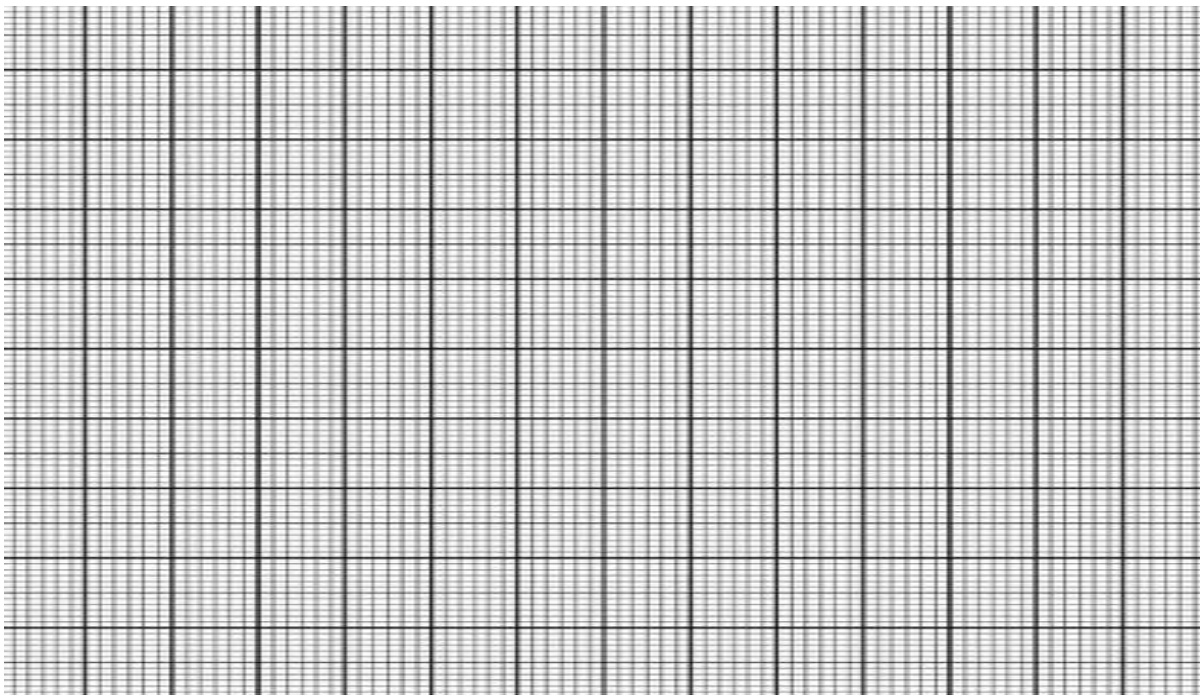
Рассчитанные значения концентраций эталонных растворов и измеренные оптические плотности A этих растворов вносят в табл. 2.

Таблица 2. Характеристики эталонных растворов никеля(II)

№№ эталонного раствора	Объем раствора, мл	Титр раствора, мкг/мл	Концентра- ция раствора, $c(\text{моль/л}) \cdot 10^5$	A	$\bar{\epsilon}$ $\text{л/моль}^{-1}\text{см}^{-1}$
1	2,0	0,8	1,4		
2	4,0	1,6	2,8		
3	6,0	2,4	4,2		
4	8,0	3,2	5,6		
5	10,0	4,0	7,0		

7. Построение градуировочного графика.

По данным табл. 2 строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс титр (T) раствора в мкг/мл в пересчете на никель, а по оси ординат – среднюю оптическую плотность эталонных растворов A . При соблюдении основного закона светопоглощения получают прямую линию, выходящую из начала координат.



8. Расчет молярного коэффициента погашения.

Среднее значение молярного коэффициента погашения $\bar{\varepsilon}$ диметилгли-оксимата никеля рассчитывают по данным табл. 2 по формуле:

$$\bar{\varepsilon} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} \varepsilon_i = \frac{1}{n} \sum \frac{A_i}{c_i \cdot l},$$

где A_i – оптическая плотность i -го эталонного раствора;

c_i – молярная концентрация i -го эталонного раствора, моль/л;

l – толщина поглощающего слоя, см;

n – число эталонных растворов.

Рассчитанное значение $\bar{\varepsilon}$ вносят в табл. 2.

$\bar{\varepsilon} =$

9. Определение массы никеля в анализируемом растворе соли никеля(II).

9.1. Приготовление анализируемого раствора соли никеля(II).

К полученной контрольной задаче в мерной колбе на 100 мл добавляют 2–3 капли концентрированной хлороводородной кислоты, 1,0 мл раствора йода, 1,0 мл раствора диметилглиоксима и 5,0 мл раствора натрия гидроксида. Полученный раствор разбавляют дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. Измеряют оптическую плотность приготовленного раствора $A(\text{Ni})$ в тех же условиях, что и для эталонных растворов.

$$A_x(\text{Ni}) =$$

9.2. Определение массы никеля в анализируемом растворе с помощью градуировочного графика.

По градуировочному графику находят титр анализируемого раствора $T(\text{Ni})$ в мкг/мл, соответствующий измеренной оптической плотности раствора, и рассчитывают массу никеля в мг в анализируемом растворе по формуле:

$$m(\text{Ni}) = T(\text{Ni})_{\text{мкг/мл}} \cdot V_{\text{к}}(\text{Ni})_{\text{мл}} \cdot 10^{-3}, \text{ мг},$$

где $V_{\text{к}}(\text{Ni})$ – объем анализируемого раствора, мл.

$$T(\text{Ni}) =$$

$$m(\text{Ni}) =$$

9.3. Определение массы никеля в анализируемом растворе по величине среднего молярного коэффициента погашения.

Расчет массы никеля в растворе в мг производят по формуле:

$$m(\text{Ni}) = c(\text{Ni}) \cdot M(\text{Ni}) \cdot V_{\text{к}}(\text{Ni}) \cdot 10^3, \text{ мг}$$

Из основного закона светопоглощения молярная концентрация ионов никеля равна:

$$c(\text{Ni}) = \frac{A}{\bar{\varepsilon} \cdot l}$$

Объединяем два последних выражения и получаем формулу для расчета массы никеля в анализируемом растворе в мг:

$$m(\text{Ni}) = \frac{A \cdot M(\text{Ni}) \cdot V_{\text{к}}(\text{Ni}) \cdot 10^3}{\bar{\varepsilon} \cdot l}$$

$$m(\text{Ni}) =$$

Контрольные вопросы

1. Как классифицируются оптические методы анализа по области используемого электромагнитного спектра?

2. Как классифицируются оптические методы анализа по природе энергетических переходов?

3. Что лежит в основе качественного анализа веществ методом спектрофотометрии?

4. На каком законе основан количественный фотометрический анализ и каковы условия его применения?

5. Перечислите причины кажущихся отклонений от основного закона светопоглощения.

6. Что характеризует средний молярный коэффициент погашения и от каких факторов он зависит?

7. Что такое фотометрическая реакция и в каких случаях она проводится?

8. Можно ли заменить кварцевые кюветы стеклянными при определении никеля с диметилглиоксимом в данной работе и почему?

9. Укажите интервал значений оптических плотностей раствора, при которых относительная систематическая ошибка фотометрического анализа минимальна.

10. В каких случаях применяется экстракционно-фотометрический анализ?

**Занятие 2. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИХРОМАТ- И ПЕРМАНГАНАТ-ИОНОВ
В РАСТВОРЕ ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ ПРИСУТСТВИИ**

Цель занятия: количественное определение содержания дихромат- и перманганат-ионов в растворе при их совместном присутствии в анализируемом растворе методом фотоэлектроколориметрии.

Целевые задачи:

1. Приготовление серии эталонных растворов калия дихромата.
2. Приготовление серии эталонных растворов калия перманганата.
3. Измерение оптической плотности растворов калия дихромата и калия перманганата.
4. Расчет значений молярных коэффициентов поглощения растворов калия дихромата и калия перманганата.
5. Построение градуировочных графиков для расчета концентрации определяемых ионов в растворе.
6. Расчет концентрации калия дихромата и калия перманганата в растворе по градуировочному графику и с использованием молярных коэффициентов поглощения.

Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

1. Сущность фотометрических методов анализа и их возможности.
2. Основной закон светопоглощения.
3. Физический смысл величины молярного коэффициента поглощения растворов и возможность его использования для определения массы веществ в анализируемых растворах.
4. Закон аддитивности оптической плотности и условия его применения.
5. Принципиальную оптическую схему фотоэлектроколориметра.

Сущность работы

Определение дихромат- и перманганат-ионов в растворе при их совместном присутствии основано на различии спектров поглощения определяемых компонентов и использовании закона *аддитивности* оптической плотности. Этот закон можно применять в данном случае потому, что дихромат- и перманганат-ионы не взаимодействуют между собой и для них выполняется закон Бугера-Ламберта-Беера в используемых в работе пределах концентраций ионов.

При длине волны 528 нм, соответствующей максимуму светопоглощения перманганат-ионов, светопоглощением дихромат-ионов можно пренебречь. При длине волны 350 нм, соответствующей максимуму светопоглощения дихромат-ионов, свет поглощают оба иона; оптическая плотность раствора при этой длине определяется концентрацией обоих компонентов.

Для определения содержания дихромат- и перманганат-ионов измеряют оптическую плотность анализируемого раствора на фотоэлектроколориметре (например, типа КФК-2) с двумя светофильтрами, имеющими максимумы светопропускания при 364 и 540 нм, что примерно соответствует максимумам поглощения дихромат- и перманганат-ионов.

Оптическая плотность анализируемого раствора при 540 нм определяется практически только присутствием перманганат-ионов, поэтому по измененному значению оптической плотности раствора при этой длине волны можно рассчитать концентрацию перманганат-ионов в исследуемом растворе. Зная концентрацию перманганат-ионов, можно рассчитать вклад этих ионов в оптическую плотность анализируемого раствора при 364 нм и на основе закона аддитивности оптической плотности можно рассчитать вклад в оптическую плотность раствора дихромат-ионов при этой длине волны и, следовательно, концентрацию дихромат-ионов в растворе.

Расчеты проводят с использованием градуировочного графика и значений средних молярных коэффициентов погашения определяемых ионов.

Средние молярные коэффициенты погашения исследуемых компонентов определяют экспериментально, измерив оптические плотности растворов калия дихромата только с одним светофильтром при 364 нм, а растворов калия перманганата – с двумя светофильтрами при 364 и 540 нм.

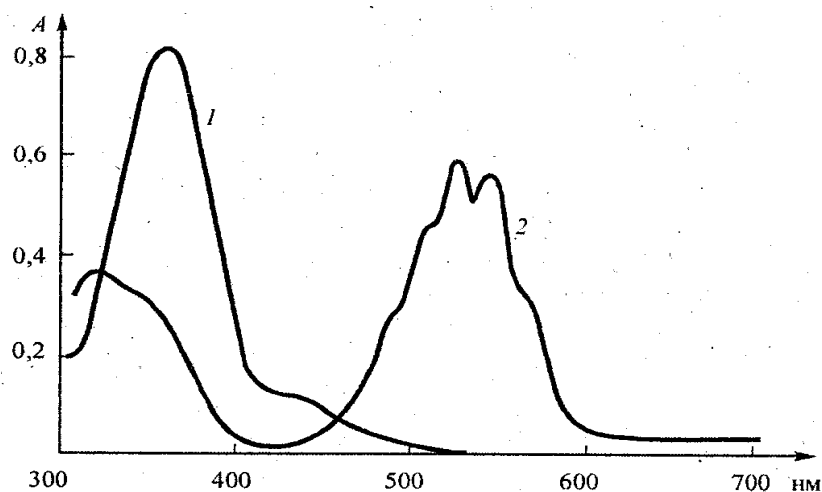


Рисунок 1. Спектры поглощения дихромат- и перманганат-ионов.

Методика работы

1. Приготовление эталонных растворов калия дихромата.

В пять мерных колб на 25 мл помещают из бюретки 2,5; 5; 7,5; 10 и 12,5 мл эталонного $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора калия дихромата, содержимое каждой колбы доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2. Приготовление эталонных растворов калия перманганата.

Серию эталонных растворов калия перманганата готовят аналогично путем разбавления эталонного $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора калия перманганата.

3. Измерение оптической плотности эталонных растворов калия дихромата и калия перманганата.

Оптическую плотность эталонных растворов измеряют в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

Оптическую плотность растворов калия дихромата измеряют с одним светофильтром с максимумом светопропускания при 364 нм.

Оптическую плотность растворов калия перманганата измеряют последовательно с двумя светофильтрами с максимумами светопропускания при 364 и 540 нм.

Рассчитывают молярные концентрации приготовленных эталонных растворов калия перманганата и калия дихромата по правилу разбавления по формуле (2.3).

Рассчитанные значения концентраций эталонных растворов и измеренные оптические плотности этих растворов заносят в табл. 3.

Таблица 3. Характеристики эталонных растворов калия перманганата и калия дихромата

Определяемый ион	№№ эталонного раствора	Концентрация иона, моль/л	364 нм			540 нм		
			A_i	ε_i	$\bar{\varepsilon}$ л/моль ⁻¹ см ⁻¹	A_i	ε_i	$\bar{\varepsilon}$ л/моль ⁻¹ см ⁻¹
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	1	$5,0 \cdot 10^{-5}$				—	—	—
	2	$1,0 \cdot 10^{-4}$				—	—	—
	3	$1,5 \cdot 10^{-4}$				—	—	—
	4	$2,0 \cdot 10^{-4}$				—	—	—
	5	$2,5 \cdot 10^{-4}$				—	—	—
MnO_4^-	1	$5,0 \cdot 10^{-5}$						
	2	$1,0 \cdot 10^{-4}$						
	3	$1,5 \cdot 10^{-4}$						
	4	$2,0 \cdot 10^{-4}$						
	5	$2,5 \cdot 10^{-4}$						

4. Расчет средних молярных коэффициентов погашения.

По данным табл. 3 рассчитывают значения $\bar{\varepsilon}_\lambda$ средних молярных коэффициентов погашения перманганат-ионов при 364 и 540 нм, а дихромат-ионов – только при 364 нм по формуле:

$$\bar{\varepsilon}_\lambda = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} \varepsilon_i = \frac{1}{n} \sum \frac{A_i}{c_i \cdot l},$$

где ε_i – молярный коэффициент погашения для i -того эталонного раствора

этого иона при длине волны λ ;

A_i – оптическая плотность i -го эталонного раствора при длине волны λ ;

c_i – концентрация i -го эталонного раствора, моль/л,

l – толщина кюветы, см,

n – число эталонных растворов.

$$\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{364} =$$

$$\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540} =$$

$$\bar{\varepsilon}(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364} =$$

Полученные значения молярных коэффициентов погашения растворов перманганат-ионов и дихромат-ионов при соответствующих длинах волн вносят в табл. 3.

5. Измерение оптической плотности анализируемого раствора, содержащего калия дихромат и калия перманганат.

Контрольную задачу, содержащую смесь калия дихромата и калия перманганата, получают в мерной колбе на 25 мл, разбавляют водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность приготовленного раствора на фотоэлектроколориметре с двумя светофильтрами 364 и 540 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см относительно воды. Каждое измерение проводят два раза и записывают средние значения оптических плотностей анализируемых растворов при соответствующих длинах волн.

$$A(X)_{540} =$$

$$A(X)_{364} =$$

6. Расчет концентрации дихромат- и перманганат-ионов в анализируемом растворе с использованием молярных коэффициентов поглощения.

Молярную концентрацию перманганат-ионов в анализируемом растворе рассчитывают на основе основного закона светопоглощения по известной величине оптической плотности анализируемого раствора при 540 нм по формуле:

$$c(\text{MnO}_4^-) = \frac{A(X)_{540}}{\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540} \cdot l},$$

где $A(X)_{540}$ – средняя оптическая плотность анализируемого раствора при 540 нм;

$\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540}$ – среднее значение молярного коэффициента поглощения раствора калия перманганата при 540 нм.

Согласно закону аддитивности оптическая плотность $\bar{A}(X)_{364}$ анализируемого раствора при 364 нм равна:

$$A(X)_{364} = A(\text{MnO}_4^-)_{364} + A(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364} = \\ = c(\text{MnO}_4^-) \cdot \bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{364} \cdot l + c(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) \cdot \bar{\varepsilon}(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364} \cdot l$$

Подставляя в это выражение значение концентрации перманганат-ионов в анализируемом растворе, получаем:

$$A(X)_{364} = \frac{A(X)_{540}}{\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540} \cdot l} \cdot \bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{364} \cdot l + c(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) \cdot \bar{\varepsilon}(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364} \cdot l$$

Отсюда концентрация дихромат-ионов в анализируемом растворе равна:

$$c(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) = \frac{A(X)_{364} \cdot \bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540} - A(X)_{540} \cdot \bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{364}}{\bar{\varepsilon}(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364} \cdot \bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540} \cdot l},$$

где $A(X)_{364}$ – средняя оптическая плотность анализируемого раствора при 364 нм;

$\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{364}$ – среднее значение молярного коэффициента погашения перманганат-ионов при 364 нм;

$\bar{\varepsilon}(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364}$ – среднее значение молярного коэффициента погашения дихромат-ионов при 364 нм.

Расчеты

$$c(\text{MnO}_4^-) =$$

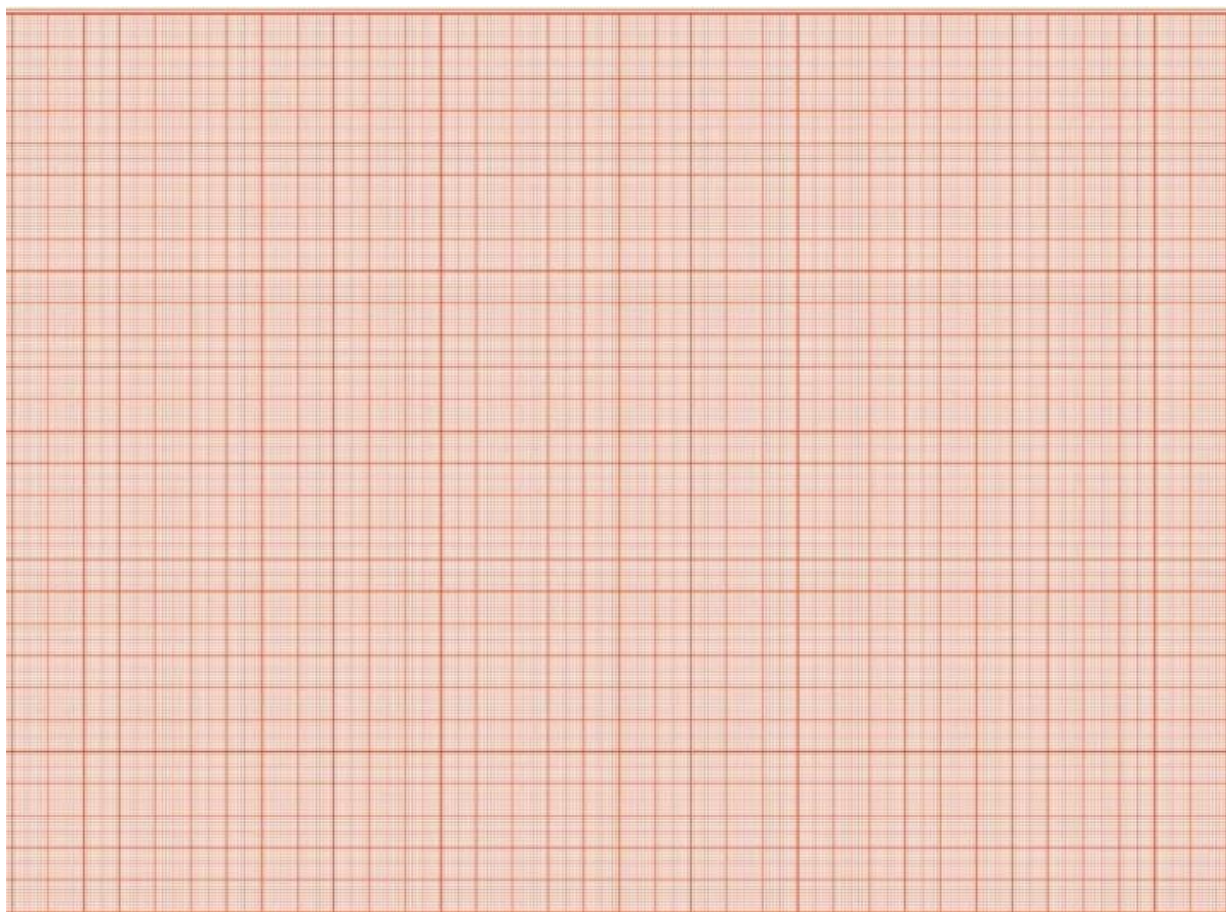
$$c(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) =$$

7. Определение концентрации дихромат- и перманганат-ионов в анализируемом растворе методом градуировочного графика.

7.1. Построение градуировочных графиков.

По данным табл. 3 строят градуировочные графики зависимости оптических плотностей эталонных растворов от концентрации для перманганат-ионов при 540 (график 1) и 364 нм (график 2) и для дихромат-ионов при 364 нм (график 3). По оси абсцисс откладывают молярные концентрации определяемых ионов в эталонных растворах (C , моль/л), а по оси ординат – соответствующие значения оптических плотностей (A).

При соблюдении закона Бугера-Ламберта-Беера получают прямые, исходящие из начала координат.



7.2. Расчет концентрации дихромат- и перманганат-ионов в анализируемом растворе.

Расчет концентраций ведут следующим образом.

А. По значению оптической плотности анализируемого раствора при 540 нм с использованием графика 1 находят концентрацию перманганат-ионов в растворе.

Б. По графику 2 определяют значение оптической плотности анализируемого раствора при 364 нм, создаваемой за счет присутствия перманганат-ионов в этом растворе (концентрация этих ионов определена по графику 1).

$$A(\text{MnO}_4^-)_{364} =$$

В. Из оптической плотности анализируемого раствора при 364 нм вычитают оптическую плотность, создаваемую перманганат-ионами при той же длине волны, и получают оптическую плотность, обусловленную присутствием дихромат-ионов в этом растворе:

$$A(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})_{364} = A(X)_{364} - A(\text{MnO}_4^-)_{364} =$$

Г. По найденной величине оптической плотности с помощью графика 3 находят молярную концентрацию дихромат-ионов в анализируемом растворе.

$$c(\text{MnO}_4^-) =$$

$$c(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) =$$

Контрольные вопросы

1. Сформулируйте закон аддитивности оптической плотности.

2. Почему концентрации перманганат-ионов и дихромат-ионов при их совместном присутствии в анализируемом растворе можно определять на основе закона аддитивности оптической плотности?

3. Почему концентрацию перманганат-ионов в анализируемом растворе можно определить по значению оптической плотности этого раствора при 540 нм?

4. Чем характеризуется чувствительность фотометрического анализа?

5. Назовите основные блоки фотоэлектроколориметра.

6. Чем отличается фотоэлектроколориметр от спектрофотометра?

**Занятие 3. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ПЕРМАНГАНАТ-ИОНОВ
В РАСТВОРЕ**

Цель занятия: количественное определение содержания перманганат-ионов в растворе методом фотоэлектроколориметрии.

Целевые задачи:

1. Приготовление серии эталонных растворов калия перманганата.
2. Измерение оптической плотности растворов калия перманганата.
3. Расчет значений молярных коэффициентов поглощения растворов калия перманганата.
4. Построение градуировочного графика для расчета концентрации калия перманганата в анализируемом растворе.
5. Расчет концентрации калия перманганата в анализируемом растворе по градуировочному графику и с использованием молярного коэффициента поглощения.

Сущность работы

В основе фотометрического определения концентрации перманганат-ионов в растворе лежит линейная зависимость оптической плотности раствора от концентрации перманганат-ионов.

Водные растворы калия перманганата ($\text{pH} < 1$) имеют максимум светопоглощения при 528 нм и характеризуются большим значением молярного коэффициента поглощения при этой длине волны.

Оптическую плотность растворов измеряют со светофильтром, имеющим максимум светопропускания в области 540 нм, что примерно соответствует максимуму светопоглощения перманганат-ионов. Выполнение закона Бугера-Ламберта-Беера наблюдается для растворов перманганат-ионов с концентрацией от $4 \cdot 10^{-5}$ до $3,6 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Концентрацию перманганат-ионов в исследуемом растворе находят двумя способами: методом градуировочного графика и с помощью среднего молярного коэффициента погашения, который определяют экспериментально.

Методика работы

1. Приготовление эталонных растворов калия перманганата.

В пять мерных колб на 25 мл помещают из бюретки соответственно 2,0; 6,0; 10,0; 14,0 и 18,0 мл эталонного $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора калия перманганата, содержимое каждой колбы доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2. Измерение оптической плотности эталонных растворов калия перманганата.

Оптическую плотность эталонных растворов измеряют на фотоэлектроколориметре (например, типа КФК-2) со светофильтром с максимумом светопропускания при 540 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения воду.

Рассчитывают молярные концентрации приготовленных эталонных растворов калия перманганата по правилу разбавления.

Рассчитанные значения концентраций эталонных растворов и измеренные оптические плотности этих растворов вносят в табл. 4.

Таблица 4. Характеристики эталонных растворов калия перманганата

№№ эталонного раствора	Концентрация иона, моль/л	Оптическая плотность, A_i	ϵ_i л/моль ⁻¹ см ⁻¹	$\bar{\epsilon}_{540}$ л/моль ⁻¹ см ⁻¹
1	$4,0 \cdot 10^{-5}$			
2	$1,2 \cdot 10^{-4}$			
3	$2,0 \cdot 10^{-4}$			
4	$2,8 \cdot 10^{-4}$			
5	$3,6 \cdot 10^{-4}$			

3. Вычисление среднего молярного коэффициента погашения раствора калия перманганата.

По данным табл. 4 рассчитывают значение $\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540}$ среднего молярного коэффициента погашения раствора калия перманганата при длине волны 540 нм по формуле:

$$\bar{\varepsilon}_{540} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} \varepsilon_i = \frac{1}{n} \sum \frac{A_i}{c_i \cdot l},$$

где ε_i – молярный коэффициент погашения для i -го эталонного раствора калия перманганата;

A_i – оптическая плотность i -го эталонного раствора;

c_i – концентрация i -го эталонного раствора, моль/л,

l – толщина кюветы, см,

n – число эталонных растворов.

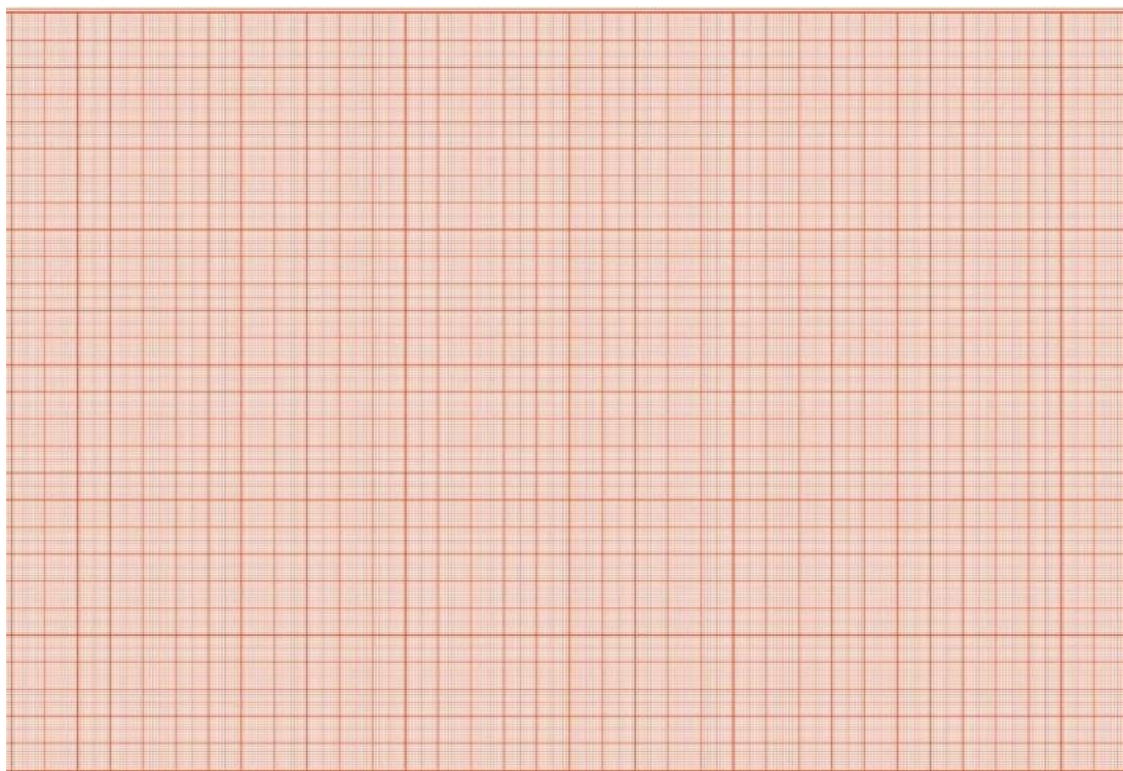
Полученные значения молярных коэффициентов погашения растворов калия перманганата вносят в табл. 4.

$$\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540} =$$

4. Построение градуировочного графика.

По данным табл. 4 строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс молярные концентрации перманганат-ионов в эталонных растворах (C , моль/л), а по оси ординат – соответствующие им значения оптических плотностей этих растворов (A).

При соблюдении закона Бугера-Ламберта-Беера получают прямую, исходящую из начала координат.



5. Измерение оптической плотности анализируемого раствора калия перманганата.

Контрольную задачу (анализируемый раствор калия перманганата) в мерной колбе на 25 мл доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность приготовленного раствора при 540 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см относительно воды.

$$A_x(\text{MnO}_4^-)_{540} =$$

6. Определение концентрации перманганат-ионов в анализируемом растворе с использованием среднего молярного коэффициента поглощения.

Молярную концентрацию перманганат-ионов в анализируемом растворе рассчитывают на основе закона Бугера-Ламберта-Бееера по формуле:

$$c(\text{MnO}_4^-) = \frac{A(\text{MnO}_4^-)_{540}}{\varepsilon(\text{MnO}_4^-)_{540} \cdot l},$$

где $A(\text{MnO}_4^-)_{540}$ – средняя оптическая плотность анализируемого раствора при 540 нм;

$\bar{\varepsilon}(\text{MnO}_4^-)_{540}$ – среднее значение молярного коэффициента погашения раствора калия перманганата при 540 нм.

$$c_{\text{расч}}(\text{MnO}_4^-) =$$

7. Определение концентрации перманганат-ионов в анализируемом растворе методом градуировочного графика.

Молярную концентрацию перманганат-ионов в анализируемом растворе находят также по градуировочному графику.

$$c_{\text{граф}}(\text{MnO}_4^-) =$$

Контрольные вопросы

1. Как практически определить и рассчитать значение молярного коэффициента погашения раствора анализируемого вещества?

2. Как рассчитать концентрацию перманганат-ионов в анализируемом растворе с использованием молярного коэффициента погашения калия перманганата?

3. Как рассчитать концентрации перманганат-ионов в анализируемом растворе с использованием градуировочного графика?

Общая характеристика флуориметрических методов анализа

Люминесценция – это свечение вещества, вызванное действием на него различных видов энергии.

Флуоресценция – свечение вещества, которое сразу заканчивается после прекращения действия источника возбуждения. В аналитической химии наиболее часто используется флуоресценция, возбуждаемая энергией излучения в УФ или видимой части спектра.

В основе качественного люминесцентного метода анализа лежит зависимость характера свечения от природы люминесцирующего вещества. В основе количественного люминесцентного метода анализа лежит зависимость интенсивности люминесценции (свечения, вторичной эмиссии) от концентрации анализируемого вещества в растворе.

В определенном интервале концентраций флуоресцирующего вещества и при постоянных условиях эксперимента интенсивность люминесценции линейно зависит от концентрации этого вещества в растворе:

$$I_{\text{lm}}(X) = k \cdot c(X),$$

где $I_{\text{lm}}(X)$ – интенсивность люминесценции раствора анализируемого вещества X ;

k – коэффициент пропорциональности, который при проведении эксперимента на данном приборе и неизменных условиях является величиной постоянной;

$c(X)$ – концентрация вещества в анализируемом растворе; измеряется обычно в мкг/мл.

Флуориметрия применяется в фармакопейном анализе, например, при контроле качества фолиевой кислоты, хинина гидрохлорида, резерпина, тиамина хлорида и бромиды, рибофлавина и др.

1. Способы определения концентрации вещества в растворе.

Концентрацию вещества в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику или рассчитывают методом одного стандарта (см. тему «Фотометрические методы анализа»).

2. Выбор оптимальных условий проведения флуоресцентного анализа.

Метод флуоресцентного анализа позволяет количественно определять не только вещества, способные к собственному свечению, но и ряд веществ, которые не способны к флуоресценции. Многие органические вещества обладают собственной флуоресценцией и могут быть количественно определены путём измерения интенсивности флуоресценции непосредственно анализируемых растворов.

При определении неорганических веществ, большинство из которых не обладает собственной флуоресценцией, предварительно проводят аналитические реакции, в результате которых образуются способные к флуоресценции комплексные соединения. В том случае, когда в результате такой реакции образуется малорастворимое в воде комплексное соединение, его экстрагируют из водной фазы органическим растворителем.

При анализе раствора, в котором присутствуют мешающие анализу примеси, проводят аналитическую реакцию с определяемым ионом и образующийся комплекс экстрагируют из водной фазы в органическую фазу. Мешающие ионы остаются в водной фазе.

Полученный экстракт определяемого вещества, существующего в составе флуоресцирующего комплекса, анализируют далее обычным образом.

3. Принципиальная схема аппаратуры для флуоресцентного анализа.

Для проведения флуоресцентного анализа используют различные электрофлуориметры, принципиальная схема которых приведена на рисунке.

Излучение от источника (1) проходит через отверстие в диафрагме (2), первичный светофильтр (3), кварцевую линзу (4) и попадает в анализируемый раствор в пробирке (5). Флуоресцентное излучение раствора собирается кварцевыми линзами (6), проходит через вторичные светофильтры (7) и попадает на фотоэлементы (8). Фотоэлемент преобразует световую энергию в электрический ток, который усиливается и регистрируется микроамперметром. Показания микроамперметра прямо пропорциональны интенсивности флуоресцентного излучения и концентрации флуоресцирующего вещества в растворе.

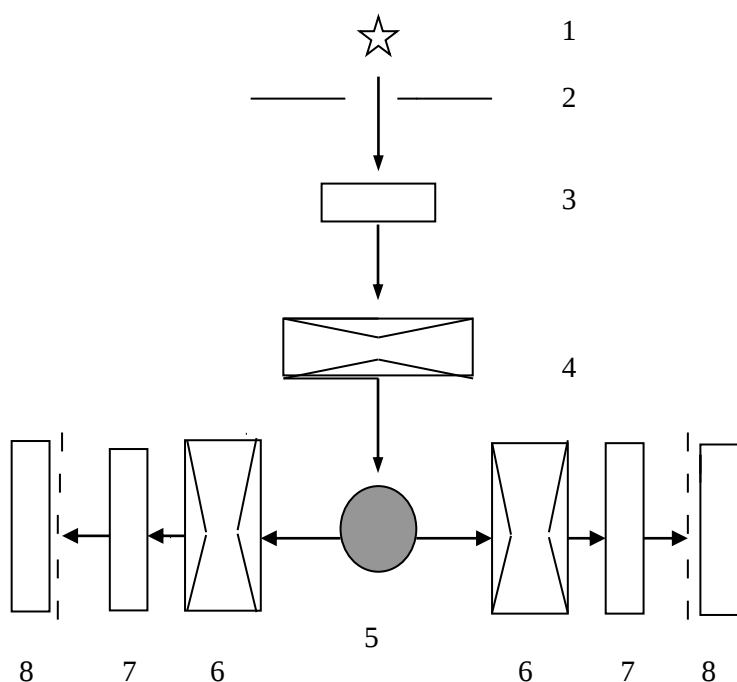


Рисунок 2. Оптическая схема прибора.

Лабораторная работа № 4

Занятие 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РИБОФЛАВИНА (ВИТАМИНА В₂) В РАСТВОРЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДАМ АНАЛИЗА

Цель занятия: количественное определение содержания рибофлавина (витамина В₂) методом флуоресцентного анализа.

Целевые задачи:

1. Приготовление серии эталонных растворов рибофлавина.
2. Освоение техники работы на флуориметре.
3. Построение градуировочного графика для определения концентрации рибофлавина в растворе.
4. Расчет содержания рибофлавина в растворе по градуировочному графику и методом одного стандарта.

Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

1. Сущность люминесцентного анализа и его возможности.
2. Классификация люминесцентных методов анализа по видам возбуждающей энергии.
3. Природу люминесцентного излучения, законы Стокса-Ломмеля, Вавилова.
4. Зависимость интенсивности флуоресценции от различных факторов.
5. Принципы использования явления флуоресценции для качественного и количественного анализа.
6. Оптическую схему флуориметра.

Сущность работы

Нейтральный раствор рибофлавина в водных растворах окрашен в желтый цвет и имеет максимум поглощения при 450 нм. Рибофлавин флуоресцирует желто-зеленым светом с максимумом излучения при 535 нм. Количественное определение основано на линейной зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации рибофлавина в растворе, которая хорошо соблюдается до концентрации рибофлавина 0,4 мкг/мл.

Работу выполняют на анализаторе жидкостного типа ФЛЮОРАТ 02-2М. Источник возбуждения – ксеноновая лампа.

Методика работы

1. Приготовление раствора Б.

В лаборантской получают эталонный раствор рибофлавина с концентрацией 8 мкг/мл (раствор А).

В мерную колбу на 100 мл при помощи мерной пипетки вносят 5 мл стандартного раствора А рибофлавина, разбавляют до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Приготовленным раствором Б заполняют бюретку на 25 мл.

Рассчитывают концентрацию рибофлавина в полученном растворе Б.

2. Приготовление серии эталонных растворов.

Готовят 5 эталонных растворов рибофлавина: в мерные колбы на 25 мл вносят последовательно 5, 10, 15, 20, 25 мл раствора Б, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Рассчитывают концентрации рибофлавина в приготовленных растворах и полученные данные заносят в табл. 5.

Таблица 5. Приготовление эталонных растворов рибофлавина

№ колбы	Объем раствора Б, мл	Концентрация полученного раствора, мкг/мл	Показание прибора I_{lm}
1	5		
2	10		
3	15		
4	20		
5 (р-р Б)	25		

3. Подготовка прибора к работе.

1. Подключить прибор в электросети.
2. Включить кнопку «сеть».
3. Прогреть прибор в течение 30 минут.
4. Вставить выбранные светофильтры в соответствующие гнезда в кюветном отделении.

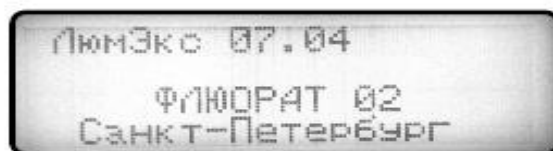
4. Выбора светофильтров.

Светофильтр канала возбуждения должен пропускать часть спектра, соответствующую длине волны, при которой наблюдается максимум поглощения излучения. Нейтральный раствор рибофлавина в воде имеет желтую окраску и поглощает синюю часть спектра, поэтому первичный светофильтр синего цвета **B2-1**. Светофильтр канала регистрации должен пропускать ту часть спектра, соответствующую длине волны, в которой наблюдается максимум интенсивности излучения. Нейтральный раствор рибофлавина в воде флуоресцирует желто-зеленым светом, поэтому в работе используют вторичный светофильтр желто-зеленого цвета **B2-2**.

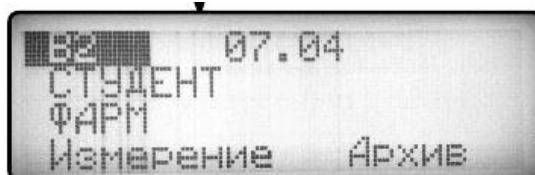
5. Проведение измерений интенсивности излучения эталонных растворов.

Инструкция по проведению измерений на анализаторе жидкостного типа ФЛЮОРАТ 02-2М.

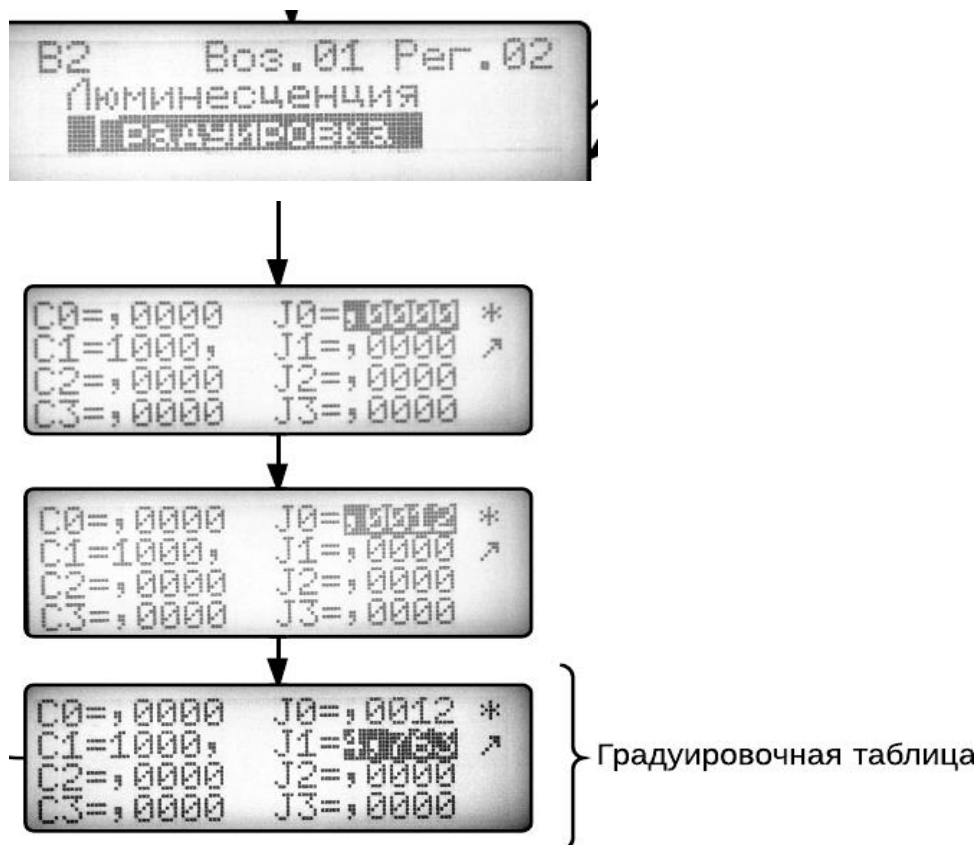
После включения и прогрева прибора на экране дисплея появится следующее изображение:



Шаг 1. Нажимая кнопку ENT переходим в *основное меню*, на котором уже введено анализируемое вещество **B2**.



Шаг 2. Нажимая кнопку ENT переходим в меню *выбор метода*, стрелками устанавливаем курсор на пункт *градуировка*, опять нажимаем ENT, переходим в меню *градуировочная таблица*.



Шаг 3. Начинаем градуировку с измерения фонового раствора:

- в кюветное отделение помещаем кювету с дистиллированной водой;
- устанавливаем курсор в градуировочной таблице на строчку C0;
- нажимаем ENT. Дожидаемся окончания звукового сигнала измерения.

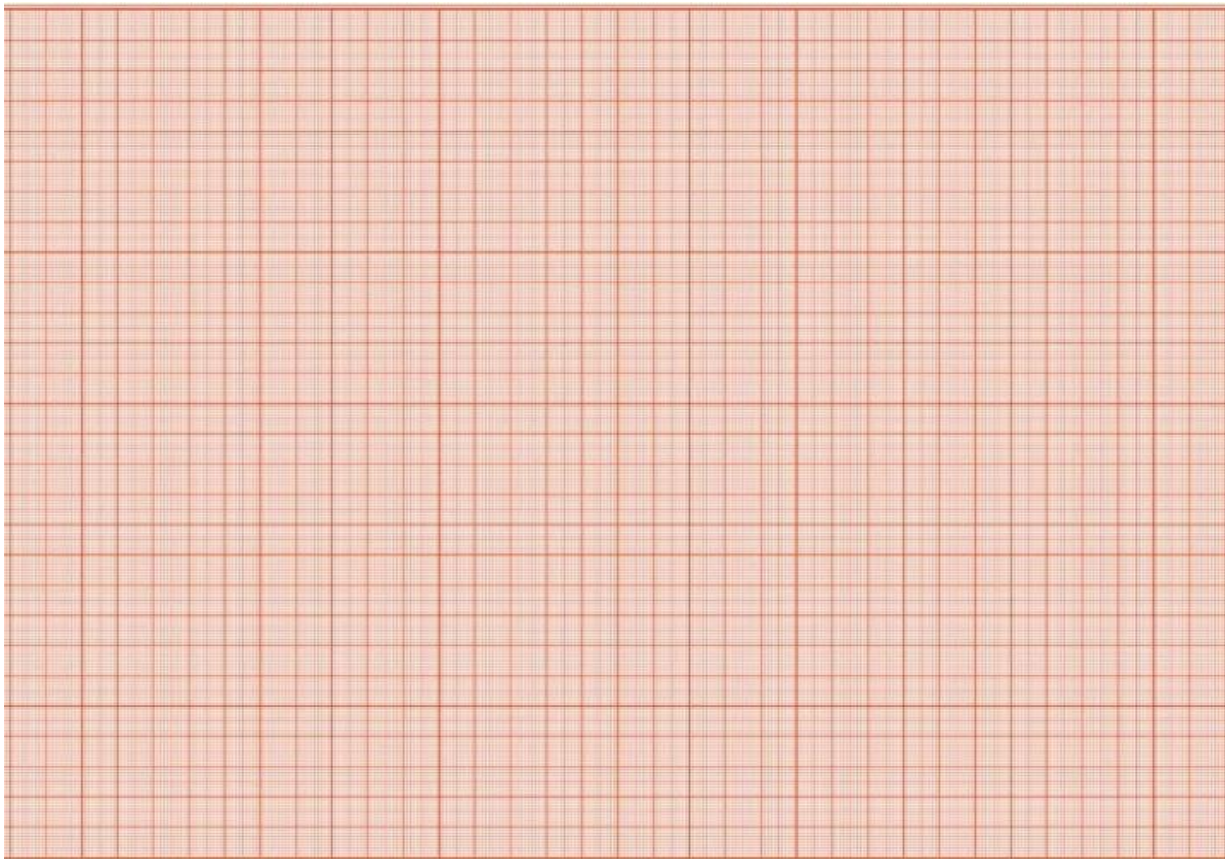
Шаг 4. Помещаем в кюветное отделение кювету с градуировочным раствором 1.

Устанавливаем курсор в градуировочной таблице на строчку C1 и с клавиатуры вводим значение концентрации градуировочного раствора 1, нажимаем ENT. Дожидаемся окончания звукового сигнала измерения. На дисплее высвечивается значение интенсивности излучения I_{lm1} раствора 1 (в условных приборных единицах).

Шаг 5 Аналогичным образом проводим измерение всех градуировочных растворов. Полученные данные заносим в табл. 5.

6. Построение градуировочного графика.

По данным табл. 5 строят на миллиметровой бумаге градуировочный график в координатах “интенсивность флуоресценции I_{lm} – концентрация рибофлавина в растворе C , мкг/мл”.



7. Определение содержания рибофлавина в растворе с неизвестной концентрацией.

Раствор с неизвестной концентрацией рибофлавина (задачу) получают от преподавателя в мерной колбе на 25 мл, доводят дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают.

Кювету с анализируемым раствором помещают в кюветное отделение.

Нажатием кнопки ESC возвращаемся в **основное меню**, перемещаем курсор на строку **измерение**, нажимаем ENT. Дожидаемся окончания звукового сигнала измерения. На дисплее высвечивается значение концентрации анализируемого раствора. По полученным значениям концентраций рассчитывают массу рибофлавина в задаче в мкг.



$C(\text{рибофл}) =$

$m(\text{рибофл}) =$

8. Определение содержания рибофлавина в растворе по градуировочному графику и методом одного стандарта.

От преподавателя студенты получают произвольные значения интенсивности флуоресценции $I_{\text{лм}}(x)$ рибофлавина. По полученным значениям определяют концентрацию рибофлавина двумя способами: по градуировочному графику и методом одного стандарта с использованием данных табл. 5. При этом в качестве стандарта выбирают эталонный раствор с наиболее близким к анализируемому раствору значением интенсивности флуоресценции. Полученные данные заносят в табл. 6.

$I_{\text{лм}} x_1 =$

$I_{\text{лм}} x_2 =$

Таблица 6.

Содержание рибофлавина, определенное по градуировочному графику		Содержание рибофлавина, определенное методом одного стандарта	
$C_{x1} =$	$m_{x1} =$	$C_{x1} =$	$m_{x1} =$
$C_{x2} =$	$m_{x2} =$	$C_{x2} =$	$m_{x2} =$

Контрольные вопросы

1. Что такое «стоксово смещение», в чем оно выражается?

2. Что такое «энергетический выход люминесценции» и что он характеризует?

3. Что такое «квантовый выход люминесценции» и что он характеризует?

4. Сформулируйте закон Стокса-Ломмеля.

5. Сформулируйте правило Левшина.

6. Сформулируйте закон Вавилова.

7. Что такое «концентрационное тушение флуоресценции» и чем оно объясняется?

8. Что такое «температурное тушение флуоресценции»?

9. Сформулируйте принцип выбора первичных и вторичных светофильтров.

10. Что такое флуоресцентные реакции, и в каких случаях при проведении флуориметрического анализа они проводятся?

РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ

Примеры

1. *Расчет удельного коэффициента погашения по молярному коэффициенту погашения.* Молярный коэффициент погашения ε комплекса алюминия с органическим реагентом алюминоном в водном растворе при $\text{pH} = 4,5$ в пересчете на катионы алюминия Al^{3+} равен $11000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при длине волны $\lambda = 525 \text{ нм}$. Вычислите удельный коэффициент погашения E в пересчете на катионы алюминия.

Решение

Молярный и удельный коэффициенты погашения связаны соотношениями:

$$E = \frac{10\varepsilon}{M}, \quad \varepsilon = \frac{ME}{10}$$

где M – молярная масса светопоглощающей частицы, в данном случае – катионов алюминия Al^{3+} , так как по условию требуется вычислить удельный коэффициент погашения светопоглощающего комплекса в пересчете на катионы алюминия, а не на комплекс в целом. Поскольку $M = 26,9815$, то:

$$E = \frac{10 \cdot 11000}{26,9815} \approx 4077$$

2. *Расчет среднего молярного коэффициента погашения.* Рассчитайте средний молярный коэффициент погашения ε для кислых водных растворов перманганата калия KMnO_4 при длине волны $\lambda = 528 \text{ нм}$ по следующим значениям молярной концентрации c и оптической плотности A растворов ($l = 1 \text{ см}$):

$c, \text{ моль/л}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-4}$	$3,0 \cdot 10^{-4}$	$3,5 \cdot 10^{-4}$
A	0,24	0,36	0,48	0,60	0,72	0,84

Решение

В соответствии с основным законом светопоглощения средний молярный коэффициент погашения рассчитывается по формуле (5.8):

$$\bar{\varepsilon} = \frac{1}{nl} \sum_i \frac{A_i}{c_i}$$

В рассматриваемом случае $n = 6$, $l = 1$ см, $i = 1; 2; \dots; 6$. Следовательно:

$$\bar{\varepsilon} = \frac{1}{6 \cdot 1 \cdot 10^{-4}} \left(\frac{0,24}{1} + \frac{0,36}{1,5} + \frac{0,48}{2,0} + \frac{0,60}{2,5} + \frac{0,72}{3,0} + \frac{0,84}{3,5} \right) = 2400 \text{ л} \cdot \text{моль/л} \cdot \text{см}^{-1}$$

3. Расчеты по методу одного стандарта (стандартного образца).

Из навески массой 0,2500 г порошка растертых таблеток препарата метандростенолона (декларируемое содержание метандростенолона в одной таблетке составляет 0,9–1,1 мг) приготовили сернокислый раствор объемом $V(X) = 25$ мл и измерили его оптическую плотность $A(X)$. Параллельно измерили в той же кювете оптическую плотность $A(\text{ст})$ сернокислого стандартного раствора чистого метандростенолона с концентрацией 0,0001 г/мл.

Рассчитайте содержание метандростенолона в миллиграммах в одной таблетке, если масса таблетки составляет 0,1000 г, а найденное отношение оптических плотностей $A(X)/A(\text{ст}) = 0,9980$. Отвечает ли рассчитанное содержание метандростенолона декларируемому?

Решение

В соответствии с основным законом светопоглощения можно записать для измеряемого и стандартного растворов:

$$A(X) = \varepsilon c(X) l, \quad A(\text{ст}) = \varepsilon c(\text{ст}) l,$$

где $c(X)$ и $c(\text{ст})$ – молярная концентрация измеряемого и стандартного растворов соответственно.

Разделив левые и правые части этих двух уравнений друг на друга, получаем:

$$\frac{A(X)}{A(\text{ст})} = \frac{c(X)}{c(\text{ст})} \quad \text{и} \quad c(X) = \frac{A(X)}{A(\text{ст})} c(\text{ст})$$

Молярная концентрация стандартного раствора, очевидно, равна:

$$c(\text{ст}) = \frac{0,0001 \cdot 10^3}{M(X)} = \frac{0,1}{M(X)} \text{ моль/л,}$$

где $M(X)$ – молярная масса метандростенолона.

Рассчитаем массу $m(X)$ метандростенолона в исходном анализируемом растворе объемом $V(X) = 25 \text{ мл} = 0,025 \text{ л}$:

$$m(X) = c(X) M(X) V(X),$$

$$m(X) = \frac{A(X)}{A(\text{ст})} \cdot \frac{0,1}{M(X)} \cdot M(X) \cdot 0,025 = 0,0025 \frac{A(X)}{A(\text{ст})}$$

Вычислим теперь массу m метандростенолона, приходящуюся на одну таблетку. Количество растертых таблеток равно:

$$n = 0,2500 : 0,1000 = 2,5$$

Следовательно:

$$m = \frac{m(X)}{n} = \frac{0,0025}{2,5} \cdot \frac{A(X)}{A(\text{ст})} = \frac{0,0025}{2,5} \cdot 0,9980 = 0,000998 \text{ г} \approx 1 \text{ мг}$$

Рассчитанное содержание метандростенолона на одну таблетку соответствует декларируемому содержанию.

4. Расчет результатов флуориметрического определения. Для флуориметрического определения рибофлавина (витамина В₂) в анализируемом водном растворе объемом 100 мл приготовили 10 эталонных растворов с различной концентрацией c , измерили интенсивность I (в условных единицах) их флуоресценции (максимум в спектре поглощения раствора рибофлавина лежит при 450 нм, максимум в спектре флуоресценции – при 535 нм) и получили следующие результаты:

c , мкг/мл	I	c , мкг/мл	I	c , мкг/мл	I
0,40	90	0,24	54	0,08	18
0,36	81	0,20	45	0,04	9
0,32	72	0,16	36		
0,28	63	0,12	27		

В тех же условиях измерили интенсивность I_x флуоресценции анализируемого раствора и нашли $I_x = 52$.

Определите содержание c_x (в мкг/мл) и массу m рибофлавина в анализируемом растворе по градуировочному графику и методом одного стандарта.

Решение

А. Метод градуировочного графика. По данным, полученным для эталонных растворов, построим градуировочный график, откладывая по оси абсцисс содержание рибофлавина в растворе (в мкг/мл), а по оси ординат – интенсивность флуоресценции в условных единицах (показания по шкале измерительного прибора).

Градуировочный график представлен на рис. 3. С использованием этого графика по найденному значению $I_x = 52$ находим $c_x = 0,23$ мкг/мл.

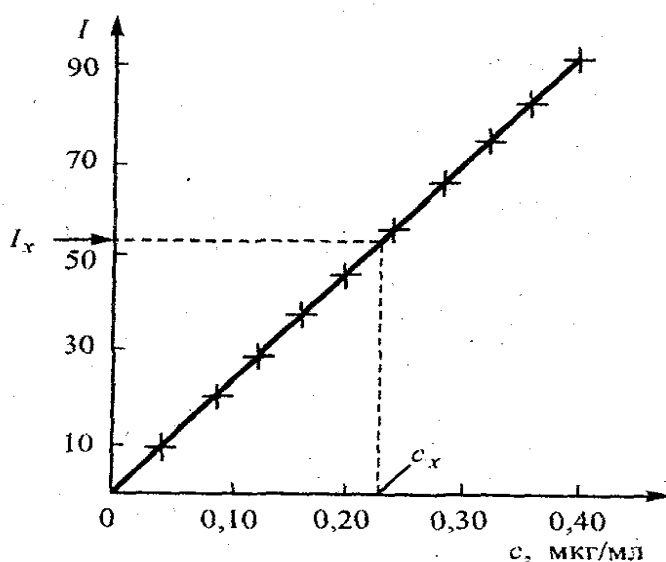


Рисунок 3. Градуировочный график для определения содержания рибофлавина в растворе флуориметрическим методом:
 c – содержание рибофлавина в растворе; I – интенсивность флуоресценции.

Б. Метод одного стандарта. Значение интенсивности эталонного раствора, наиболее близкое к интенсивности анализируемого раствора, составляет $I = 54$ при содержании рибофлавина $c = 0,24$ мкг/мл. Этот раствор принимаем за стандартный. Тогда:

$$I = k c, \quad I_x = k c_x$$

Отсюда:

$$c_x = \frac{I_x}{I} c = \frac{52}{54} \cdot 0,24 = 0,23 \text{ мкг/мл}$$

Масса m рибофлавина в анализируемом растворе равна:

$$m = 100 c_x = 100 \cdot 0,23 = 23 \text{ мкг.}$$

ЗАДАЧИ

1. Оптическая плотность раствора при некоторой длине волны найдена равной $A = 0,562$. Рассчитайте пропускание T того же раствора в процентах. (Ответ: 27,41%)
2. Пропускание раствора при некоторой длине волны найдено равным $T = 50,85\%$. Вычислите оптическую плотность того же раствора. (Ответ: 0,294)
3. Из жидкого препарата – раствора платифиллина гидротартрата для инъекций объемом 1 мл экстрагировали платиллина гидротартрат хлороформом общим объемом 50 мл и измерили оптическую плотность $A(X)$ хлороформного экстракта. В той же кювете и при той же длине волны измерили оптическую плотность $A(ст)$ раствора, полученного разбавлением в 50 раз стандартного раствора платифиллина гидротартрата. Отношение оптических плотностей нашли равным $A(X) / A(ст) = 0,995$.

Рассчитайте содержание платифиллина гидротартрата в миллиграммах в 1 мл жидкого препарата, если 1 мл стандартного раствора содержит 0,0020 г чистого платифиллина гидротартрата. (*Ответ: 2 мг*)

4. Определение свинца(II) проводят спектрофотометрически с дитизоном в хлороформе при длине волны 520 нм и толщине кюветы 1 см. Определите удельный коэффициент поглощения (в пересчете на катион металла, $M = 207,2$ г/моль): $C(Pb^{2+}) = 2,072$ мкг/мл, $A = 0,660$. (*Ответ: 3185*)

5. Интенсивность излучения анализируемого раствора рибофлавина равна 45. Рассчитайте концентрацию этого раствора (в мкг/100 мл), если интенсивность излучения стандартного раствора рибофлавина, имеющего концентрацию 0,050 мкг/мл, равна 50. (*Ответ: 4,5 мкг/100 мл*)

ТЕМА II.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Хроматография – область науки, изучающая процессы, основанные на перемещении зоны вещества вдоль слоя сорбента в потоке подвижной фазы и связанные с многократным повторением сорбционных и десорбционных актов.

В любом варианте хроматографических методов используют сочетание *неподвижной (стационарной)* фазы (НФ) и *подвижной* фазы (ПФ). Подвижная фаза (газ, жидкость) в процессе хроматографирования непрерывно перемещается вдоль неподвижной фазы (твёрдое тело, жидкость), так что частицы хроматографируемых веществ, переносимые вместе с ПФ, могут многократно переходить из ПФ в НФ и обратно. Разделение веществ основано на их различном сродстве к ПФ и НФ. Различие в сродстве приводит к различию в скоростях движения частиц разделяемых веществ с ПФ и в конце концов к их разделению.

ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ (ТСХ).

Общая характеристика метода

Тонкослойная хроматография (ТСХ) занимает одно из ведущих мест в качественном и полуколичественном анализе сложных природных, фармацевтических, медикобиологических и химических объектов. ТСХ – один из наиболее распространённых методов адсорбционной хроматографии, в котором адсорбент используют в виде тонкого слоя на пластинке.

Принцип и основные понятия метода ТСХ

На чистую плоскую поверхность (пластинку из стекла, металла, пластмассы) тем или иным способом наносят тонкий слой сорбента, который чаще всего закрепляется на поверхности пластинки. Размеры пластинки могут быть различными (длина и ширина – от 5 до 50 см, хотя это и не обязательно

но). На поверхности пластинки осторожно, чтобы не повредить слой сорбента, намечают (например, карандашом) *линию старта* (на расстоянии 2–3 см от нижнего края пластинки) и *линию финиша растворителя* (рис. 4).

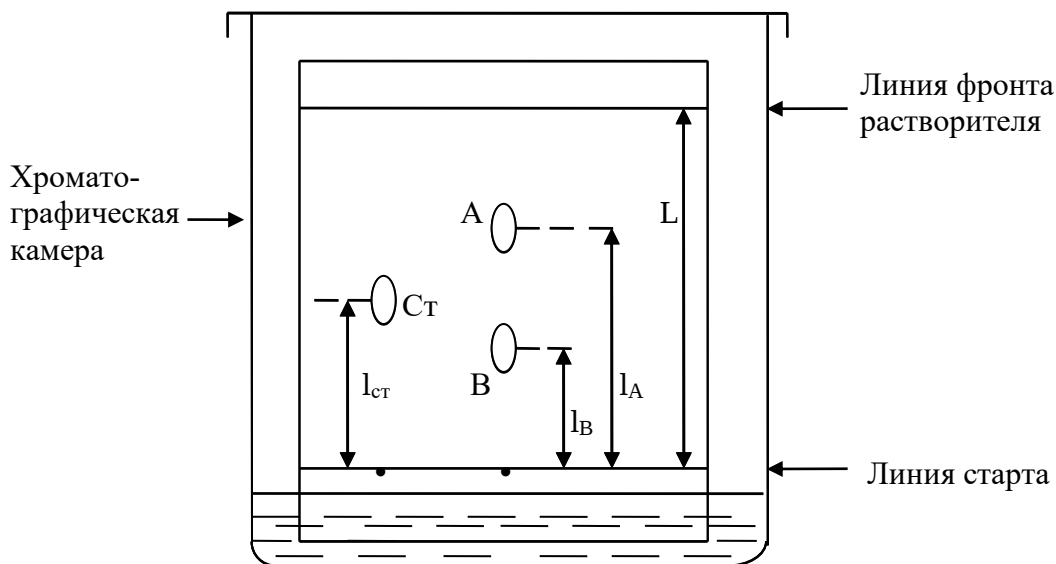


Рисунок 4. Схема разделения компонентов А и В методом ТСХ.

На линию старта пластинки наносят (микрошприцом, капилляром) пробу – небольшое количество жидкости, содержащей смесь разделяемых веществ, например, двух веществ А и В в подходящем растворителе (рис. 4). Дают возможность испариться растворителю, после чего пластинку погружают в хроматографической камере в жидкую фазу ПФ, представляющую собой специально подобранный для данного случая растворитель или смесь растворителей. Под действием капиллярных сил ПФ самопроизвольно перемещается вдоль НФ от стартовой линии до линии фронта растворителя, увлекая с собой компоненты А и В пробы, которые перемещаются с различной скоростью. В рассматриваемом случае сродство компонента А к НФ меньше сродства к той же фазе компонента В, поэтому компонент А перемещается быстрее компонента В. После достижения за время t подвижной фазой (растворителем) линии фронта растворителя хроматографирование прерывают, пластинку извлекают из хроматографической камеры, высушивают на воздухе и определяют положение пятен веществ А и В на поверхности пластинки.

Пятна (зоны) обычно имеют овальную или круглую форму. В рассматриваемом случае пятно компонента А переместилось от линии старта на расстояние l_A , пятно компонента В – на расстояние l_B , а растворитель прошёл расстояние L .

Иногда одновременно с нанесением пробы разделяемых веществ на линию старта наносят небольшие количества вещества-стандарта, а также веществ-свидетелей (тех, которые предположительно содержатся в анализируемой пробе).

Для характеристики разделяемых компонентов в системе вводят *коэффициент подвижности* R_f (или R_f -фактор):

$$R_f = \frac{V_1}{V_E} = \frac{l_i/t}{L/t} = \frac{l_i}{L},$$

где $V_i = l_i/t$ и $V_E = L/t$ – соответственно скорости перемещения i -го компонента и растворителя Е;

l_i и L – путь, пройденный i -м компонентом и растворителем соответственно;

t – время, необходимое для перемещения растворителя от линии старта до линии фронта растворителя.

Расстояния l_i отсчитывают от линии старта до *центра пятна* соответствующего компонента.

Обычно коэффициент подвижности лежит в пределах $R_f = 0-1$. Оптимальное значение составляет 0,3–0,7. Условия хроматографирования подбирают так, чтобы величина R_f отличалась от нуля и единицы.

Коэффициент подвижности является важной характеристикой системы сорбент-сорбат. Для воспроизводимых и строго постоянных условий хроматографирования $R_f = \text{const}$.

Коэффициент подвижности R_f зависит от целого ряда факторов: природы и качества растворителя, его чистоты; природы и качества сорбента (тонкого слоя), равномерности его зернения, толщины слоя; активности сорбента (содержания в нём влаги); техники эксперимента (массы образца, длины L

пробега растворителя); навыка экспериментатора и т.д. Постоянство воспроизведения всех этих параметров на практике бывает затруднительным. Для нивелирования влияния условий проведения процесса вводят *относительный коэффициент подвижности* R_s :

$$R_s = \frac{l}{l_{\text{ст}}} = \frac{R_f}{R_f(\text{ст})},$$

где $R_f = l/L$; $R_f(\text{ст}) = l_{\text{ст}}/L$;

$l_{\text{ст}}$ – расстояние от линии старта до центра пятна стандарта (см. рис. 4).

Относительный коэффициент подвижности R_s является более объективной характеристикой подвижности вещества, чем коэффициент подвижности R_f .

В качестве стандарта часто выбирают такое вещество, для которого в данных условиях $R_f \approx 0,5$. По химической природе стандарт выбирается близким к разделяемым веществам. С применением стандарта величина R_s обычно лежит в пределах $R_s = 0,1\text{--}10$, оптимальные пределы – около 0,5–2.

Для более надёжной идентификации разделяемых компонентов используют «свидетели» – эталонные вещества, наличие которых предполагается в анализируемой пробе. Если $R_f = R_f(\text{свид})$, где R_f и $R_f(\text{свид})$ – соответственно коэффициенты подвижности данного компонента и свидетеля, то можно с большой вероятностью предположить, что вещество-свидетель присутствует в хроматографируемой смеси.

Для характеристики разделения двух компонентов А и В в данных условиях вводят *степень (критерий) разделения* $R(A/B)$:

$$R(A/B) = \frac{\Delta l}{\frac{a(A)}{2} + \frac{a(B)}{2}} = \frac{2\Delta l}{a(A) + a(B)},$$

где Δl – расстояние между центрами пятен компонентов А и В;

$a(A)$ и $a(B)$ – соответственно диаметры пятен компонентов А и В на хроматограмме (рис. 5).

Чем больше величина $R(A/B)$, тем чётче разделяются пятна компонентов А и В на хроматограмме.

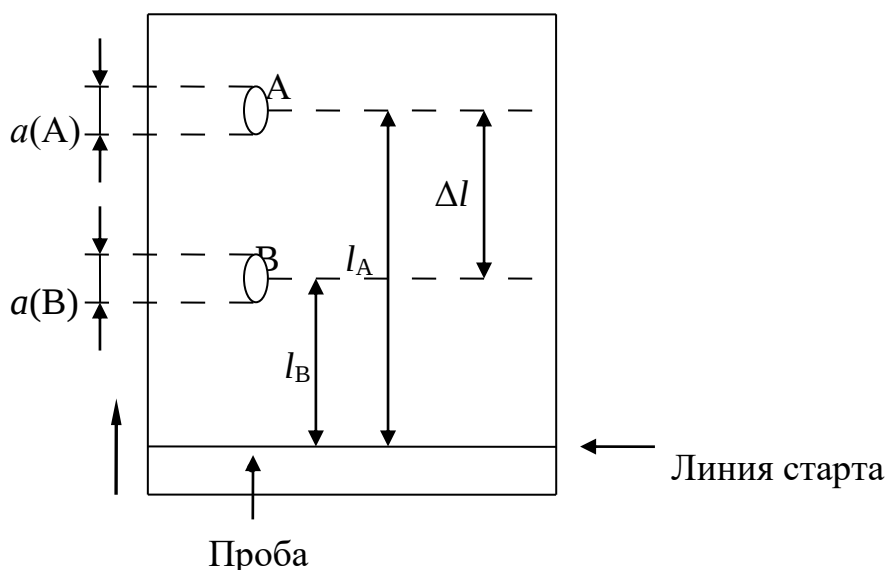


Рисунок 5. К определению степени разделения $R(A/B)$ компонентов А и В

Важной характеристикой удерживания вещества является *коэффициент ёмкости*:

$$k = \frac{1 - R_f}{R_f}$$

На практике оптимальной считается величина k от 1 до 5 (R_f – от 0,5 до ~0,17). При меньших значениях k компоненты хроматографируемой смеси плохо разделяются; при бóльших значениях k увеличивается время хроматографирования.

Для оценки *селективности* разделения двух веществ А и В используют *коэффициент разделения* α :

$$\alpha = \frac{l_B}{l_A}.$$

Если $\alpha = 1$, то компоненты А и В не разделяются.

Материалы, применяемые в методе ТСХ

Сорбенты. Важнейшей характеристикой сорбента является его активность, т.е. способность сорбировать (удерживать) компоненты разделяемой смеси. Активность сорбента зависит от природы активных центров и их концентрации на поверхности сорбента, от степени дисперсности частиц сорбента, от размеров поверхности сорбента и содержания на нём воды, от природы ПФ, взаимодействующей с сорбентом. Чем больше воды содержит сорбент, тем меньше его активность, поскольку молекулы воды, связываясь с активными центрами сорбента, блокируют их.

В качестве сорбентов чаще всего применяют диоксид кремния – силикагель SiO_2 и оксид алюминия Al_2O_3 , а также некоторые другие материалы (активированный уголь, сахарозу, карбонат кальция, целлюлозу, тальк, полиамидные смолы и т.д.).

Силикагель SiO_2 – полярный адсорбент, применяемый в методе ТСХ, обладает довольно большой удельной поверхностью (до $\sim 500 \text{ м}^2/\text{г}$). Полагают, что активными центрами на поверхности частиц силикагеля являются группы Si—OH . Молекулы воды могут блокировать эти центры, дезактивируя их. Поэтому для дегидратации силикагель активируют нагреванием при $\sim 150\text{--}300^\circ\text{C}$, но не выше $\sim 400^\circ\text{C}$, так как при более высоких температурах активные центры разрушаются. Силикагель применяют для разделения соединений различной полярности.

Для приготовления хроматографической пластинки с тонким слоем из силикагеля порошкообразный сорбент (с добавкой гипса или крахмала в качестве закрепителей, а также других, например, флуоресцирующих веществ) суспендируют в воде или в водном этаноле, суспензию наносят в виде тонкого слоя ($\sim 0,3 \text{ мм}$) на строго горизонтальную поверхность пластинки и высушивают. Обычно такой тонкий слой сорбента хорошо закрепляется на поверхности пластинки, в качестве которой используется стекло, алюминиевая фольга, полимерные пленки (полиэтилентерефталат).

Оксид алюминия Al_2O_3 также находит универсальное применение в качестве сорбента. Его активность сильно зависит от количества поглощённой влаги. На практике обычно применяют оксид алюминия при содержании воды от 6 до 10% (по массе). Оксид алюминия проявляет каталитические свойства в отношении целого ряда реакций, поэтому как сорбент он уступает силикагелю. Его применяют для разделения ароматических углеводов, алкалоидов, хлоруглеводородов, стероидов.

Флоросил – основной силикат магния, занимает промежуточное положение между оксидом алюминия и силикагелем; удобен для разделения флаваноидов, стероидов и ацетилованных углеводов.

Полиамиды – группа полярных сорбентов со смешанным механизмом разделения: карбоксамидная группа ответственна за адсорбционный механизм, метиленовые звенья – за распределительный механизм. Эти сорбенты применяют для разделения пищевых красителей, флаваноидов, танинов, нитрофенолов, спиртов, кислот.

Модифицированные силикагели с привитыми группами (амино-, циано-, диол- и др.) отличными по полярности.

Целлюлоза. В ТСХ используется два типа целлюлозы: природную волокнистую и микрокристаллическую. Длина волокон природной целлюлозы составляет от 2 до 25 мкм, а средняя степень полимеризации колеблется между 400 и 500. Частицы микрокристаллической целлюлозы крупнее: от 20 до 40 мкм, а средняя степень полимеризации ниже: от 40 до 200. Благодаря применению очень коротких волокон целлюлозы в форме порошка в ТСХ не получается такое быстрое растекание хроматографируемых веществ вдоль волокон, которое имеет место на целлюлозе, используемой в виде хроматографической бумаги, и поэтому при одних и тех же концентрациях ТСХ дает более четкие пятна и позволяет получить лучшее разделение, чем бумажная хроматография.

Сорбенты, применяемые в методе ТСХ, должны обладать определённым размером частиц (0,5–20 мкм), большой удельной поверхностью, устойчивостью к действию давления и истирания, однородным составом частиц, химической индифферентностью по отношению к ПФ и анализируемой пробе, не должны растворяться в ПФ.

Тонкий слой сорбента должен быть равномерным и однородным по толщине, обеспечивать воспроизводимость результатов разделения эталонных смесей (стандартов), требуемую скорость перемещения ПФ (часто ~10 см за ~30 мин).

Иногда используют смеси сорбентов различной природы.

На практике используют хроматографические пластинки, полученные в заводских условиях. Такие пластинки можно хранить продолжительное время, они просты в использовании, позволяют получать воспроизводимые результаты. Толщина слоя сорбента на таких пластинках составляет 200–250 мкм, размер зёрен сорбента – около 20 мкм. Время хроматографирования обычно равно ~25 мин при длине пути, пройденного растворителем, около 12 см. Для проведения анализа веществ методом ТСХ применяются пластины для хроматографии: Merck, Sorbfil, Sigma-Aldrich, Silufol и др.

Растворители

Выбор растворителя в методе ТСХ определяется природой сорбента и свойствами анализируемой смеси. Каких-либо строгих правил не существует. Обычно принимают во внимание общие практические рекомендации. Часто готовят смеси нескольких растворителей в качестве ПФ. При выборе растворителей учитывают их элюирующую способность, т.е. способность вытеснять соединения, сорбированные на НФ. Она зависит от сочетания свойств растворителя и НФ. Существуют *элюотропные ряды* для данного сорбента, облегчающие в какой-то мере выбор растворителя для ТСХ.

В качестве примера приведём *элюотропный ряд по Траппе*. В этом ряду растворители расположены в порядке увеличения их элюирующей способности, в целом – в порядке возрастания их полярности (диэлектрической

принадежности): циклогексан, четырёххлористый углерод, трихлорэтилен, толуол, бензол, дихлорэтан, хлороформ, диэтиловый эфир, этилацетат, ацетон, пропанол, этанол, метанол, вода.

Почти таков же ряд растворителей *по Шталю*: гексан, гептан, циклогексан, четырёххлористый углерод, бензол, хлороформ, диэтиловый эфир, этилацетат, пиридин, ацетон, этанол, метанол, вода.

Систему растворителей, используемую в качестве ПФ, подбирают, смешивая два растворителя из начала и конца элюотропного ряда. Меняя растворители и их количества, часто можно получать ПФ с приблизительно желаемыми свойствами.

Техника эксперимента в ТСХ

А. Нанесение пробы. Анализируемую жидкую пробу наносят на линию старта с помощью капилляра, микрошприца, микропипетки, осторожно касаясь слоя сорбента (диаметр пятна на линии старта – обычно от одного до нескольких мм). Если на линию старта наносят несколько проб, то расстояние между пятнами образцов на линии старта не должно быть меньше 2 см. По возможности используют концентрированные растворы. Пятна сушат на воздухе, после чего проводят хроматографирование.

Б. Развитие хроматограммы (хроматографирование). Процесс проводят в закрытых хроматографических камерах, насыщенных парами растворителя, используемого в качестве ПФ, например, в стеклянном сосуде, покрытом сверху крышкой.

В зависимости от направления движения ПФ различают *восходящую, нисходящую и горизонтальную хроматографии*.

В варианте *восходящей* хроматографии ПФ наливают на дно камеры (в качестве последней можно использовать стеклянный химический стакан подходящего размера со стеклянной крышкой), хроматографическую пластинку помещают вертикально или наклонно в камеру так, чтобы слой ПФ на дне камеры смачивал нижнюю часть пластинки (ниже линии старта

на $\sim 1,5\text{--}2$ см). ПФ перемещается за счёт действия капиллярных сил снизу вверх (против силы тяжести) сравнительно медленно.

В варианте *нисходящей* хроматографии ПФ подаётся сверху и перемещается вниз вдоль слоя сорбента пластинки. Сила тяжести ускоряет движение ПФ. Такой вариант реализуют при анализе смесей, содержащих компоненты, медленно перемещающиеся с ПФ.

В варианте *горизонтальной* хроматографии пластинка помещается горизонтально. Можно использовать прямоугольные или круглые пластинки. При применении круглых пластинок (*круговой вариант* горизонтальной хроматографии) стартовую линию обозначают в виде окружности подходящего радиуса ($\sim 1,5\text{--}2$ см), на которую наносят пробы. В центре круглой пластинки вырезают отверстие, в которое вставляют *фитиль* для подачи ПФ. Последняя перемещается вдоль слоя сорбента от центра круга к его периферии. Хроматографирование проводят в закрытой камере – эксикаторе или в чашке Петри. При круговом варианте можно одновременно анализировать до нескольких десятков проб.

В. Расшифровка хроматограмм. Если пятна на хроматограмме окрашены, то после высушивания пластинок определяют расстояние от линии старта до центра каждого пятна и вычисляют коэффициенты подвижности. Если же в состав анализируемой пробы входят бесцветные вещества, дающие неокрашенные, т.е. визуально не идентифицируемые пятна на хроматограмме, то необходимо провести *детектирование* этих пятен, для чего хроматограммы *проявляют*.

Рассмотрим некоторые наиболее распространённые методы детектирования.

Облучение ультрафиолетовым светом. Используется для обнаружения флуоресцирующих соединений (пятна светятся при облучении пластинки УФ светом) или нефлуоресцирующих веществ, но с применением сорбента с флуоресцирующим индикатором (сорбент светится, пятна – не светятся).

Таким образом детектируют, например, алкалоиды, антибиотики, витамины и другие лекарственные вещества.

Термическая обработка. Высушенную после хроматографирования пластинку осторожно нагревают (до $\sim 200^{\circ}\text{C}$), избегая потемнения слоя сорбента (например, тогда, когда тонкий слой сорбента содержит крахмал). При этом пятна проявляются обычно в виде коричневых зон (за счёт частичного термоллиза органических компонентов).

Химическая обработка. Хроматограммы проявляют, обрабатывая их реагентами, которые образуют окрашенные соединения с разделяемыми компонентами смесей. Для этих целей применяют различные реагенты: пары йода, аммиака, брома, диоксида серы, сероводород, специально приготовленные растворы, которыми обрабатывают пластинки. Применяют как универсальные, так и селективные реагенты (понятие «универсальные» – достаточно условно).

Универсальными реагентами могут служить, например, концентрированная серная кислота (при нагревании наблюдается потемнение пятен органических соединений), кислый водный раствор перманганата калия (зоны наблюдаются в виде коричневых пятен на фиолетовом фоне сорбента), раствор фосфорномолибденовой кислоты при нагревании (появляются синие пятна на жёлтом фоне) и т.д.

В качестве селективных применяют, например, реактив Драгендорфа; реактив Циммермана; водный аммиачный раствор сульфата меди (10%-й по CuSO_4 2%-й по аммиаку); смесь нингидрина $\text{C}_9\text{H}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ с этанолом и уксусной кислотой.

Реактив Драгендорфа представляет собой раствор основного нитрата висмута BiONO_3 , йодида калия KI и уксусной кислоты в воде. Используется для определения аминов, алкалоидов, стероидов.

С помощью нингидрина детектируют пятна аминов, аминокислот, белков и других соединений.

После детектирования пятен на хроматограмме проводят их идентификацию, т.е. определяют, какому соединению соответствует то или иное пятно. Для этого чаще всего используют эталонные пятна «свидетелей». Иногда пятна идентифицируют по величине коэффициентов подвижности R_f , сравнивая их с известными для данных условий величинами R_f . Однако такая идентификация по величине R_f часто носит предварительный характер.

С помощью метода ТСХ можно не только открывать, но и количественно определять содержание компонентов в смесях. Для этого либо анализируют сами пятна на хроматограмме, либо извлекают разделённые компоненты из хроматограммы тем или иным способом.

Относительная ошибка количественного определения вещества методом ТСХ составляет 5–10%.

ТСХ – фармакопейный метод и широко применяется для анализа и контроля качества разнообразных лекарственных средств.

Высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ)

В этом современном варианте ТСХ применяют пластинки с толщиной слоя сорбента ~100 мкм и малым размером зёрен сорбента – порядка 5 мкм или ещё меньше. Благодаря меньшим размерам толщины слоя сорбента и зёрен сорбента (по сравнению с обычным вариантом ТСХ) увеличивается эффективность разделения пятен на хроматограмме и уменьшается время хроматографирования (до ~10 минут).

Техника подготовки к выполнению лабораторных работ

Приготовление капилляров

Отрезок стеклянной трубки длиной 15–25 см нагревают в пламени горелки с насадкой «ласточкин хвост» до размягчения стекла и вытягивают капилляр диаметром 0,5–0,8 мм. После остывания капилляр разламывают на отрезки длиной около 10 см (Осторожно! Беречь глаза!). Готовые капилляры хранят в стаканчике.

Приобретение навыков работы с капиллярами

Технику нанесения растворов с помощью капилляров на слой сорбента отрабатывают на отдельных пластинках. На пластинках проводят стартовые линии, размечают стартовые точки. Капилляр наполняют раствором красителя, удаляя избыток раствора боковым прикосновением кусочка фильтровальной бумаги. Затем касаются капилляром стартовой точки, держа его вертикально и стараясь не повредить слой сорбента. Диаметр стартового пятна не должен превышать 3 мм.

Подготовка пластинок

В работах можно использовать готовые пластинки, представляющие собой обычно алюминиевую фольгу (подложка) с нанесённым на неё сорбентом – широкопористым силикагелем, закреплённым крахмалом.

Пластинку размером 150х150 мм кладут на лист плотной бумаги сорбентом вниз.

ВНИМАНИЕ! К слою сорбента нельзя прикасаться пальцами! Брать пластинку только пинцетом или пальцами за края.

Вырезают скальпелем пластинку нужного размера, например, шириной 5 см и длиной 7,5 см. Продольное направление сорбента различается по царапинам на металле на оборотной стороне пластинки.

Мягким простым карандашом осторожно намечают на слое сорбента линии старта, финиша и, если необходимо, линии «фитиля» (при использовании горизонтального способа хроматографирования), рис. 6.

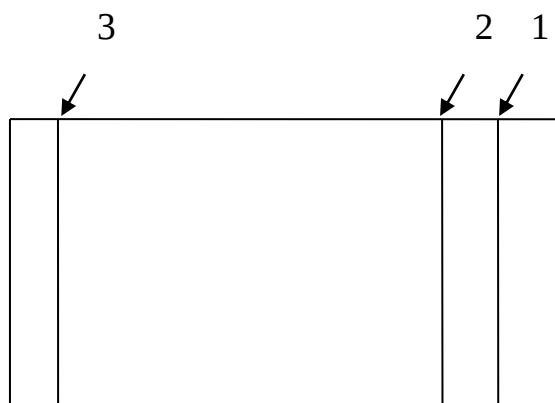


Рисунок 6. Подготовка пластинки к работе.

Линии: 1 – «фитиля», 2 – старта, 3 – финиша.

Линии старта и «фитиля» следует проводить особенно осторожно, не нарушая структуры сорбента.

Прижимая линейкой пластинку на линии «фитиля», загибают её под углом 90° для образования «фитиля». Затем на стартовой линии размечают положение стартовых точек – места нанесения всех хроматографируемых компонентов.

Расстояние между точками и от краёв пластинки должны быть примерно одинаковыми.

Подготовка хроматографической камеры

В качестве хроматографической камеры используют стеклянные сосуды подходящего размера. В работах, не требующих насыщенных камер, используют чашки Петри.

Важным условием успешного проведения хроматографического разделения является строго горизонтальное положение камеры. В качестве подставки для пластинок используют кусочки фольги. Установка пластинки при горизонтальном способе подачи подвижной фазы представлена на рис. 7.



Рисунок 7. Установка пластинки в камере: 1 – фитиль, 2 – подставка.

ВНИМАНИЕ! Уровень подвижной фазы должен быть ниже стартовой линии на пластинке, иначе хроматографируемые вещества могут быть смыты в ПФ и разнесены по всему слою.

Лабораторные работы

Тема: тонкослойная хроматография в качественном анализе.

Цель работы: на основе знаний теоретических основ хроматографического анализа приобрести навыки качественного анализа смесей методом ТСХ.

Целевые задачи:

1. Освоение техники нанесения веществ на пластинку с последующим хроматографированием и обнаружением их.
2. Расчёт основных хроматографических параметров.
3. Идентификация состава смеси.

Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

1. Сущность метода тонкослойной хроматографии.
2. Сорбенты, применяемые в ТСХ.
3. Основные этапы получения хроматограммы.
4. Способ идентификации веществ на хроматограмме с применением стандартных веществ (свидетелей).

Лабораторная работа № 1.

Занятие 1. АНАЛИЗ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ

1. Подготовка хроматографической пластинки с тонким слоем из силикагеля.

Разделение смеси аминокислот проводят на пластинках с тонким слоем из силикагеля размером 30×50 мм. Мягким карандашом, стараясь не повредить слой сорбента, намечают линии «фитиля», старта и финиша на расстоянии 5 мм, 10 мм и 45 мм от края пластинки соответственно. Сгибают пластинку по линии «фитиля» под углом 90° (см. рис. 7).

2. Приготовление подвижной фазы.

В мерном цилиндре смешивают 4 мл этанола, 1 мл концентрированной уксусной кислоты и 1 мл н-буанола. Смесь перемешивают.

3. Подготовка хроматографической камеры.

В качестве камеры для хроматографирования используют чашку Петри, в которую помещают подставку из фольги высотой 5 мм. В камеру помещают подвижную фазу и закрывают крышкой.

4. Нанесение анализируемых веществ.

Стекловыми капиллярами, стараясь не повредить слой сорбента, на линию старта наносят на равном расстоянии (7 мм друг от друга и от краёв пластинки) растворы аланина, фенилаланина и контрольной смеси. Диаметр пятен проб не должен превышать 2–3 мм. Удаляют растворитель, подсушивая пластинку на воздухе около 5 минут.

5. Элюирование.

Пластинку с пробами веществ помещают в камеру. Верхний край пластинки поддерживается подставкой, нижний – фитилём. Уровень подвижной фазы в камере около 2–3 мм. Пластинку вынимают из камеры после достижения ПФ линии финиша и подсушивают на воздухе (под тягой!).

6. Обнаружение хроматографических зон.

Проводят, погружая пластинку на 1–2 секунды в раствор нингидрина (слой сорбента внизу!). Раствор нингидрина предварительно наливают в чистую чашку Петри до уровня не более 5 мм. Пластинку держат за отогнутый уголок пинцетом, после чего её вновь подсушивают на воздухе, а затем помещают на слой асбеста, осторожно подогревая с помощью горелки (Осторожно! Не обугливать крахмал!) до появления цветных пятен.

7. Обработка хроматограммы.

Вычисляют значение R_f для всех обнаруженных хроматографических зон.

8. Оформление протокола.

Название работы _____

Состав сорбента _____

Размер пластинки _____

Длина пробега фронта подвижной фазы _____

Состав подвижной фазы _____

Время элюирования _____

Детектирующий реагент _____

Анализируемые вещества	l	R_f	R_s	Окраска хроматографических зон
Стандарты (свидетели): 1. 2. 3.				
Компоненты смеси: 1. компонент х 2. компонент у				

9. Вывод о составе делают на основе анализа величин R_f хроматографических зон «свидетелей» и контрольной задачи.

Вывод: _____

РАЗДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ СМЕСИ АЛКИЛПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОТИАЗИНА

1. Подготовка пластинки с закреплённым слоем силикагеля.

Хроматографирование проводят на готовых пластинках для ТСХ с тонким слоем силикагеля. Пластинку размером 150×150 мм кладут на лист плотной бумаги сорбентом вниз. Вырезают скальпелем фрагмент размером 75×75 мм.

Мягким простым карандашом осторожно намечают линию старта (на расстоянии 10 мм от края пластинки), точки нанесения анализируемых растворов (на расстоянии 12–15 мм друг от друга и от края пластинки), линию финиша (на расстоянии 50 мм от линии старта).

2. Приготовление подвижной фазы.

Отмеривают мерными цилиндрами 17 мл этилацетата, 2 мл 96% этанола и 0,5 мл концентрированного раствора аммиака в воде, помещают в колбу с притёртой пробкой, тщательно перемешивают.

3. Подготовка камеры к хроматографированию.

В чистую сухую камеру для хроматографирования диаметром и высотой не менее 10 см помещают часть подготовленной подвижной фазы. Камеру тщательно закрывают и оставляют для насыщения парами подвижной фазы. Время насыщения ~15 минут. Уровень подвижной фазы после насыщения камеры – не более 5–7 мм.

4. Нанесение образцов стандартных растворов и контрольной задачи алкилпроизводных фенотиазина.

Осторожно, стараясь не повредить слой сорбента, капиллярами наносят стандартные растворы пропазина, динезина, дипразина и контрольной смеси на заранее намеченные места. Диаметр нанесённых пятен не должен превышать 5 мм, иначе разделение веществ не будет полным.

Пластинку с нанесёнными пробами подсушивают на воздухе до полного удаления этанола.

5. Проявление (элюирование).

В работе используют восходящий способ хроматографирования. Пластинку с нанесёнными веществами помещают в подготовленную камеру для хроматографирования вертикально. Уровень подвижной фазы должен быть ниже линии старта на пластинке на 4–5 мм.

Как только подвижная фаза достигнет линии финиша, пластинку вынимают из камеры и подсушивают на воздухе в течение 15–20 минут.

Время хроматографирования 10–15 минут.

6. Обнаружение (детектирование) хроматографических зон.

А. Высушенную бесцветную хроматограмму помещают на 15 минут в камеру, насыщенную парами йода. Отмечают окраску и положение зон адсорбции на хроматограмме после удаления избытка йода на воздухе.

Б. Возможно термическое обнаружение хроматографических зон на пластинке, для чего пластинку осторожно подогревают на газовой горелке (пластинка не должна обугливаться).

7. Обработка результатов анализа.

Линейкой измеряют расстояния между точками нанесения на стартовую линию стандартов («свидетелей») и контрольной задачи и серединой каждой хроматографической зоны. Вычисляют значение R_f и R_s .

Стандартное вещество – дипразин.

8. Оформление протокола.

Название работы _____

Состав сорбента _____

Размер пластинки _____

Длина пробега фронта подвижной фазы _____

Состав подвижной фазы _____

Время элюирования _____

Детектирующий реагент _____

Анализируемые вещества	l	R_f	R_s	Окраска хроматографических зон
Стандарты (свидетели): 1. 2. 3.				
Компоненты смеси: 1. компонент х 2. компонент у 3. компонент z				

9. Вывод о составе делают на основе анализа величин R_f хроматографических зон «свидетелей» и контрольной задачи.

Вывод: _____

Контрольные вопросы

1. Что такое хроматография? _____

2. Какие классификации хроматографических методов применяются?

3. Каковы области применения хроматографических методов анализа? Каковы преимущества ТСХ перед другими методами разделения? _____

4. Как осуществляется качественный анализ смесей веществ при помощи ТСХ? _____

5. Каков механизм разделения веществ в ТСХ? _____

6. Что такое подвижная фаза (элюэнт)? Как осуществляется её выбор? _____

7. Что такое неподвижная фаза? Какие вещества чаще всего используются для приготовления закреплённого и незакреплённого слоя? _____

8. Что такое R_f ? От каких факторов зависит его величина? _____

9. Что такое R_s ? Какие факторы влияют на его величину? Как выбирают стандартное вещество? _____

10. В каких целях ТСХ применяют в фармацевтическом анализе? _____

ГАЗОЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

Общая характеристика метода

На изучение темы отводится одно занятие, включающее краткое рассмотрение основных теоретических положений, решение задач по теме и экспериментальную часть.

Цель изучения темы

На основе знания сущности хроматографии, а также основных закономерностей равновесных процессов распределения определяемых веществ между подвижной и неподвижной фазами научиться количественно определять вещества в анализируемых системах с применением хроматографических методов анализа.

Целевые задачи

1. Научиться проводить количественное определение органических веществ с применением метода газожидкостной хроматографии.
2. Научиться проводить количественное определение неорганических веществ с применением метода ионообменной хроматографии.
3. Оформление протокола выполненных лабораторных работ.

Общая характеристика метода

1. Сущность метода.

Газожидкостная хроматография (ГЖХ) – метод разделения, качественного и количественного анализа состава многокомпонентной смеси, основанный на различиях в равновесном распределении разделяемых компонентов смеси между двумя фазами: подвижной газообразной фазой ПФ и неподвижной фазой НФ (высококипящие жидкости различной химической природы, нанесенные на твердый носитель). Анализ проводят на газожидкостных хроматографах, принципиальная схема которых показана на рис. 8.

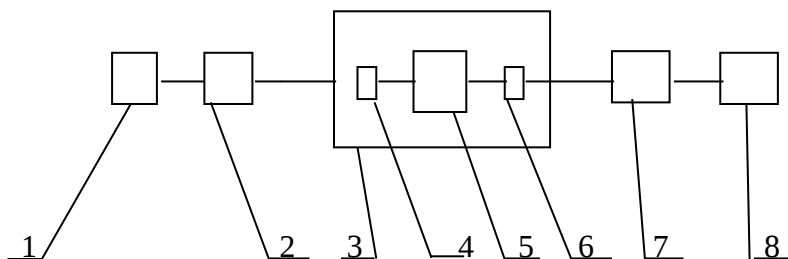


Рисунок 8. Принципиальная схема газожидкостного хроматографа:

- 1 – источник газа-носителя; 2 – блок подготовки газа;
 3 – блок анализатора; 4 – устройство для ввода пробы в испаритель;
 5 – хроматографическая колонка; 6 – детектор; 7 – блок управления;
 8 – система усилителя и регистратора.

Анализируемая проба смеси вводится с использованием микрошприца в испаритель (4) анализатора (3), где она переводится в парообразное состояние, смешивается с потоком газа-носителя (1), (2). Под действием газа-носителя разделяемая смесь выносится из испарителя и попадает в начальный участок хроматографической колонки (5). Температуры испарителя и хроматографической колонки задаются блоком управления (7).

Компоненты подвижной фазы поглощаются (абсорбируются) жидкой НФ. Каждый компонент смеси имеет различное сродство к НФ, различную растворимость в ней и по-разному распределяется между газообразной и неподвижной жидкой фазами. Равновесное распределение компонента между ПФ и НФ достигается практически мгновенно; участок НФ, на котором устанавливается это равновесие, условно называется теоретической тарелкой.

Основным параметром, характеризующим способность компонента растворяться в неподвижной фазе, является его коэффициент распределения K :

$$K = c(\text{НФ})/c(\text{ПФ}),$$

где $c(\text{НФ})$ и $c(\text{ПФ})$ – равновесные концентрации компонента смеси в НФ и ПФ, соответственно.

Новая порция газа-носителя переносит десорбируемые из ПФ разделяемые компоненты на новый участок НФ. На новом участке НФ вновь происходит равновесное распределение компонентов между двумя фазами; этот процесс сорбции – десорбции повторяется многократно по мере продвижения разделяемой смеси вдоль неподвижной фазы под действием газа-носителя. Компонент с бóльшим численным значением коэффициента распределения бóльшую часть времени проводит в НФ и медленнее перемещается в колонке вдоль НФ. Компонент с меньшим численным значением коэффициента распределения двигается по колонке быстрее, первым покидает ее и первым попадает в детектор (6). Таким образом, в процессе продвижения анализируемой смеси по хроматографической колонке происходит ее разделение на компоненты, при этом условием разделения компонентов А и В является их различное сродство к НФ, т.е. различие их коэффициентов распределения.

Каждый компонент, выходящий из колонки, генерирует в детекторе (6) электрический сигнал, который усиливается и фиксируется регистратором (8) в виде соответствующего пика на хроматограмме.

В фармакопейном анализе метод ГЖХ используют при контроле качества субстанций и лекарственных форм для идентификации и количественного определения остаточных летучих растворителей, например, ацетона и метанола в пилокарпине, этанола в мелоксикаме, изопропанола в флуконазоле и др.

2. Понятие о теории метода.

2.1. Параметры удерживания.

Хроматограмма – зарегистрированная во времени последовательность показаний регистрирующего прибора. Общий вид хроматограммы смеси двух компонентов А и В приведен на рис. 9.

Пики на хроматограмме условно изображены в виде равнобедренных треугольников. Положение пика характеризуется временем от момента ввода пробы в испаритель (нулевая точка на оси времени) до момента появления

максимума пика компонента на хроматограмме. Это время называется временем удерживания компонента $\tau(A)$ или $\tau(B)$. Аналогично положение пика на хроматограмме можно охарактеризовать расстоянием удерживания $\ell(A)$ или $\ell(B)$, которое равно расстоянию на хроматограмме от точки ввода пробы в испаритель до максимума пика соответствующего вещества.

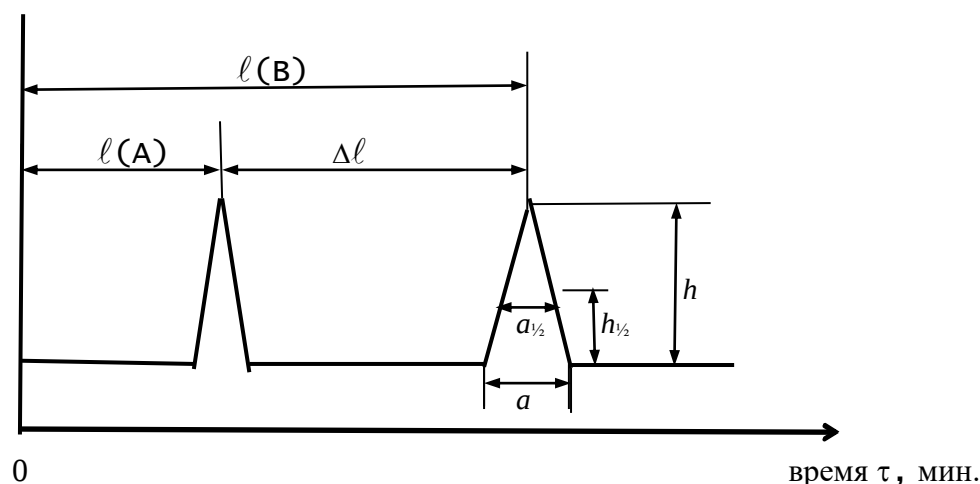


Рисунок 9. Схематическое изображение хроматограммы двухкомпонентной смеси

В общем случае и время удерживания, и расстояние удерживания, называемые параметрами удерживания, зависят от природы вещества и условий хроматографирования. При постоянных условиях хроматографирования эти величины являются постоянными для данного вещества и используются для качественной идентификации компонентов анализируемой смеси.

2.2. Степень разделения.

Степень разделения двух компонентов смеси $R_s(A/B)$ – количественная характеристика качества разделения двух компонентов A и B анализируемой смеси и определяется по положению соответствующих пиков на хроматограмме (рис. 9):

$$R_s(A/B) = \frac{\ell(B) - \ell(A)}{a_{1/2}(A) + a_{1/2}(B)} = \frac{\Delta\ell \cdot 2}{a(A) + a(B)},$$

где $\ell(A)$ и $\ell(B)$ – расстояния удерживания компонентов А и В, соответственно, мм;

$a(A)$ и $a(B)$ – ширины пиков у основания компонентов А и В, соответственно, мм;

$a_{1/2}(A)$ и $a_{1/2}(B)$ – ширины пиков компонентов А и В на середине их высоты, соответственно, мм.

Для равнобедренного треугольника справедливо соотношение:

$$a_{1/2}(A) = \frac{1}{2} \cdot a(A)$$

При $R_s > 1$ соответствующие пики не перекрываются и разделение веществ хорошее. С ростом величины степени разделения время анализа увеличивается. При значениях $R_s < 0,8$ пики перекрываются и разделение соответствующих веществ неудовлетворительное. Оптимальным считается разделение веществ при $R_s \geq 1$.

2.3. Эффективность хроматографического процесса.

Эффективность хроматографического процесса зависит от условий хроматографирования и от качества колонки, которое характеризуется следующими основными параметрами.

2.3.1. Число теоретических тарелок.

Теоретической тарелкой (т.т.) называется участок зоны внутри хроматографической колонки, на котором устанавливается динамическое равновесие, характеризующее распределение компонента между ПФ и НФ.

Число теоретических тарелок n в колонке для каждого компонента рассчитывается по хроматографическим данным по формуле:

$$n = 5,545(\ell/a_{1/2})^2$$

Чем больше число т.т., тем больше число переходов из НФ в ПФ и обратно совершает каждый компонент в процессе прохождения колонки, тем лучше его разделение с другими компонентами и тем выше эффективность хроматографической колонки.

2.3.2. Высота, эквивалентная теоретической тарелке.

Высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ) – длина участка хроматографической колонки (эквивалентная т.т.), на котором устанавливается динамическое распределение компонента между ПФ и НФ. ВЭТТ зависит от длины хроматографической колонки L и рассчитывается по формуле:

$$H = L/n$$

Чем меньше H , тем больше число т.т. в данной колонке, тем выше эффективность работы такой колонки.

3. Практика метода газожидкостной хроматографии.

3.1. Качественный анализ.

Качественный анализ состава смеси методом ГЖХ основан на сравнении параметров удерживания стандартных веществ («свидетелей») и компонентов анализируемой смеси. Для этого сначала определяют расстояние (время) удерживания стандартного вещества, присутствие которого предполагается в анализируемой смеси. Затем в тех же условиях хроматографируется анализируемая смесь. Совпадение параметров удерживания стандарта и i -го компонента смеси является основанием для качественной идентификации соответствующего компонента анализируемой смеси.

3.2. Количественный анализ.

В основе количественного анализа методом ГЖХ лежит зависимость между площадью пика i -го компонента S_i на хроматограмме и массой m_i (или массовой долей) этого компонента в смеси:

$$S_i = k \cdot m_i ,$$

где k – коэффициент пропорциональности.

Площадь пика компонента на хроматограмме часто приближенно (с ошибкой до нескольких процентов) рассчитывается по формуле для равнобедренного треугольника:

$$S_i = \frac{1}{2} \cdot a_i \cdot h_i ,$$

где a_i – ширина пика i -го компонента у основания;

h_i – высота пика i -го компонента.

Более точно площади пиков на хроматограмме измеряются интегратором хроматографа.

3.2.1. Метод абсолютной калибровки.

Готовят серию эталонных растворов анализируемых веществ с известными массами m_i компонентов (или концентрацией), хроматографируют их, рассчитывают площади пиков S_i на хроматограммах и строят градуировочный график для этих веществ в координатах $m_i - S_i$. Затем в тех же условиях хроматографируют анализируемую смесь, определяют площадь пика, соответствующего i -му компоненту на хроматограмме, и по градуировочному графику определяют массу (или концентрацию) этого вещества в анализируемой смеси.

3.2.2. Метод внутренней нормализации.

Хроматографируют анализируемую смесь, рассчитывают площади всех пиков на хроматограмме и определяют массовую долю каждого i -го компонента смеси по формуле:

$$W_i = \frac{m_i}{m(\text{см})} \cdot 100\% = \frac{\kappa_i \cdot S_i}{\sum(\kappa_i \cdot S_i)} \cdot 100\%,$$

где S_i – площадь пика i -го компонента на хроматограмме;

m_i – масса i -го компонента;

$m(\text{см})$ – масса смеси;

$\sum S_i$ – сумма площадей пиков всех компонентов;

κ_i – коэффициент пропорциональности для i -го компонента.

Метод применим для анализа смеси, все компоненты которой элюируются (записываются регистратором хроматографа) в данных условиях. Если коэффициенты пропорциональности κ можно принять равными для всех компонентов, то:

$$W_i = \frac{S_i}{\sum S_i} \cdot 100\%$$

Эта формула часто используется на практике.

3.2.3. Метод внутреннего стандарта.

Готовят несколько (часто – пять) эталонных смесей, каждая из которых включает точно известную массу m_i определяемого компонента и массу m_{cm} стандарта. В строго одинаковых условиях хроматографируют каждую смесь и на полученных хроматограммах измеряют площади S_i пиков определяемого вещества и площадь S_{cm} стандарта.

Площадь пика на хроматограмме прямо пропорциональна массе данного вещества:

$$S_i = k_1 m_i, \quad S_{cm} = k_2 m_{cm}.$$

Поэтому

$$\frac{S_i}{S_{cm}} = \frac{k_1}{k_2} \cdot \frac{m_i}{m_{cm}} = k \frac{m_i}{m_{cm}},$$

где коэффициент пропорциональности $k = k_1 / k_2$ или обратную ему величину $1/k$ называют *поправочным коэффициентом*.

Затем к анализируемому раствору, содержащему неизвестную массу m_x определяемого вещества, прибавляют точно известную массу стандарта m_{cm} и хроматографируют полученный раствор *в тех же условиях, что и эталонные растворы*, после чего измеряют площади S_x и S_{cm} обоих пиков.

Иногда, наоборот, к раствору стандарта прибавляют определенное количество определяемого вещества.

По полученным данным вычисляют отношение S_x / S_{cm} .

Окончательную обработку результатов можно проводить либо методом градуировочного графика, либо расчетным путем.

В качестве стандарта используют вещества, родственные определяемому. Чем меньше различаются площади S_x и S_{cm} , тем меньше ошибка определения, поэтому анализ обычно проводят в таких условиях, когда площади S_x и S_{cm} – соизмеримы. Пики стандарта и определяемого вещества не должны перекрываться.

Также применяют метод внешнего стандарта (метод стандарта, метод стандартного образца) – см. Учебник.

4. Высокоэффективная жидкостная хроматография.

Несмотря на большие достоинства методов ГЖХ, они неприменимы для разделения и определения веществ с высокой молярной массой (больше ~300), нелетучих, термически нестойких, ионогенных соединений. Эти недостатки отсутствуют в методе высокоэффективной жидкостной хроматографии – ВЭЖХ.

Высокоэффективная жидкостная хроматография, или жидкостная хроматография высокого давления, основана на тех же принципах, что и ГЖХ, только вместо газа-носителя в качестве ПФ применяется поток жидкости, не смешивающейся с жидкой НФ хроматографической колонки. Таким образом, в ВЭЖХ обе контактирующие фазы – НФ и ПФ – жидкости. Разделение компонентов основано на различии их коэффициентов распределения между НФ и ПФ.

Температура хроматографической колонки может быть комнатной, что позволяет хроматографировать белки, аминокислоты и другие термически нестойкие соединения. Молярная масса разделяемых веществ может достигать ~2000.

Расчеты содержания определяемых веществ в анализируемых пробах в методах ВЭЖХ проводятся теми же способами, что и в методах ГЖХ.

Занятие 2. АНАЛИЗ СМЕСИ АЦЕТОН–ГЕКСАН–БЕНЗОЛ МЕТОДОМ ГЖХ

Цель занятия: закрепление теоретических основ метода ГЖХ, приобретение навыков работы с газожидкостным хроматографом, проведение качественного и количественного анализа смеси веществ методом ГЖХ.

Целевые задачи:

1. Идентификация компонентов анализируемой смеси.
2. Расчет степени разделения компонентов анализируемой смеси.
3. Расчет эффективности газохроматографической колонки.
4. Расчет массовой доли компонентов в анализируемой смеси.

Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

1. Сущность метода ГЖХ.
2. Принципиальную схему газожидкостного хроматографа.
3. Сущность метода идентификации веществ по временам (расстояниям) удерживания.
4. Принцип метода расчета количественного состава смеси по данным хроматографического анализа.

Сущность работы

Качественный анализ смеси проводят на основании сравнения времен удерживания компонентов смеси с временами удерживания эталонов ацетона, гексана и бензола. Количественное содержание ацетона, гексана и бензола в анализируемой смеси проводят с применением метода внутренней нормализации.

Хроматографирование анализируемой смеси веществ выполняют на газовом хроматографе того типа, который имеется в данной лаборатории. Целесообразно проводить хроматографирование смеси при давлении азота на входе 200 кПа, температуре испарителя 150°C и температуре колонки 120°C.

Современные хроматографы позволяют автоматически регистрировать на хроматограмме площади пиков и времена удерживания компонентов смеси. Поэтому практическое определение расстояний удерживания разделяемых веществ и расчет площадей соответствующих пиков носит обучающий характер и способствует выработке навыков у студентов при работе с хроматограммами.

1. Идентификация компонентов анализируемой смеси.

Сущность методики

Идентификация веществ в многокомпонентной смеси основана на сравнении расстояний удерживания эталонных веществ с расстояниями удерживания отдельных компонентов анализируемой смеси.

Методика

Сначала хроматографируют эталонные вещества. С использованием хроматографического шприца в испаритель хроматографа вводят 0,5 мкл ацетона и получают хроматограмму, на которой имеется только один пик ацетона. Определяют расстояние удерживания ацетона $\ell(A)$. Аналогично получают хроматограммы двух других эталонов – гексана и бензола и определяют расстояния удерживания этих веществ $\ell(\Gamma)$ и $\ell(B)$. Полученные данные заносят в табл. 7.

Затем в тех же условиях хроматографируют полученную задачу, содержащую два или три компонента. Для этого 1 мкл анализируемой смеси вводят в испаритель хроматографа и получают хроматограмму, на которой число пиков равно числу компонентов в смеси. Измеряют расстояния удерживания соответствующих компонентов смеси (1,2,3) на хроматограмме $\ell(i)$ и полученные значения заносят в табл. 7. Сравнивают расстояние удерживания пика на хроматограмме смеси и расстояние удерживания эталона; их совпадение является основанием для идентификации соответствующего компонента смеси. По полученным данным делается вывод о составе анализируемой смеси. Хроматограммы и вклеиваются в лабораторный журнал.

2. Расчет степени разделения веществ.

На полученной хроматограмме анализируемой смеси измеряют расстояние удерживания и ширину пика на середине высоты для каждого компонента. Полученные данные заносят в табл. 7.

На основании полученных хроматографических данных рассчитывают степени разделения двух пар веществ ацетон–гексан и гексан–бензол. Полученные данные заносят в табл. 7.

$$R_s(A/\Gamma) =$$

$$R_s(\Gamma/B) =$$

3. Расчет эффективности колонки.

Эффективность хроматографической колонки характеризуется числом теоретических тарелок и рассчитывается для каждого компонента смеси по хроматограмме эталона. Затем рассчитывается высота, эквивалентная теоретической тарелке ВЭТТ, для каждого компонента смеси и полученные данные заносят в табл. 7.

$$n_1 =$$

$$H_1 =$$

$$n_2 =$$

$$H_2 =$$

$$n_3 =$$

$$H_3 =$$

**Таблица 7. Параметры удерживания веществ
и эффективность колонки**

Эталон	Расстояние удерживания, $\ell(i)$, мм	Анализируемая смесь	Расстояние удерживания $\ell(i)$, мм	Ширина пика на середине высоты $a_{1/2}(i)$, мм	Степень разделения веществ	Число т.т. $n(i)$	ВЭТТ, $H(i)$, мм
Ацетон		пик 1			$R_s(A/\Gamma)$ $R_s(\Gamma/B)$		
Гексан		пик 2					
Бензол		пик 3					

Вывод: _____

4. Определение количественного состава многокомпонентной смеси.

На полученной хроматограмме анализируемой смеси измеряют высоту пика и ширину пика на середине высоты для каждого компонента смеси и рассчитывают площадь каждого пика. Затем с использованием метода внутренней нормализации рассчитывают массовую долю каждого компонента в анализируемой смеси. Полученные данные вносят в табл. 8.

$$S_1 =$$

$$W_1 =$$

$$S_2 =$$

$$W_2 =$$

$$S_3 =$$

$$W_3 =$$

Таблица 8.

Анализируемая смесь	Высота пика h , мм	Ширина пика на середине высоты $a_{1/2(i)}$, мм	Площадь пика S , мм ²	Массовая доля компонента в анализируе- мой смеси W , %
Пик 1				
Пик 2				
Пик 3				

Вывод: _____

Контрольные вопросы

1. Укажите механизм разделения веществ в методе ГЖХ

2. Перечислите основные блоки хроматографа _____

3. Объясните принцип действия кондуктометрического и пламенно-ионизационного детекторов _____

4. Укажите условие разделения двух веществ в методе ГЖХ

5. Для каких целей используются времена (расстояния) удерживания в методе ГЖХ? _____

6. Для чего используются величины высоты пика и ширины пика на середине высоты в ГЖХ? _____

7. Укажите значения величины степени разделения двух пиков, обеспечивающие удовлетворительное разделение веществ

8. Что характеризует число т.т. и от чего эта величина зависит?

9. Перечислите способы количественной оценки состава анализируемой смеси, используемые в методе ГЖХ.

10. В каких целях используют метод ГЖХ в фармацевтическом анализе?

ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

Общая характеристика метода

Ионообменная хроматография – метод разделения и количественного анализа катионов и анионов в растворе, основанный на обратимом стехиометрическом ионном обмене между ионитом (неподвижной фазой) и анализируемым раствором (подвижной фазой).

Иониты – это твердые, нерастворимые в воде вещества, состоящие из матрицы и ионогенных групп, которые включают в себя прочно связанные с матрицей фиксированные ионы и подвижные ионы, способные обмениваться с одноименными ионами (ионами с тем же знаком заряда) анализируемого раствора. В зависимости от природы ионогенных групп различают *катиониты*, способные обмениваться с раствором катионами, и *аниониты*, способные обмениваться с раствором анионами.

Известны также *амфотерные* иониты (*амфолиты*), способные обмениваться с раствором как катионами, так и анионами.

Состав сильнокислотного катионита в Н-форме общем виде можно выразить в виде формулы $R-SO_3^-H^+$,

где R – матрица ионита (обычно полимерная синтетическая смола);

$SO_3^-H^+$ – ионогенная группа;

SO_3^- – фиксированный ион, связанный с матрицей прочной ковалентной связью и поэтому в процессе ионного обмена отщепляться не может;

H^+ – подвижный ион, который в процессе ионного обмена переходит в раствор (подвижную фазу) и замещается на катион из анализируемого раствора.

Аналогично состав основного анионита в ОН-форме можно выразить в виде формулы $R-N(CH_3)_3^+OH^-$,

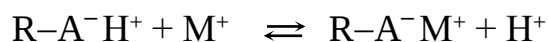
где $N(CH_3)_3^+OH^-$ – ионогенная группа;

$N(CH_3)_3^+$ – фиксированный ион, связанный с матрицей прочной ковалентной связью, и поэтому в процессе ионного обмена отщепляться не может;

OH^- – подвижный ион, который в процессе ионного обмена переходит в раствор (подвижную фазу) и замещается на анион из анализируемого раствора.

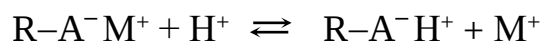
Заменим фиксированный ион в катионите на A^- и в анионите на K^+ и запишем формулы ионитов в более простой форме $R-A^-H^+$ и $R-K^+OH^-$, соответственно.

При пропускании раствора с анализируемыми катионами M^+ через катионит происходит процесс катионного обмена, который можно записать в виде:



Катион металла вытесняет ион водорода из катионита, сорбируется на нем и удерживается в ионогенной группе. Этот процесс возможен потому, что способность к сорбции на катионите у большинства ионов металлов больше, чем у иона водорода. Ионы водорода выделяются в раствор в количестве, эквивалентном содержанию ионов металла в анализируемом растворе, и уносятся с подвижной фазой.

В результате катионного обмена катионит из Н-формы переходит в солевую форму $R-A^-M^+$, которая содержит сорбированные из раствора катионы. Для выделения этих катионов из катионита равновесие ионного обмена необходимо сместить в сторону обратной реакции. Для этого катионит в солевой форме промывают раствором кислоты, и он переходит в Н-форму (происходит регенерация катионита) по схеме:

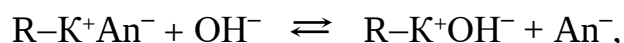


Катионы переходят в подвижную фазу и собираются на выходе из колонки для дальнейшего количественного анализа.

Количественное определение анионов проводится аналогичным образом при пропускании раствора с анализируемыми анионами An^- через анионит. В соответствии с сорбционной способностью анионов происходит анионный обмен:



и анионы из раствора сорбируются на анионите, который переходит в солевую форму $R-K^+An^-$. Затем анионит в солевой форме промывают раствором основания:



и происходит регенерация анионита. Анионы переходят в подвижную фазу и собираются на выходе из колонки для дальнейшего количественного анализа.

В лабораторных условиях ионообменную хроматографию проводят в хроматографических колонках, представляющих собой обычно стеклянные бюретки, заполненные ионитом, с краном в нижней части для выпуска элюата.

Методы ионообменной хроматографии (ИОХ) применяются в фармакопейном анализе. Например, ионообменная хроматография на катионитах применяется для определения лекарственных веществ, представляющих собой соли органических оснований (гидрохлориды папаверина, хинина). При определении лекарственных веществ, содержащих ионогенно связанные анионы (атропина сульфат, скополамина гидробромид), применяют ионообменную хроматографию с использованием анионитов.

Занятие 3. РАЗДЕЛЕНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА(III) И МЕДИ(II) И ИХ КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В РАСТВОРЕ

Цель занятия: закрепление теоретических основ метода ИОХ, приобретение навыков работы с ионообменными хроматографическими колонками, разделение ионов, содержащихся в анализируемом растворе, и проведение количественного анализа ионов железа(III) и меди(II) с применением метода ИОХ.

Целевые задачи:

1. Разделение ионов в анализируемом растворе.
2. Количественное определение катионов в анализируемом растворе.

Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

1. Сущность метода ИОХ.
2. Классификацию ионитов, их состав и свойства.
3. Сущность процессов ионного обмена на катионитах и анионитах.
4. Возможности количественного определения состава анализируемого раствора по результатам ИОХ.

Сущность работы

Метод основан на переводе одного из анализируемых катионов (иона железа) в комплексный анион, разделении катионов и анионов в растворе с использованием ионообменной хроматографии на катионите и количественном определении катионов и анионов в раздельно собранных растворах.

1. Подготовка хроматографической колонки к работе.

Стеклянную бюретку на 25 мл заполняют катионитом и переводят его в Н-форму. Для этого в верхнюю часть колонки через воронку вносят раствор 1 моль/л хлороводородной кислоты и пропускают 20 мл этого раствора через колонку со скоростью 1–2 мл в минуту (что соответствует вытеканию раствора из носика колонки со скоростью 1–2 капли в секунду). После этого через колонку пропускают 20 мл дистиллированной воды с той же скоростью.

ВНИМАНИЕ! При проведении любых операций с хроматографической колонкой над катионитом всегда должен быть столбик жидкости не менее 1–2 см, чтобы в ионит не попали пузырьки воздуха.

2. Разделение катионов железа(III) и меди(II).

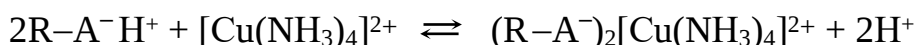
Сущность методики

Катионы меди(II) и железа(III), содержащиеся в анализируемом растворе, переводят в комплексные ионы с противоположными зарядами, добавляя в раствор сульфосалициловую кислоту и аммиак. При этом ион меди реагирует с аммиаком с образованием положительно заряженного комплексного катиона синего цвета:



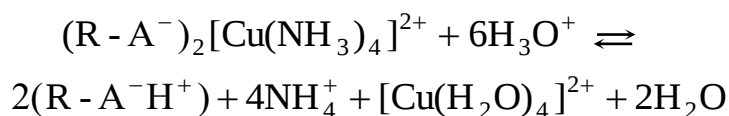
При взаимодействии катиона железа с сульфосалициловой кислотой образуются предположительно при $\text{pH} \sim 9\text{--}15$ комплексные трисульфосалицилатоферрат(III)-ионы желтого цвета, заряженные отрицательно (комплексы анионного типа) с максимумом поглощения в спектре поглощения около 416 нм.

В результате в анализируемом растворе ионы меди находятся в составе катионного комплекса, а ионы железа – в составе анионного комплекса. При пропускании этого раствора через катионит комплексный катион меди будет сорбироваться на нем в результате протекания реакции ионного обмена:



Анионный комплекс железа с катионитом не взаимодействует, уносится с подвижной фазой и собирается в мерной колбе на выходе из колонки для последующего анализа.

Для дальнейшего элюирования сорбированных на катионите комплексных катионов меди колонку промывают раствором хлороводородной кислоты. При этом равновесие сорбции комплексных ионов меди на катионите смещается в сторону обратной реакции; комплексный тетраамминмедь(II)-катион снова переходит в раствор и разрушается под действием хлороводородной кислоты:



Полученные комплексные ионы меди(II) голубого цвета элюируются из колонки и собираются на выходе из колонки для дальнейшего анализа.

2.1. Выделение из анализируемого раствора ионов железа.

Методика

Анализируемый раствор получают в химическом стаканчике (один на двух студентов). К этому раствору добавляют из бюреток 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты и затем 10 мл раствора аммиака. Раствор окрашивается темно-зеленый цвет. Получившийся раствор количественно переносят в хроматографическую колонку, пропуская его со скоростью вытекания 1–2 капли в секунду. Первые 10 мл бесцветного элюата, не содержащего комплексов железа, собирают в градуированную пробирку и отбрасывают. Затем весь элюат, вытекающий из колонки, собирают в мерную колбу на 50 мл. Для количественного перенесения анализируемого раствора в колонку в пустой стаканчик добавляют 2 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 2 мл раствора аммиака и пропускают полученный раствор через колонку, собирая элюат в те же мерную колбу. Эту операцию повторяют дважды.

Затем колонку последовательно промывают элюентами следующих составов:

- 1) 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты и 10 мл раствора аммиака;
- 2) 3 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 3 мл раствора аммиака и 2 мл дистиллированной воды;
- 3) 1 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 1 мл раствора аммиака и 6 мл дистиллированной воды.

Во время промывания колонки поддерживают постоянную скорость вытекания элюата (1–2 капли в секунду). Собранный раствор в мерной колбе доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и оставляют для количественного определения ионов железа(III).

2.2. Выделение ионов меди(II) из анализируемого раствора.

Методика

Ионы меди(II) элюируются с катионита промыванием колонки 4 моль/л хлороводородной кислотой. В колонку вносят 10 мл раствора кислоты и выходящий элюат собирают в мерной колбе вместимостью 50 мл. Эту операцию повторяют дважды. Затем колонку промывают дистиллированной водой порциями по 10 мл до полного элюирования меди(II) из колонки, собирая элюат в ту же колбу. Для проверки отсутствия меди(II) в последней порции элюата несколько капель этого элюата помещают на фильтровальную бумагу, предварительно пропитанную калия гексацианоферратом(II). Отсутствие красно бурого осадка или окрашивания бумаги свидетельствует о полноте элюирования меди(II) из колонки. Собранный раствор в мерной колбе доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и оставляют для количественного определения меди(II).

3. Определение массы ионов меди(II) в растворе.

Методика

Содержание меди(II) в растворе определяют иодометрически. В колбу для титрования отбирают с помощью пипетки 2 мл анализируемого раствора, добавляют 2 мл 10%-ного раствора калия иодида, накрывают стеклом и оставляют на 10 минут в темном месте. Выделившийся йод титруют раствором натрия тиосульфата до бледно-желтой окраски, прибавляют 0,5 мл свежеприготовленного раствора крахмала и продолжают титровать до исчезновения синей окраски. Результаты титрования вносят в табл. 9.

Таблица 9.

№ п/п	Объем аликвотной доли анализируемого раствора, мл $V_{\text{п}}(\text{Cu})$	Объем титранта, мл $V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$	Средний объем титранта, мл $V_{\text{ср}}(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$
1			
2			
3			
4			
5			

Массу меди(II) в анализируемом растворе рассчитывают в граммах с точностью до трех значащих цифр с использованием закона эквивалентов:

$$n(\text{Cu}) = n(\frac{1}{2}\text{I}_2) = n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$$

$$c(\text{Cu}) \cdot V_{\text{п}}(\text{Cu}) = c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$$

$$c(\text{Cu}) = \frac{c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)}{V_{\text{п}}(\text{Cu})}$$

$$m(\text{Cu}) = \frac{c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)}{V_{\text{п}}(\text{Cu})} \cdot M(\text{Cu}) \cdot V_{\text{к}}(\text{Cu}),$$

где $V_{\text{п}}(\text{Cu}) = 0,002$ л; $M(\text{Cu}) = 63,546$ г/моль; $V_{\text{к}}(\text{Cu}) = 0,050$ л.

$$m(\text{Cu}) = \underline{\hspace{4cm}}$$

4. Определение массы железа(III) в растворе.

Методика

Содержание железа(III) в анализируемом растворе определяют фотометрически методом одного стандарта. Собранный в мерной колбе раствор трисульфосалицилата железа(III) фотометрируют на фотоэлектроколориметре (например, типа КФК-2) при светофильтре 400 нм в кюветах 1 см относительно дистиллированной воды и получают значение оптической плотности $A(X)$.

Затем готовят эталонный раствор трисульфосалицилата железа(III). Для этого в мерную колбу на 50 мл с помощью пипетки помещают 2 мл эталонного комплекса железа(III) с концентрацией железа(III) 0,10 мг/мл, добавляют 10 мл дистиллированной воды, 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 5 мл раствора аммиака, доводят объем раствора дистиллированной водой до метки и перемешивают. Полученный раствор фотометрируют в тех же условиях, что и анализируемый раствор, и получают значение оптической плотности $A(\text{эт})$. Массу $m(\text{Fe})$ железа в анализируемом растворе объемом 50 мл рассчитывают в мг с точностью до двух значащих цифр по формуле:

$$m(\text{Fe}) = m(\text{эт}) \cdot \frac{A(\text{X})}{A(\text{эт})},$$

где $m(\text{эт}) = 0,20$ мг – масса железа(III) в эталонном растворе объемом 50 мл.

$m(\text{Fe}) =$

Результаты заносят в табл. 10.

Таблица 10.

Оптическая плотность эталонного раствора, $A_{(\text{эт})}$	Среднее значение $A_{(\text{эт})}$	Оптическая плотность анализируемого раствора, $A_{(\text{X})}$	Среднее значение $A_{(\text{X})}$	Масса железа в эталонном растворе, $m(\text{эт})$	Масса железа в анализируемом растворе, $m(\text{Fe})$

По окончании работы в колонку заливают около 10 мл 1 моль/л раствора хлороводородной кислоты и медленно пропускают ее через колонку до достижения уровня раствора над катионитом 2–3 см.

Контрольные вопросы

1. Как проводят подготовку катионита к проведению на нем катионного обмена?

2. Почему анализируемый раствор окрашивается в темно-зеленый цвет при добавлении к нему сульфосалициловой кислоты и аммиака?

3. На чем основано разделение катионов меди(II) и железа(III) при пропускании их через катионит?

4. Укажите элюенты и элюаты на различных стадиях проведения процесса анализа.

5. Сформулируйте условие возможности применения метода одного стандарта для определения железа(III) в данной работе.

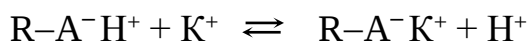
6. Укажите метод титрования, использованный для количественного определения меди в растворе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ КАЛИЯ ХЛОРИДА В ОБРАЗЦЕ

Сущность работы

Метод основан на проведении ионного обмена ионов калия из анализируемого раствора на катионите и на количественном определении ионов водорода методом титриметрического анализа.

При пропускании раствора с анализируемыми катионами калия через катионит в Н-форме происходит процесс ионного обмена, который можно записать в виде:



Катион металла вытесняет ион водорода из катионита, сорбируется на нем и удерживается в ионогенной группе. Ионы водорода выделяются в раствор в количестве, эквивалентном содержанию ионов калия в анализируемом растворе, уносятся с подвижной фазой и собираются на выходе из колонки для дальнейшего количественного анализа методом кислотно-основного титрования.

Методика работы

1. Подготовка хроматографической колонки к работе.

Стеклянную бюретку на 25 мл заполняют катионитом и переводят его в Н-форму. Для этого в верхнюю часть колонки через воронку вносят раствор 1 моль/л хлороводородной кислоты и пропускают 20 мл этого раствора через колонку со скоростью 1–2 мл в минуту (что соответствует вытеканию раствора из носика колонки со скоростью 1–2 капли в секунду). Далее катионит промывают дистиллированной водой с той же скоростью до нейтральной реакции по индикатору метиловому оранжевому.

ВНИМАНИЕ! При проведении любых операций с хроматографической колонкой над катионитом всегда должен быть столбик жидкости не менее 1–2 см, чтобы в ионит не попали пузырьки воздуха.

2. Анализ образца соли.

В мерной колбе на 250 мл готовят раствор калия хлорида с молярной концентрацией соли 0,1 моль/л. Теоретическую навеску соли $m(\text{KCl})_{\text{теор.}}$ рассчитывают, исходя из содержания калия хлорида в образце 90–95%. Точную навеску образца $m(\text{соли})$ берут на аналитических весах и определяют по разности двух взвешиваний.

10,00 мл приготовленного раствора с помощью мерной пипетки вводят в хроматографическую колонку и элюат, вытекающий из носика колонки, собирают в коническую колбу на 150–250 мл. Затем колонку промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции элюата, собирая промывные воды в ту же коническую колбу. Полноту вымывания ионов водорода из колонки проверяют, поместив каплю элюата на универсальную индикаторную бумагу.

Собранный элюат титруют стандартизованным раствором натрия гидроксида в присутствии индикатора метилового оранжевого до перехода окраски титруемого раствора из золотисто-оранжевой в желтую.

Ионный обмен на катионите происходит строго стехиометрически и закон эквивалентов для этой стадии имеет вид:

$$n(\text{K}^+) = n(\text{KCl}) = n(\text{H}^+) = n(\text{NaOH})$$

Отсюда массовая доля соли в образце, рассчитанная по результатам прямого титрования, равна:

$$W(\text{KCl}), \% = \frac{c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) \cdot M(\text{KCl}) \cdot V_{\text{к}}(\text{KCl}) \cdot 100\%}{V_{\text{п}}(\text{KCl}) \cdot m(\text{соли})},$$

где $V(\text{NaOH})$ – объем раствора щелочи, израсходованный на титрование.

$$W\%(\text{KCl}) =$$

Полученные результаты вносят в табл. 11.

Таблица 11.

N п/п	Объем алик- вотной доли анализируемого раствора, мл $V_{\text{п}}$	Объем титранта, мл $V(\text{NaOH})$	Концентрация титранта, моль/л $C(\text{NaOH})$	Массовая доля KCl в образце, W%
1				
2				
3				
4				
5				
		$V_{\text{ср}}$		$W\%_{\text{ср}}$

Контрольные вопросы

1. Как проводят подготовку катионита к проведению на нем катионного обмена?

2. Укажите метод титрования, использованный для количественного определения меди в растворе.

3. Какой индикатор используется в титровании, укажите переход окраски индикатора?

4. Как проверяют полноту вымывания ионов водорода из колонки?

5. Укажите элюент и элюат при проведения процесса анализа.

РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ

Примеры

А. Тонкослойная хроматография.

1. При анализе методом ТСХ двухкомпонентной смеси, содержащей предположительно пропазин (компонент X) и дипразин (компонент Y), с применением свидетелей-эталонов получена хроматограмма, на которой расстояние от линии старта до линии фронта растворителя $L = 100$ мм, расстояния от линии старта до центров пятен компонентов X, Y, свидетелей – пропазина и дипразина соответственно равны: $l(X) = 38$ мм, $l(Y) = 79$ мм, $l(\text{пропазин}) = 40$ мм, $l(\text{дипразин}) = 78$ мм. Рассчитайте для каждого компонента смеси и свидетелей коэффициенты подвижности R_f , определите природу компонентов X, Y и вычислите коэффициент их разделения α .

Решение

Определим коэффициенты подвижности R_f :

$$R_f(X) = \frac{l(X)}{L} = \frac{38}{100} = 0,38, \quad R_f(Y) = \frac{l(Y)}{L} = \frac{79}{100} = 0,79,$$

$$R_f(\text{пропазин}) = \frac{l(\text{пропазин})}{L} = \frac{40}{100} = 0,40,$$

$$R_f(\text{дипразин}) = \frac{l(\text{дипразин})}{L} = \frac{78}{100} = 0,78.$$

Сравнивая рассчитанные коэффициенты подвижности, можно заключить, что $R_f(X) \approx R_f(\text{пропазин})$, $R_f(Y) \approx R_f(\text{дипразин})$. Следовательно, компонент X – это пропазин, а компонент Y – это дипразин.

Найдем коэффициент разделения:

$$\alpha(Y/X) = \frac{l(Y)}{l(X)} = \frac{79}{38} = 2,08.$$

Б. Газожидкостная хроматография. Высокоэффективная жидкостная хроматография.

2. Лекарственный препарат, состоящий из d,l-ментола и изо-d,l-ментола с незначительной примесью нео-d,l-ментола проанализировали методом ГЖХ на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором при следующих условиях хроматографирования: колонка из нержавеющей

стали длиной $L = 3000$ мм с внутренним диаметром 3 мм; неподвижная жидкая фаза – полиэтиленгликольадипинат, нанесенный на твердый носитель из хромосорба; газ-носитель – гелий, скорость потока газа-носителя 60 мл/мин; температура испарителя 220 ± 5 °С, колонки – 125 ± 5 °С; объем вводимой пробы (раствор смеси в 95%-ом этаноле в соотношении 1:1) от 0,5 до 1 мкл; продолжительность анализа – до 30 мин.

На хроматограмме, полученной в указанных условиях, имеются 3 пика разделенных компонентов смеси со следующими характеристиками (l , $a_{1/2}$ и h – соответственно, расстояние удерживания, полуширина пика и его высота, измеренные в мм), представленными во 2–4 столбцах нижеследующей таблицы:

Компонент смеси	l , мм	$a_{1/2}$, мм	h , мм	n	H , мм	R_s	W , %
нео-d,l-ментол	81	3	2				
d,l-ментол	97,5	4	198				
изо-d,l-ментол	107	4	53,5				

Требуется рассчитать параметры, характеризующие эффективность колонки, – число теоретических тарелок n ; высоту, эквивалентную теоретической тарелке, – H ; степень разделения R_s , а также массовую долю W каждого компонента смеси в процентах (методом внутренней нормализации).

Решение

1. По данным, полученным для пика каждого компонента, рассчитаем параметры, характеризующие эффективность хроматографической колонки, и сведем их в вышеприведенную таблицу (5–7 столбцы).

А. Степень разделения R_1 и R_2 двух пар – нео-d,l-ментола и d,l-ментола, d,l-ментола и изо-d,l-ментола рассчитаем, заменив время удерживания τ на расстояние удерживания l , мм:

$$R_1 = \frac{\Delta l_1}{a(1)_{1/2} + a(2)_{1/2}} = \frac{97,5 - 81}{3 + 4} = 2,36,$$

$$R_2 = \frac{\Delta l_2}{a(2)_{1/2} + a(3)_{1/2}} = \frac{107 - 97,5}{4 + 4} = 1,19,$$

где Δl_1 и Δl_2 – разность расстояний удерживания для первой и второй пары компонентов соответственно; $a(1)_{1/2}$ и $a(2)_{1/2}$ и $a(3)_{1/2}$ – полуширины пиков нео-d,l-ментола, d,l-ментола и изо-d,l-ментола соответственно. Полученные значения степени разделения больше единицы; следовательно, пики всех трех компонентов разделяются.

Б. Рассчитаем число теоретических тарелок n и высоту, эквивалентную теоретической тарелке, H для каждого компонента смеси, заменив время удерживания τ на расстояние удерживания l , мм.

Для нео-d,l-ментола:

$$n = 5,545 \left(\frac{81}{3} \right)^2 = 4042, \quad H = \frac{3000}{4042} = 0,742 \text{ мм}$$

Для d,l-ментола:

$$n = 5,545 \left(\frac{97,5}{4} \right)^2 = 3295, \quad H = \frac{3000}{3295} = 0,910 \text{ мм}$$

Для изо-d,l-ментола:

$$n = 5,545 \left(\frac{107}{4} \right)^2 = 3968, \quad H = \frac{3000}{3968} = 0,756 \text{ мм}$$

2. Рассчитаем массовую долю W каждого компонента в процентах, воспользовавшись методом внутренней нормализации. Для этого вначале вычислим площадь каждого пика, приближенно считая пики равнобедренными треугольниками.

Для нео-d,l-ментола:

$$S_1 = a(1)_{1/2} h_1 = 3 \cdot 2 = 6 \text{ мм}^2$$

Для d,l-ментола:

$$S_2 = a(2)_{1/2} h_2 = 4 \cdot 198 = 792 \text{ мм}^2$$

Для изо-d,l-ментола:

$$S_3 = a(3)_{1/2} h_3 = 4 \cdot 53,5 = 214 \text{ мм}^2$$

Сумма площадей всех трех пиков равна:

$$\sum S_i = 6 + 792 + 214 = 1012 \text{ мм}^2$$

Массовая доля в процентах равна:

для нео-d,l-ментола

$$W_1 = \frac{S_1}{\sum S_i} \cdot 100\% = \frac{6}{1012} \cdot 100\% = 0,59\%;$$

для d,l-ментола

$$W_2 = \frac{S_2}{\sum S_i} \cdot 100\% = \frac{792}{1012} \cdot 100\% = 78,26\%;$$

для изо-d,l-ментола

$$W_3 = \frac{S_3}{\sum S_i} \cdot 100\% = \frac{214}{1012} \cdot 100\% = 21,15\%.$$

ЗАДАЧИ

1. В результате хроматографирования на бумаге анализируемого раствора, содержащего смесь трех катионов X^{2+} , Y^{2+} и Z^{2+} , с использованием в качестве ПФ смеси коллидин–вода и в качестве стандарта – раствор, содержащий катионы Str^{2+} , получено: $L = 100$ мм, $l(X^{2+}) = 52$ мм, $l(Y^{2+}) = 26$ мм, $l(Z^{2+}) = 65$ мм, $l(Str^{2+}) = 40$ мм. Рассчитайте значения относительных коэффициентов подвижности R_s для всех трех катионов и установите их природу, если известно, что для данных условий $R_s(Ba^{2+}) = 0,65$, $R_s(Ca^{2+}) = 1,31$, $R_s(Mg^{2+}) = 1,62$.

2. После хроматографирования на бумаге анализируемого раствора, содержащего смесь двух анионов X^- и Y^- , с применением в качестве ПФ смеси пиридина и воды (90:10 по объему) и в качестве стандарта – раствора, содержащего бромид-ионы Br^- , получено: $R_f(Br^-) = 0,47$, $R_f(X^-) = 0,21$, $R_f(Y^-)$

$= 0,70$. В тех же условиях для свидетелей хлорид-ионов Cl^- и иодид-ионов I^- найдены относительные коэффициенты подвижности $R_s(\text{Cl}^-) = 0,49$, $R_s(\text{I}^-) = 1,51$. Определите относительные коэффициенты подвижности анионов X^- , Y^- и установите их природу.

3. Рассчитайте число теоретических тарелок n , величину ВЭТТ, степень разделения R_s и массовую долю W в процентах (методом внутренней нормализации) при ГЖХ-разделении смеси изопропанола и н-пропанола в наполненной колонке длиной 1000 мм, если на хроматограмме получены следующие характеристики пиков разделяемых компонентов (l – расстояние удерживания, h и $a_{1/2}$ – высота и полуширина пиков соответственно), выраженные в одних и тех же единицах измерения:

для изопропанола $l = 17,5$, $h = 52,5$, $a_{1/2} = 2,5$;

для н-пропанола $l = 32,5$, $h = 40$, $a_{1/2} = 3,75$.

4. Провели анализ смеси пропанола и ацетона методом ГЖХ. Используя метод внутренней нормализации, рассчитайте массовую долю (в процентах) ацетона по следующим результатам хроматографии: расстояния удерживания равны 33 мм, 45 мм, высоты пиков равны 48 мм, 80 мм соответственно, ширины обоих пиков на половине высоты равны 5 мм.

5. Содержание примеси диоксана в субстанции трамадола определяют методом ГЖХ. Для приготовления анализируемого раствора в мерную колбу на 10 мл вносят точную навеску субстанции, доводят водой до метки. Готовят стандартный раствор с концентрацией диоксана 0,40 мкг/мл. Рассчитайте массу диоксана в навеске субстанции **в мкг**, если площади пиков на хроматограммах анализируемого S_x и стандартного $S_{ст}$ растворов получились 455 мм² и 489 мм² соответственно.

ТЕМА III.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Введение

Электрохимические методы анализа основаны на использовании процессов, протекающих на поверхности электрода или в приэлектродном пространстве. Любой электрический параметр (потенциал, сила тока, сопротивление и т.д.), функционально связанный с концентрацией анализируемого раствора и поддающийся правильному измерению, может служить аналитическим сигналом. Необходимое условие для электрохимических измерений – наличие электрохимической ячейки, составной частью которой является анализируемый раствор.

Различают *прямые и косвенные* методы. В прямых методах измеряют электрический параметр как функцию концентрации определяемого вещества в растворе. В косвенных методах измеряют электрический параметр с целью нахождения конечной точки титрования, т.е. используют зависимость измеряемого параметра от объема титранта.

Общепринятой классификацией является ***классификация по измеряемому электрохимическому параметру***.

Потенциометрический анализ – основан на зависимости равновесного потенциала индикаторного электрода от активности (концентрации) определяемого иона.

Кондуктометрический анализ – основан на измерении электрической проводимости растворов как функции их концентрации;

Вольтамперометрический анализ – основан на измерении тока как функции внешнего напряжения и концентрации раствора;

Кулонометрический анализ – основан на измерении количества электричества, затраченного на электролиз вещества.

Электрогравиметрический анализ – основан на измерении массы продукта электрохимической реакции.

В данном пособии приведены лабораторные работы только по следующим электрохимическим методам: прямая потенциметрия, потенциометрическое титрование, кулонометрическое титрование. Все эти методы – фармакопейные и применяются для контроля качества лекарственных средств.

Общая характеристика потенциометрического анализа

Принцип метода

Потенциометрический анализ (потенциметрия) основан на измерении ЭДС гальванического элемента, составленного из индикаторного электрода и электрода сравнения, как функции концентрации анализируемого вещества в растворе.

Индикаторный электрод – электрод, потенциал которого зависит от активности, а значит и от концентрации определяемого (потенциалоопределяющего) иона в анализируемом растворе. Эта зависимость описывается уравнением Нернста. *Электрод сравнения* – электрод, потенциал которого в условиях проведения анализа остается постоянным. Величина ЭДС, генерируемой в ячейке, равна разности потенциалов этих двух электродов. Поскольку потенциал электрода сравнения в условиях проведения потенциометрического определения остается постоянным, то ЭДС зависит только от потенциала индикаторного электрода, т.е. от активности (концентрации) определяемого иона в растворе.

Прямая потенциметрия

Определение концентрации вещества в прямой потенциметрии проводят обычно методом градуировочного графика.

Метод градуировочного графика. Готовят серию из 5–7 эталонных растворов с известным содержанием определяемого вещества. Ионную силу всех растворов поддерживают постоянной введением индифферентного электролита. Эталонные растворы последовательно вносят в электрохимиче-

скую (потенциометрическую) ячейку. Обычно эта ячейка представляет собой стеклянный химический стакан, в который помещают индикаторный электрод и электрод сравнения.

Измеряют ЭДС эталонных растворов. По полученным данным строят градуировочный график в координатах $E - \lg c$, где c – концентрация определяемого вещества в эталонном растворе. Обычно такой график представляет собой прямую линию.

Затем в электрохимическую ячейку вносят анализируемый раствор и измеряют ЭДС ячейки. По градуировочному графику методом перпендикуляров находят $\lg c(X)$, а затем и $c(X)$, где $c(X)$ – концентрация определяемого вещества в анализируемом растворе.

Потенциометрическое титрование

Потенциометрическое титрование – способ определения объема титранта, затраченного на титрование определяемого вещества в анализируемом растворе, путем измерения ЭДС гальванического элемента, составленного из индикаторного электрода и электрода сравнения. При потенциометрическом титровании анализируемый раствор, находящийся в электрохимической ячейке, титруют подходящим титрантом, фиксируя конечную точку титрования по резкому изменению ЭДС, которая зависит от концентрации соответствующих ионов и резко изменяется в точке эквивалентности.

Измеряют ЭДС в процессе титрования в зависимости от объема прибавленного титранта. По полученным данным строят кривую потенциометрического титрования и по этой кривой определяют объем израсходованного титранта в ТЭ. Кривая потенциометрического титрования – графическое изображение изменения ЭДС электрохимической ячейки в зависимости от объема прибавленного титранта.

Кривые потенциометрического титрования строят в различных координатах. В данном практикуме предусмотрено построение интегральной кривой в координатах $E - V(T)$.

При потенциометрическом титровании не требуется использование индикаторов, изменяющих окраску вблизи ТЭ.

Электродную пару (электрод сравнения и индикаторный электрод) составляют так, чтобы потенциал индикаторного электрода зависел от концентрации ионов, участвующих или образующихся в реакции, протекающей при титровании.

На рис. 10 приведена схематическая интегральная кривая потенциометрического титрования и графический способ определения объема титранта, соответствующего точке эквивалентности.

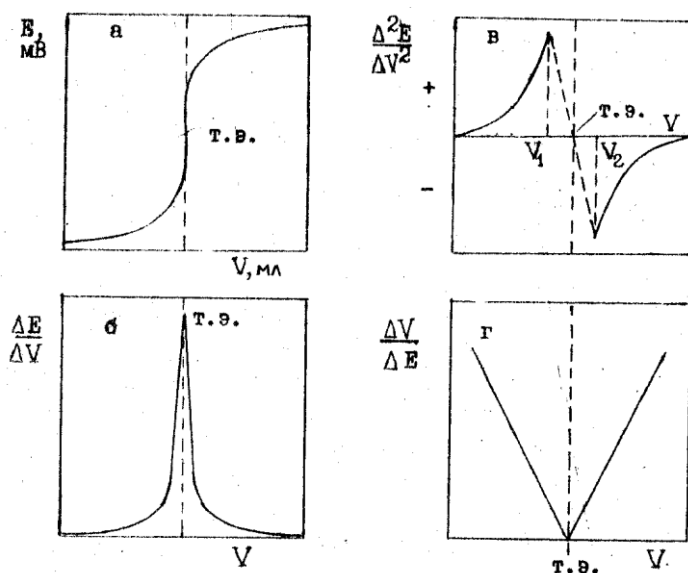


Рисунок 10. Типы кривых потенциометрического титрования

(E – измеряемая ЭДС, $V(T)$ – объём прибавленного титранта,

$V(ТЭ)$ – объём титранта, прибавленного в точке эквивалентности):

a – кривая титрования в координатах $E - V(T)$; $б, в$ – дифференциальные кривые титрования; $г$ – кривая титрования по методу Грана.

На изучение темы отводятся два лабораторных занятия: на одном занятии студенты выполняют первую лабораторную работу и решают типовые расчётные задачи по основным разделам потенциометрического анализа; на другом занятии студенты выполняют вторую лабораторную работу. Последовательность проведения занятий особого значения не имеет.

Занятие 1. ПРЯМАЯ ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ

К занятию необходимо знать:

1. Принцип методов потенциометрического анализа. Уравнение Нернста.
2. Разновидности методов потенциометрического анализа.
3. Индикаторные электроды и электроды сравнения, применяемые в прямой потенциометрии.
4. Сущность определения концентрации вещества методом прямой потенциометрии с помощью градуировочного графика.
5. Сущность определения содержания фторид-иона в растворе методом прямой потенциометрии с применением фторид-селективного электрода.

Лабораторная работа № 1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФТОРИД-ИОНА В РАСТВОРЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФТОРИД-СЕЛЕКТИВНОГО ЭЛЕКТРОДА

Цель работы: научиться применять метод прямой потенциометрии с использованием ионселективного электрода для количественного определения вещества методом градуировочного графика.

Целевые задачи

1. Приготовление методом разбавления серии эталонных растворов натрия фторида, по составу и ионной силе близких к анализируемому раствору.
2. Измерение электродвижущей силы (ЭДС) гальванического элемента, составленного из индикаторного фторид-селективного электрода и хлорсеребряного электрода сравнения, как функции концентрации фторид-иона.
3. Построение градуировочного графика в координатах: ЭДС – показатель концентрации фторид-иона.
4. Определение титра фторид-иона в анализируемом растворе с помощью градуировочного графика.

Сущность работы

Определение фторид-иона методом прямой потенциометрии основано на измерении электродвижущей силы гальванического элемента, в котором индикаторным электродом служит фторид-селективный электрод, а электродом сравнения – хлорсеребряный, как функции концентрации фторид-ионов в растворе.

Чувствительной частью фторидного электрода (рис. 11) является мембрана из монокристалла лантана(III) фторида, активированного европием(II).

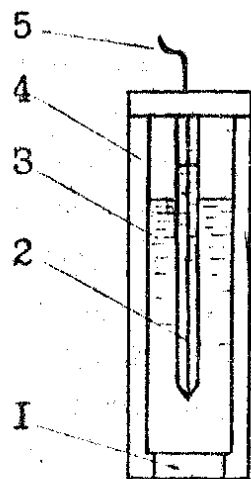


Рисунок 11. Схема устройства фторид-селективного электрода:

- 1 – мембрана из монокристалла LaF_3 ;
- 2 – внутренний полуэлемент (обычно хлорсеребряный);
- 3 – внутренний раствор с постоянной активностью ионов ($0,01$ моль/л NaF и 1 моль/л NaCl);
- 4 – корпус электрода;
- 5 – провод для подключения электрода к измерительному прибору.

Равновесный потенциал фторидного электрода в соответствии с уравнением Нернста для анионселективных электродов зависит от активности (концентрации) фторид-иона в растворе:

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln a(\text{F}^-)$$

или при 25°C

$$E = E^0 - 0,059 \lg a(\text{F}^-) = E^0 - 0,059 \lg f(\text{F}^-) - 0,059 \lg c(\text{F}^-)$$

где E^0 – стандартный потенциал фторидного электрода, В;

$a(\text{F}^-)$, $f(\text{F}^-)$, $c(\text{F}^-)$ – соответственно активность, коэффициент активности, молярная концентрация фторид-иона в растворе.

Первый член правой части уравнения E^0 – величина постоянная. Для растворов с примерно одинаковой ионной силой коэффициент активности фторид-иона, а, следовательно, и второй член правой части уравнения также является постоянной величиной. Тогда уравнение Нернста можно представить в виде:

$$E = \text{const} - 0,059 \lg c(\text{F}^-) = \text{const} + 0,059 \text{pF}$$

где $\text{pF} = -\lg c(\text{F}^-)$ – показатель концентрации фторид-иона в растворе.

Таким образом, при *постоянной ионной силе* растворов равновесный потенциал фторидного электрода находится в линейной зависимости от показателя концентрации фторид-иона. Существование такой зависимости позволяет проводить определение концентрации фторид-иона с помощью градуировочного графика, который строят в координатах ЭДС (E) – pF для серии стандартных растворов натрия фторида, по составу и ионной силе близких анализируемому раствору.

Фторидный электрод применяют в диапазоне значений pH 5–9.

Для поддержания постоянного значения pH и создания в стандартных и анализируемых растворах постоянной ионной силы обычно используют буферный раствор (например, ацетатный или цитратный). Селективность определения с помощью фторидного электрода очень высокая; мешают только гидроксид-ионы и те немногие катионы, которые образуют с фторид-ионом более устойчивые комплексные соединения, чем с компонентами буферного раствора (Al^{3+} , Fe^{3+}).

Диапазон определяемых концентраций фторид-иона очень широкий: от 10^{-6} до 1 моль/л; при этом процентная погрешность определения составляет $\pm 2\%$.

Фторид-селективный электрод широко применяется в анализе разнообразных объектов: питьевой воды, фармацевтических препаратов, биологических материалов, при контроле за загрязнением окружающей среды и т.д.

Поскольку в настоящей работе анализируются растворы натрия фторида, не содержащие посторонних ионов, буферный раствор можно не применять. В таком случае следует ожидать небольшого отклонения градуировочного графика от линейной зависимости, так как в стандартных растворах с увеличением концентрации фторид-иона увеличивается ионная сила и коэффициент активности фторид-иона не сохраняется постоянным.

Порядок выполнения работы

1. Собирают гальванический элемент из индикаторного фторид-селективного электрода и хлорсеребряного электрода сравнения, опускают в стакан вместимостью 50 мл с дистиллированной водой. Стакан ставят в центр столика на штативе. Правильно закреплённые электроды не должны касаться стенок и дна стакана.

2. Подготовка иономера (прибор №1) к измерениям. Фторидный электрод подключают к иономеру через разъем **ИЗМ** на задней панели прибора, электрод сравнения – через гнездо **СРАВН**. Прибор подключают к сети, а затем включают его кнопкой © на передней панели прибора и дают прогреться 15 минут. После включения прибор автоматически входит в режим измерения окислительно-восстановительных потенциалов. По истечении 15 минут после включения прибора измеряют потенциал электродной системы в дистиллированной воде. Измеряемый потенциал должен быть не ниже 305 мВ в случае электрода F-1, и в пределах $-(260 \pm 30)$ мВ в случае электрода F-2. В противном случае промывают электроды дистиллированной водой.

3. Приготовление серии стандартных растворов натрия фторида с постоянной ионной силой.

Серию стандартных растворов с концентрацией фторид-иона, равной 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} моль/л, готовят в мерных колбах вместимостью 50 мл из стандартного 0,1000 моль/л раствора натрия фторида путём последовательного разбавления буферным раствором (или дистиллированной водой).

Так, для приготовления 10^{-2} моль/л раствора в мерную колбу на 50 мл помещают пипеткой 5 мл 0,1000 моль/л раствора натрия фторида, предварительно ополоснув пипетку небольшим количеством этого раствора, доводят объём раствора до метки, содержимое колбы перемешивают. Таким же способом из 10^{-2} моль/л раствора готовят 10^{-3} моль/л раствор и т.д.

4. Измерение ЭДС электродной системы в эталонных растворах NaF.

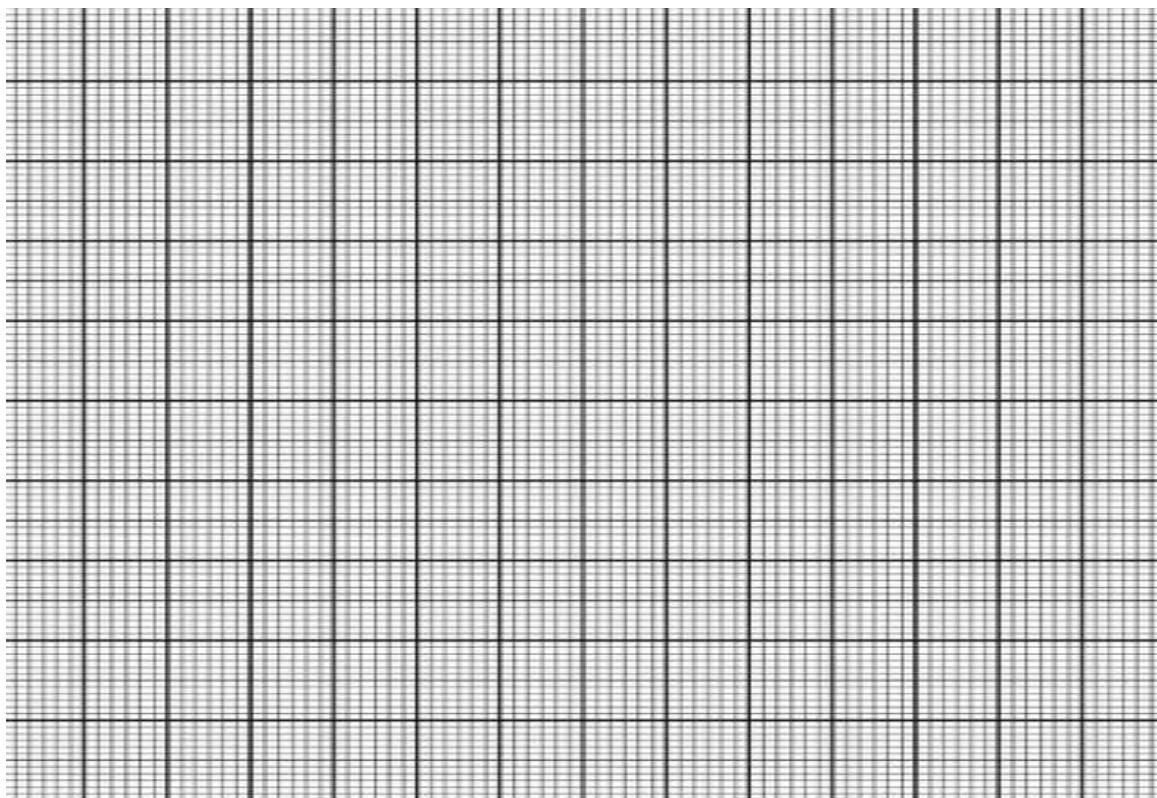
В стакан вместимостью 50 мл последовательно помещают приготовленные эталонные растворы натрия фторида, переходя от разбавленных растворов к более концентрированным. Тогда отпадает необходимость каждый раз промывать электроды и стакан дистиллированной водой. Достаточно лишь осторожно осушить поверхность фторидного и хлорсеребряного электродов фильтровальной бумагой и перед погружением в следующий раствор ополостуть стакан небольшим количеством этого раствора. Электроды погружают в измеряемый раствор и дожидаются установления стабильных значений потенциала, на что затрачивается обычно не более 3-х минут. Результаты измерений заносят в табл. 12.

Таблица 12. Результаты измерения ЭДС гальванического элемента как функции концентрации фторид-иона

$c(\text{F}^-)$, моль/л	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
pF				
E , мВ				

5. Построение градуировочного графика.

По данным табл. 12 строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс показатель концентрации фторид-иона pF , а по оси ординат – ЭДС в милливольтках (E , мВ). Получается прямая, тангенс угла наклона которой к оси абсцисс составляет 59 ± 2 мВ (при 25°C).



6. Определение содержания фторид-иона в анализируемом растворе с помощью градуировочного графика.

Анализируемый раствор, содержащий фторид-ион, получают от преподавателя в мерной колбе на 50 мл. Объем раствора доводят до метки буферным раствором (или дистиллированной водой), содержимое колбы перемешивают, споласкивают стакан небольшой порцией анализируемого раствора, осушают электроды фильтровальной бумагой, помещают анализируемый раствор в стакан и в полученном растворе измеряют ЭДС, дожидаясь стабильного значения потенциала.

Записывают значение $E_x =$ (мВ)

По градуировочному графику находят показатель концентрации фторид-иона, соответствующий E_x , и затем определяют молярную концентрацию $C(F^-)$ и рассчитывают содержание фторид-иона в растворе по формуле:

$$T(F^-) = \frac{c(F^-) \cdot M(F^-)}{1000},$$

где $T(F^-)$ – титр фторид-иона в анализируемом растворе, г/мл,

$c(F^-)$ – молярная концентрация фторид-иона, найденная с помощью градуировочного графика, моль/л,

$M(F^-)$ – молярная масса фторид-иона, г/моль.

Расчёт титра производят с точностью до двух значащих цифр.

Расчеты:

$$pF_x =$$

$$c(F^-) =$$

$$T(F^-) =$$

7. Определение содержания фторид-иона в анализируемом растворе по уравнению градуировочного графика.

Значение pF для анализируемого раствора можно найти по уравнению градуировочного графика, что представляется более точным, чем с помощью градуировочного графика. Это уравнение имеет вид:

$$Y = a + bx,$$

где Y – ЭДС цепи с испытуемым раствором (E , мВ),

a – ЭДС цепи при $pF = 0$ – отрезок, отсекаемый прямой по оси ординат (E_0 , мВ),

b – тангенс угла наклона прямой к оси абсцисс ($tg\alpha = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} \frac{E_i - E_0}{pF_i}$,

где n – число эталонных растворов, равное 4),

x – pF.

Таким образом:

$$E = E_0 + tg\alpha \cdot pF$$

Определяют по графику E_0 и рассчитывают $tg\alpha$:

$$E_0 =$$

$$tg\alpha =$$

Рассчитывают pF по формуле:

$$pF = \frac{E_x - E_0}{tg\alpha} =$$

Затем определяют молярную концентрацию и рассчитывают титр фторид-иона в растворе по формуле, указанной выше.

$$C(F^-) =$$

$$T(F^-) =$$

8. Завершение работы.

По окончании измерений электроды тщательно промывают дистиллированной водой. Электроды оставляют в стакане с дистиллированной водой.

Прибор выключают, нажимая кнопку включения и удерживая ее в течение 1–2 сек (при этом на дисплее гаснет вся информация). Отключают прибор от сети. Отключают от прибора электроды.

Контрольные вопросы

1. Какая математическая зависимость лежит в основе определения концентрации (активности) фторид-иона в растворе методом прямой потенциометрии?

2. Опишите устройство фторид-селективного электрода. От каких факторов зависит его потенциал?

3. Какой диапазон значений pH является оптимальным для определения фторид-иона с помощью фторид-селективного электрода?

4. Каким образом при определении фторид-иона в растворах со сложным солевым составом поддерживают оптимальное значение pH и постоянную ионную силу?

5. В каких координатах строят градуировочный график при определении концентрации фторид-иона методом прямой потенциометрии?

6. Назовите диапазон определяемых концентраций и процентную погрешность определения фторид-иона с помощью фторид-селективного электрода методом градуировочного графика.

7. Назовите области применения фторид-селективного электрода.

Занятие 2. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ

К занятию необходимо знать:

1. Принцип методов потенциометрического анализа. Уравнение Нернста. Разновидности методов потенциометрического анализа.
2. Принципиальную схему установки для потенциометрического титрования.
3. Индикаторные электроды, применяемые в потенциометрическом титровании в зависимости от типа реакции титрования; электроды сравнения.
4. Способы индикации точки эквивалентности в потенциометрическом титровании.
5. Преимущества потенциометрического титрования перед титриметрическим анализом с визуальной индикацией точки эквивалентности.
6. Сущность определения новокаина методом потенциометрического титрования.

Лабораторная работа № 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ НОВОКАИНА В ПРЕПАРАТЕ

Цель работы: научиться применять метод потенциометрического титрования для количественного определения вещества.

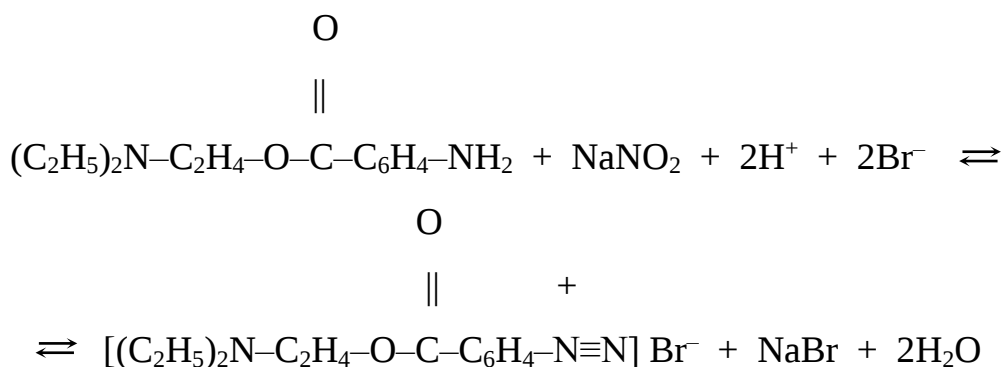
Целевые задачи:

1. Ориентировочное потенциометрическое титрование новокаина раствором натрия нитрита.
2. Точное потенциометрическое титрование новокаина раствором натрия нитрита.
3. Нахождение конечной точки потенциометрического титрования.
4. Расчёт массовой доли новокаина в препарате.

Сущность работы

Потенциометрическое титрование основано на индикации точки эквивалентности по резкому изменению (скачку) потенциала индикаторного электрода в процессе титрования.

Для определения новокаина – вещества, содержащего первичную ароматическую аминогруппу, применяют метод нитритометрического титрования, согласно которому новокаин титруют стандартным 0,1 моль/л раствором натрия нитрита в солянокислой среде в присутствии калия бромида (ускоряет протекание реакции) при температуре не выше 18–20°C. В таких условиях реакция титрования протекает количественно и достаточно быстро:



За ходом реакции диазотирования наблюдают с помощью индикаторного платинового электрода, который в паре с подходящим электродом сравнения (хлорсеребряным или каломельным) погружают в титруемый раствор, и измеряют электродвижущую силу (ЭДС, E) элемента в зависимости от объёма прибавленного титранта $V(T)$.

Потенциал индикаторного электрода согласно уравнению Нернста зависит от концентрации (активности) веществ, участвующих в реакции титрования. Вблизи ТЭ концентрация потенциалопределяющих веществ резко изменяется, что сопровождается резким изменением (скачком) потенциала индикаторного электрода. ЭДС элемента определяется разностью потенциалов между индикаторным электродом и электродом сравнения. Поскольку потенциал электрода сравнения сохраняется постоянным, скачок потенциала индикаторного электрода вызывает резкое изменение ЭДС элемента, что ука-

зывает на достижение ТЭ. Для большей точности определения ТЭ титрант в конце титрования прибавляют по каплям.

Графические способы, обычно применяемые для нахождения ТЭ, в данном случае применять вряд ли целесообразно, так как кривая титрования, построенная в координатах $E - V(T)$, асимметрична относительно ТЭ; установить ТЭ с достаточно высокой точностью довольно сложно.

Процентная погрешность определения новокаина в препарате методом потенциометрического титрования не превышает 0,5%.

Аналогично определению новокаина методом потенциометрического титрования можно определять многие другие органические соединения и лекарственные препараты, содержащие первичную ароматическую аминогруппу, например, сульфацил, норсульфазол, производные п-аминобензойной кислоты и другие.

Примечание. Реакция диазотирования протекает медленно. На скорость её протекания влияют различные факторы. Так, увеличение кислотности приводит к уменьшению скорости реакции. Поэтому при титровании стараются избегать большого избытка соляной кислоты; для ускорения реакции в реакционную смесь вводят калия бромид. Температура оказывает обычное влияние на скорость реакции: повышение температуры на 10°C приводит к увеличению скорости примерно в 2 раза. Однако титрование, как правило, проводят при температуре не выше 18–20°C, а во многих случаях ещё ниже, при охлаждении реакционной смеси до 0–10°C, так как образующиеся в результате реакции диазосоединения неустойчивы и при более высокой температуре разлагаются.

Титрование с применением реакции диазотирования проводят медленно: сначала со скоростью 1–2 мл в минуту, а в конце титрования – 0,05 мл в минуту.

Порядок выполнения работы

1. Подготовка иономера к измерениям.

1.1. Собирают гальванический элемент из индикаторного платинового электрода и хлорсеребряного электрода сравнения.

Индикаторный электрод подключают к иономеру через гнездо «Изм», находящееся на задней панели прибора. Электрод сравнения должен быть подключён к иономеру через гнездо «Всп».

Электроды многократно промывают дистиллированной водой из промывалки над стаканом на 200–250 мл, после чего под электроды подводят стакан на 150 мл с дистиллированной водой, который устанавливают в центре столика магнитной мешалки. Правильно закреплённые электроды не должны касаться стенок и дна стакана, а также магнитного стержня, применяемого в дальнейшем для перемешивания раствора.

1.2. Иономер включают в сеть *под наблюдением преподавателя*. Дают прибору прогреться в течение 30 мин.

2. Приготовление анализируемого раствора новокаина.

Готовят примерно 0,05 моль/л раствор новокаина в 2 моль/л растворе соляной кислоты. Для этого около 0,9 г препарата (навеску взвешивают в бюксе на аналитических весах с точностью до $\pm 0,0002$ г) помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 20–30 мл дистиллированной воды, 16,6 мл концентрированного раствора соляной кислоты ($\rho = 1,17$ г/мл), смесь перемешивают до полного растворения препарата, доводят объём раствора до метки дистиллированной водой, содержимое колбы перемешивают.

Результаты взвешивания навески:

$m_1 =$

$m_2 =$

$m_{\text{навески}} = m_1 - m_2 =$

3. Ориентировочное титрование.

В стакан вместимостью 150 мл помещают пипеткой 20 мл анализируемого раствора новокаина, прибавляют 60 мл дистиллированной воды с помощью цилиндра и около 2 г калия бромида. Электроды – индикаторный платиновый и вспомогательный хлорсеребряный – погружают в титруемый раствор, опускают магнитный стержень и устанавливают ячейку в центре столика магнитной мешалки. Если на то будет указание преподавателя, открывают боковое отверстие хлорсеребряного электрода, удалив из него резиновую пробку. Бюретку на 25 мл наполняют стандартным 0,1 моль/л раствором натрия нитрита и закрепляют в штативе так, чтобы нижний конец бюретки был опущен в стакан на 1–2 см ниже его края. Включают магнитную мешалку. Перемешивание не прекращают в течение всего процесса титрования.

Прибор включают в режим милливольтметра для измерения положительных потенциалов (+мВ). При ориентировочном титровании измерение ЭДС системы производят на широком диапазоне ($-1 \div 19$), раствор титранта прибавляют порциями по 1 мл, каждый раз измеряя ЭДС системы после того, как показание прибора примет установившееся значение.

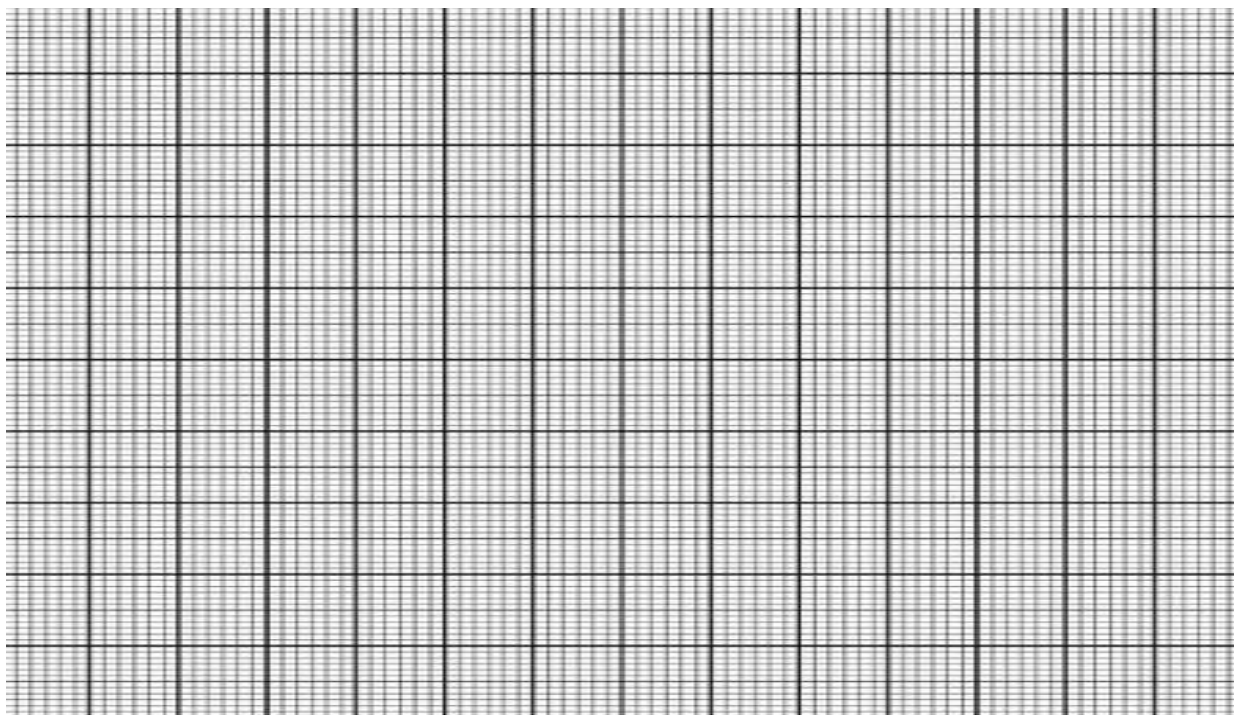
Наблюдают резкое изменение ЭДС (скачок титрования), а затем прибавляют ещё 5–7 мл титранта порциями по 1 мл и убеждаются в незначительном изменении измеряемой величины. По окончании титрования выключают магнитную мешалку. Результаты измерений заносят в табл. 13.

На основании результатов ориентировочного титрования устанавливают объём титранта, после добавления которого наблюдается скачок титрования. Этот объём считают близким к объёму, соответствующему конечной точке титрования (КТТ).

По результатам ориентировочного титрования строят кривую титрования в координатах E , мВ – $V(T)$, мл. Отмечают ассиметричный характер кривой, затрудняющий определение КТТ графическим способом с надлежащей точностью.

Таблица 13. Ориентировочное титрование

Объём титранта, мл	ЭДС (E), мВ	ΔE , мВ	Примечание
0	...		
		...	
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
...			



Кривая титрования раствора новокаина

4. Точное титрование.

В чистый стакан на 150 мл помещают новую порцию анализируемого раствора новокаина, дистиллированную воду, калия бромид в тех же количествах, что и при ориентировочном титровании. В раствор погружают электроды, предварительно промытые дистиллированной водой, опускают магнитный стержень и включают магнитную мешалку. При точном титровании измерение ЭДС проводят на узком диапазоне ($4 \div 9$) так.

Сначала к титруемому раствору со скоростью 1 мл в минуту прибавляют такой объём титранта, который должен быть на 1 мл меньше объёма, после добавления которого в ориентировочном титровании наступил скачок (объём до начала скачка, обозначают V'), после чего измеряют ЭДС элемента.

Далее титрант прибавляют порциями по 2 капли, каждый раз измеряя ЭДС после того, как показание прибора примет установившееся значение. Наблюдают резкое изменение ЭДС (скачок титрования), а затем продолжают титрование порциями по 2 капли и убеждаются в уменьшении и небольшом изменении ΔE . По окончании титрования отмечают общий объём добавленного титранта V'' с точностью до сотых долей мл.

Результаты титрования заносят в табл. 14.

Таблица 14. Точное титрование

Объём титранта	ЭДС (E), мВ	ΔE , мВ	Примечание
... мЛ	...		
		...	
2 капли	...		
4			
6			
8			
10			
12			
14			
16			
18			
20			
22			
24			
26			
28			
30			
... капель			
.... мЛ			

5. Окончание работы: выключают магнитную мешалку, закрывают отверстие хлорсеребряного электрода резиновой пробкой и выключают прибор.

6. Расчёт результата анализа.

На основании данных точного титрования вычисляют сначала объём одной капли (V_0), а затем объём титранта, соответствующий КТТ (V), по формулам:

$$V_0 = \frac{V'' - V'}{n};$$

$$V = V' + \left(r + \frac{q}{2}\right) \cdot V_0,$$

где V' – объём титранта, после прибавления которого титрование продолжают по каплям, мл;

V'' – объём титранта в конце титрования, мл;

n – общее число добавленных капель титранта;

r – число капель титранта, добавленных до появления скачка титрования;

q – число капель, составляющих порцию раствора титранта, вызвавшую скачок титрования.

Расчёт по данным табл. 14.

$$V_0 = -$$

$$V =$$

Объём титранта (V_i), затраченный на титрование, определяют для каждого i -го титрования.

Массовую долю в процентах новокаина в препарате ($W\%$) рассчитывают с точностью до сотых долей процента по формуле:

$$W\% = \frac{c \cdot V_i \cdot M \cdot V_k \cdot 100}{V_n \cdot m}$$

где c – молярная концентрация титранта – стандартного раствора натрия нитрита, моль/л;

V_i – объём титранта, затраченный на i -ое точное титрование, мл;

V_n – объём аликвотной доли раствора новокаина, мл;

V_k – общий объём анализируемого раствора новокаина, мл;

M – молярная масса новокаина, равная 272,78 г/моль;

m – масса навески препарата, содержащего новокаин, г.

Расчёты:

$$W, \%(\text{нов}) =$$

Контрольные вопросы

1. Какая химическая реакция лежит в основе определения новокаина методом потенциометрического титрования?

2. Какие электроды применяли в процессе титрования новокаина раствором натрия нитрита?

3. В каких условиях реакция диазотирования (с участием новокаина) протекает количественно и достаточно быстро?

4. Какой вид имеет кривая титрования новокаина раствором натрия нитрита, построенная в координатах ЭДС – объём титранта?

5. Какие преимущества имеет потенциометрический способ индикации точки эквивалентности по сравнению с визуальным при определении новокаина методом нитритометрического титрования?

6. Какие вещества можно определять методом потенциометрического титрования по аналогии с определением новокаина?

Занятие 3. КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Общая характеристика кулонометрического анализа

Принцип метода

Кулонометрический анализ (кулонометрия) основан на использовании зависимости между массой m вещества, прореагировавшего при электролизе в электрохимической ячейке, и количеством электричества Q , прошедшего через электрохимическую ячейку при электролизе только этого вещества. В соответствии с объединенным законом электролиза М. Фарадея масса m (в граммах) связана с количеством электричества Q (в кулонах) соотношением (1):

$$m = \frac{QM}{nF}, \quad (1)$$

где M – молярная масса вещества, прореагировавшего при электролизе, г/моль;

n – число электронов, участвующих в электродной реакции;

$F = 96487$ Кл/моль – число Фарадея.

Если измерено количество электричества Q , то согласно (1) можно рассчитать массу m . Это справедливо в том случае, когда все количество электричества Q , прошедшее при электролизе через электрохимическую ячейку, израсходовано только на электролиз данного вещества; побочные процессы должны быть исключены. Другими словами, выход (эффективность) по току должен быть равен 100% – это главные условия кулонометрических определений.

Кулонометрический анализ проводят либо в амперостатическом (гальваностатическом) режиме, т.е. при постоянном электрическом токе $i = \text{const}$, либо при контролируемом постоянном потенциале рабочего электрода (потенциостатическая кулонометрия), когда электрический ток изменяется (уменьшается) в процессе электролиза.

При постоянном токе количество электричества Q (в Кл), прошедшее при электролизе через электрохимическую ячейку, равно произведению электрического тока i (в А) на время электролиза τ (в с):

$$Q = i \cdot \tau \quad (2)$$

В этом случае для определения количества электричества Q достаточно как можно более точно измерить время электролиза τ (с), постоянный ток i (А) и рассчитать величину Q по формуле (2). Во втором случае величину Q определяют либо расчетным способом, либо с помощью химических *кулонометров*.

Различают прямую кулонометрию и косвенную кулонометрию (кулонометрическое титрование).

Прямая кулонометрия

Сущность метода. Прямую кулонометрию при постоянном токе применяют редко. Чаще используют *кулонометрию при контролируемом постоянном потенциале рабочего электрода, или прямую потенциостатическую кулонометрию*.

В прямой потенциостатической кулонометрии электролизу подвергают непосредственно определяемое вещество. Измеряют количество электричества, затраченное на электролиз этого вещества, и по уравнению (1) рассчитывают массу m определяемого вещества.

В процессе электролиза потенциал рабочего электрода поддерживают постоянным, $E = \text{const}$, для чего обычно используют приборы – потенциостаты.

Применение прямой кулонометрии. Метод обладает высокими селективностью, чувствительностью (до $10^{-8} - 10^{-9}$ г или до $\sim 10^{-5}$ моль/л), воспроизводимостью (до $\sim 1-2\%$), позволяет определять содержание микропримесей. К недостаткам метода относятся большие трудоемкость и длительность проведения анализа, необходимость наличия дорогостоящей аппаратуры.

Прямую кулонометрию можно применять для определения ионов металлов, органических нитро- и галогенпроизводных, хлорид-, бромид-, иодид-, тиоцианат-анионов, ионов металлов в низших степенях окисления при переводе их в более высокие состояния окисления, например: $\text{As(III)} \rightarrow \text{As(V)}$, $\text{Cr(II)} \rightarrow \text{Cr(III)}$, $\text{Fe(II)} \rightarrow \text{Fe(III)}$, $\text{Tl(I)} \rightarrow \text{Tl(III)}$ и т.д.

В фармацевтическом анализе прямую кулонометрию применяют для определения аскорбиновой и пикриновой кислот, новокаина, оксихинолина и в некоторых других случаях.

Кулонометрическое титрование

Сущность метода. При кулонометрическом титровании определяемое вещество X , находящееся в растворе в электрохимической ячейке, реагирует с «титрантом» T – веществом, непрерывно образующемся (генерируемом) на генераторном электроде при электролизе вспомогательного вещества, также присутствующего в растворе. Окончание титрования – момент, когда все определяемое вещество X полностью прореагирует с генерируемым «титрантом» T , фиксируют либо визуально индикаторным методом, вводя в раствор соответствующий индикатор, меняющий окраску вблизи ТЭ, либо с помощью инструментальных методов – потенциметрически, амперометрически, фотометрически.

Таким образом, при кулонометрическом титровании титрант не прибавляется из бюретки в титруемый раствор. Роль титранта играет вещество Т, непрерывно генерируемое при электродной реакции на генераторном электроде.

Чаще кулонометрическое титрование проводят в амперостатическом режиме.

Вместо объема прибавленного титранта в кулонометрическом титровании измеряют время τ и ток i электролиза. Процесс образования вещества Т в кулонометрической ячейке во время электролиза называется *генерация титранта*.

Кулонометрическое титрование при постоянном токе. При кулонометрическом титровании в амперостатическом режиме (при постоянном токе) измеряют время τ , в течение которого проводился электролиз, и количество электричества Q , израсходованное при электролизе, рассчитывают по формуле (2), после чего находят массу определяемого вещества X по соотношению (1).

Электрохимическая ячейка включается в электрическую цепь установки для кулонометрического титрования, способную поддерживать ток постоянным и требуемой величины.

Условия проведения кулонометрического титрования должны обеспечить 100%-ый выход по току. Для этого необходимо выполнять, по крайней мере, следующие требования.

А. Вспомогательный реагент, из которого на рабочем электроде генерируется титрант, должен присутствовать в растворе в большом избытке по отношению к определяемому веществу (~1000-кратный избыток). В этих условиях обычно устраняются побочные электрохимические реакции.

Б. Величина постоянного тока $i = \text{const}$ при проведении электролиза должна быть меньше величины диффузионного тока вспомогательного реагента во избежание протекания реакции с участием ионов фонового электролита.

В. Необходимо как можно точнее определять количество электричества, израсходованное при проведении электролиза, для чего требуется точно фиксировать начало и конец отсчета времени и величину тока электролиза.

Применение кулонометрического титрования. В кулонометрическом титровании можно использовать все типы реакций титриметрического анализа: кислотно-основные, окислительно-восстановительные, осадительные, реакции комплексообразования. См. учебник [1].

Кулонометрическое титрование обладает высокой точностью, широким диапазоном применения в количественном анализе, позволяет определять малые количества веществ, малостойкие соединения (поскольку они вступают в реакции сразу же после их образования), например, меди(I), серебра(II), олова(II), титана(III), марганца(III), хлора, брома и др.

К достоинствам метода относится также и то, что не требуются приготовление, стандартизация и хранение титранта, так как он непрерывно образуется при электролизе и сразу же расходуется в реакции с определяемым веществом.

Недостатком метода можно считать необходимость использования сравнительно сложной и дорогостоящей аппаратуры.

Лабораторная работа № 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССЫ НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТА В РАСТВОРЕ МЕТОДОМ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ

Цель работы. На основе знания теоретических основ метода кулонометрического титрования и выработки практических умений научиться обоснованно выбирать и практически применять данный метод анализа для количественного определения вещества; научиться практически применять метод кулонометрического титрования с визуальной индикацией КТТ для определения миллиграммовых количеств натрия тиосульфата в растворе.

Целевые задачи

1. Ориентировочное титрование тиосульфат-иона электрогенерированным на платиновом аноде йодом с индикацией КТТ с помощью крахмала.
2. Предэлектролиз фонового раствора с последующим точным титрованием тиосульфат-иона в тех же условиях.
3. Расчёт массы натрия тиосульфата в растворе.
4. Статистическая обработка результатов параллельных определений массы натрия тиосульфата в растворе.

Задание для самоподготовки

К занятию необходимо знать:

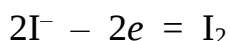
1. Принцип методов кулонометрии.
2. Сущность метода кулонометрического титрования при определении:
а) натрия тиосульфата; б) хлороводородной кислоты.

Сущность лабораторной работы

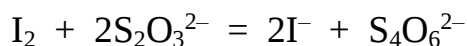
Для определения массы тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ в анализируемом растворе аликвотную часть этого раствора вносят в генерационный сосуд (стакан) для титрования, в котором имеется фоновый раствор, содержащий вспомогательный реагент – иодид калия KI в большом ~ 1000 -кратном избытке, индикатор – крахмал и в который помещен платиновый генераторный электрод (анод). Получают испытуемый раствор в генерационном сосуде.

Вспомогательный электрод – вольфрамовый катод – погружают в другой – вспомогательный сосуд с индифферентным сильным электролитом. Оба сосуда соединяют электролитическим мостиком, заполненным раствором сильного электролита. Генераторный анод и вспомогательный катод подключают в электрическую цепь установки для кулонометрического титрования в амперостатическом (гальваностатическом) режиме – ток электролиза постоянный (от 3 до 10 мА).

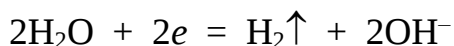
При электролизе иодид-ионы вспомогательного реагента разряжаются на платиновом аноде:



При этом генерируется «титрант» – иод, вступающий в реакцию с тиосульфат-ионами, присутствующими в растворе:



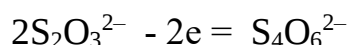
На вспомогательном платиновом катоде протекает электродная реакция:



с образованием газообразного водорода.

После того как все тиосульфат-ионы прореагируют с генерированным иодом, первая же порция избыточного иода, образование которого продолжается на генераторном аноде, взаимодействует с крахмалом, вследствие чего раствор окрашивается в синий цвет. Этот момент соответствует КТТ. При появлении синей окраски раствора титрование прекращают: электрическую цепь размыкают и фиксируют время электролиза – время от момента замыкания цепи до КТТ.

Рассчитывают количество электричества $Q = i\tau$ (в кулонах) и массу m тиосульфата натрия (в граммах), соответствующую взятой аликвоте анализируемого раствора, по формулам (2) и (1), учитывая, что число электронов, приходящихся в окислительно-восстановительной реакции на один тиосульфат-ион, равно $n = 1$, исходя из полуреакции:



Вначале проводят ориентировочное титрование испытуемого раствора с целью оценки времени, требуемого на его титрование, после чего проводят точное титрование, повторяя его не менее 5 раз и прибавляя очередную аликвоту анализируемого раствора в тот же генерационный сосуд, не удаляя раствор, оставшийся от предыдущего титрования. Время электролиза в процессе титрования измеряют с помощью секундомера, который включают или выключают одновременно с замыканием или размыканием цепи.

Порядок выполнения лабораторной работы

1. Подготавливают установку для кулонометрического титрования к работе согласно схеме на рис. 12.

В простейшую установку для кулонометрического титрования (рис. 12) с визуальной индикацией конечной точки титрования входят соединённые последовательно:

- 1 – регулируемый источник постоянного тока УИП-1;
- 2 – электролитическая ячейка;
- 3 – высокоомное стандартное сопротивление порядка 20 кОм;
- 4 – миллиамперметр для измерения тока от 0 до 50 мА;
- 5 – тумблер для замыкания цепи.

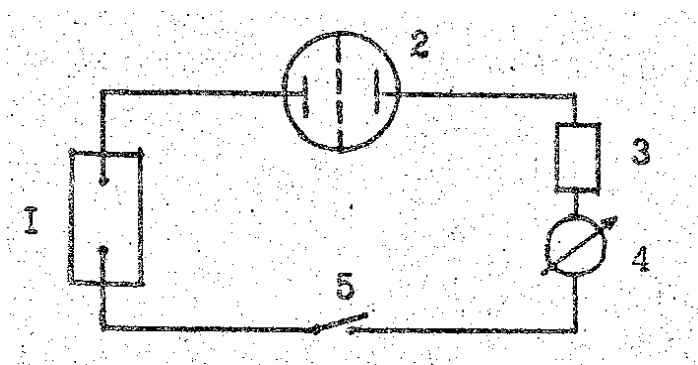


Рисунок 12. Схема установки для кулонометрического титрования с визуальной индикацией КТТ

Подсоединяют прибор к сети с помощью кабеля питания, штепсель которого вставляют в гнездо питания.

Включают УИП, переводя тумблер «сеть» в верхнее положение, при этом загорается индикаторная лампочка.

Дают прибору прогреться 20 минут. По истечении 20 минут после включения прибора УИП-1 в сеть устанавливают ручку переключателя диапазонов напряжения в положение «150–300 В» (или «300–400 В»).

2. Подготавливают электролитическую ячейку согласно схеме на рис. 13.

Генераторный платиновый электрод 1 (в рассматриваемом случае – анод) и вспомогательный вольфрамовый электрод 2 (в рассматриваемом случае – катод) помещены соответственно в генерационный (генераторный) сосуд 3 и вспомогательный сосуд 4. В Генерационный сосуд 3 помещается испытуе-

мый раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, вспомогательный реагент KI и индикатор крахмал. Генерационный и вспомогательный сосуды соединены электролитическим (солевым) мостиком 5, заполненным сильным индифферентным электролитом для обеспечения электрического контакта между электродами – K_2SO_4 . Вспомогательный сосуд также содержит K_2SO_4 . Концы трубки электролитического мостика закрыты пробками из фильтровальной бумаги. В генерационном сосуде имеется магнитный стержень 6 для перемешивания раствора посредством магнитной мешалки.

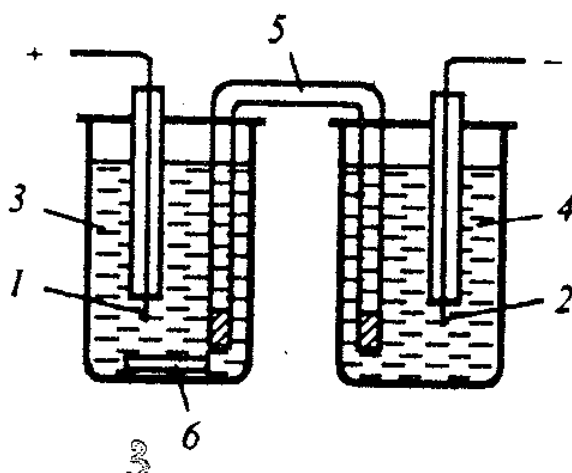


Рисунок 13. Схема электрохимической ячейки для кулонометрического титрования с визуальной индикаторной фиксацией окончания титрования:

- 1 – рабочий генераторный платиновый анод;
- 2 – вспомогательный вольфрамовый катод;
- 3 – генерационный сосуд с испытуемым раствором;
- 4 – вспомогательный сосуд с раствором индифферентного электролита;
- 5 – электролитический мостик;
- 6 – стержень магнитной мешалки.

При подключении ячейки к прибору УИП-1 обращают внимание на то, что при титровании тиосульфат-иона электрогенерированным йодом платиновый генераторный электрод является анодом, поэтому подключают его к УИПу в гнездо, помеченное знаком «+», катод подключают в гнездо со знаком «-».

3. Получают от преподавателя в мерной колбе на 100 мл анализируемый раствор натрия тиосульфата, разбавляют его водой до метки, перемешивают и полученным раствором заполняют бюретку над генерационным сосудом.

4. Проводят *ориентировочное титрование* тиосульфат-иона в анализируемом растворе. В стакан для титрования (генерационный сосуд) помещают 10 мл 0,2 моль/л раствора калия иодида и 1 мл 1%-ного раствора крахмала, после чего приливают из бюретки 2 мл анализируемого раствора натрия тиосульфата и добавляют столько воды, сколько необходимо для того, чтобы рабочая часть генераторного электрода была полностью погружена в раствор. Включают высокое напряжение, переводя тумблер «анод» в верхнее положение. *Титрование проводят путем замыкания цепи тумблером 5, одновременно включают секундомер.* Вращением ручки плавной регулировки напряжения устанавливают строго определённое значение тока 3 мА, которое фиксируют по миллиамперметру (4) (рис. 12), включённому в генерационную цепь. Во время электролиза следят, чтобы значение тока было постоянным и при необходимости корректируют его потенциометром.

Конец титрования устанавливают по резкому изменению окраски индикатора. Для облегчения наблюдения за изменением окраски под генерационный сосуд заблаговременно подкладывают лист белой бумаги. В момент достижения КТТ *одновременно (!)* размыкают генерационную цепь и останавливают секундомер. Отмечают время электролиза.

5. Проводят *точное титрование* тиосульфат-иона в анализируемом растворе, для чего добавляют в генерационный сосуд из бюретки в тот же стакан новую аликвотную долю анализируемого раствора 2 мл, не удаляя смесь, оставшуюся от предыдущего титрования, аналогично ориентировочному титрованию. В процессе проведения электролиза не забывают следить за постоянством значения тока.

При появлении синей окраски раствора цепь размыкают и фиксируют время электролиза. Точное титрование повторяют не менее 5 раз.

6. Результаты титрования (время электролиза) записывают в лабораторный журнал в табл. 15.

Таблица 15. Результаты кулонометрического титрования

Номер алик- вотной доли р-ра i	Объём алик- вотной доли р-ра $V_{a,i}$, л	Ток электролиза I , А	Время электролиза τ_i , с	Масса тиосуль- фата натрия в р-ре m_i , мг
1				
2				
3				
4				
5				
6				

7. Вычисляют количество электричества, затраченное на титрование i -ой аликвотной доли анализируемого раствора, массу определяемого вещества m_i в анализируемом растворе, также можно вычислить молярную концентрацию эквивалента $c_i(\frac{1}{z} X)$ по формулам:

$$Q_i = I \cdot \tau_i, \text{ Кл}$$

$$c_i\left(\frac{1}{z} X\right) = \frac{Q_i}{F \cdot V_{a,i}}, \text{ моль/л}$$

$$m_i = c_i\left(\frac{1}{z} X\right) \cdot \frac{M}{n} \cdot V \cdot 10^3, \text{ мг, где}$$

I – ток электролиза, А;

τ_i – время электролиза при титровании i -ой аликвотной доли анализируемого раствора, с;

F – число Фарадея, равное округленно 96500 Кл/моль;

$V_{a,i}$ – объём i -ой аликвотной доли анализируемого раствора, л;

M – молярная масса определяемого вещества, г/моль;

V_k – общий объём анализируемого раствора, л.

Выполняют расчёт **массы тиосульфата натрия** в миллиграммах по формуле:

$$m_i (\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = \frac{I \cdot \tau_i \cdot M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V_k}{F \cdot V_{a,i}} \cdot 10^3$$

$$m_i (\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) =$$

8. По окончании титрования выключают прибор УИП-1, для чего ручку потенциометра вращают против часовой стрелки до упора, переключатель устанавливают в положение «20–150 В», тумблер «анод», а затем тумблер сетевого напряжения переводят в нижнее положение и вынимают вилку кабеля питания прибора из сети.

9. Проводят статистическую обработку результатов параллельных определений массы натрия тиосульфата в растворе.

Контрольные вопросы

1. Назовите вспомогательный реагент, используемый при кулонометрическом титровании тиосульфат-иона.

2. Напишите реакцию образования титранта из вспомогательного реагента при кулонометрическом титровании тиосульфат-иона.

3. Почему при кулонометрическом титровании тиосульфат-иона калия иодид добавляют в большом избытке?

5. Какие электрохимические реакции протекают на генераторном и вспомогательном электродах при кулонометрическом титровании тиосульфат-иона?

7. Какие способы индикации момента окончания химической реакции применяются при кулонометрическом титровании тиосульфат-иона?

8. Перечислите возможные источники погрешностей при определении натрия тиосульфата методом кулонометрического титрования.

РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ

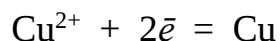
Примеры

А. Потенциометрический анализ (потенциометрия)

1. Рассчитайте условный реальный потенциал медного электрода (электрод первого рода) $\text{Cu}^{2+} | \text{Cu}$ при комнатной температуре, если концентрация и коэффициент активности катионов меди равны соответственно $c(\text{Cu}^{2+}) = 0,1$ моль/л, $f(\text{Cu}^{2+}) = 0,45$. Условный стандартный потенциал медного электрода при комнатной температуре равен $E^\circ = 0,345$ В.

Решение

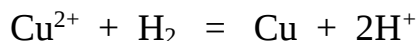
В рассматриваемом обратимо работающем гальваническом элементе на правом электроде протекает реакция:



На левом электроде:



Суммарная электродная реакция в элементе:



ЭДС такой цепи, т.е. условный реальный потенциал медного электрода, при комнатной температуре равна:

$$E = E^\circ - \frac{0,059}{2} \lg \frac{a(\text{Cu})a(\text{H}^+)^2}{a(\text{Cu}^{2+})a(\text{H}_2)},$$

где E° – стандартная ЭДС, равная условному стандартному потенциалу медного электрода.

Активность чистой металлической меди $a(\text{Cu}) = 1$ (принимается для всякого чистого твердого вещества). По условию $a(\text{H}_2) \approx p(\text{H}_2) = 1$ атм, поскольку активность газа при невысоких давлениях принимается равной его парциальному давлению, $a(\text{H}^+) = 1$ и $E^\circ = 0,345$ В. Следовательно:

$$E = 0,345 - \frac{0,059}{2} \lg \frac{1}{a(\text{Cu}^{2+})} = 0,345 + \frac{0,059}{2} \lg a(\text{Cu}^{2+}).$$

Активность катионов меди равна:

$$a(\text{Cu}^{2+}) = f(\text{Cu}^{2+}) c(\text{Cu}^{2+}) = 0,45 \cdot 0,1 = 0,045.$$

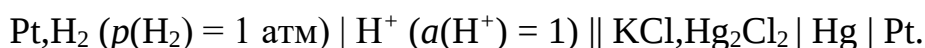
Окончательно получаем для условного реального потенциала медного электрода:

$$E = 0,345 + 0,0295 \lg 0,045 = 0,305 \text{ В.}$$

2. Рассчитайте условный реальный потенциал электрода второго рода – каломельного электрода $\text{Hg} | \text{Hg}_2\text{Cl}_2, \text{KCl}$ при температуре $T = 298 \text{ К}$, если концентрация $c(\text{KCl}) = 0,1 \text{ моль/л}$, коэффициент активности хлорид-ионов $f(\text{Cl}^-) = 0,755$, стандартный потенциал каломельного электрода $E^\circ = 0,2682 \text{ В}$.

Решение

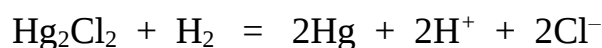
Условный реальный потенциал каломельного электрода есть ЭДС гальванической цепи, составленной из стандартного водородного электрода (в схеме элемента записывается слева) и каломельного электрода (в схеме элемента записывается справа):



В элементе протекают электродные реакции:



Суммарная электрохимическая реакция:



Уравнение Нернста для ЭДС имеет вид:

$$E = E^\circ - \frac{0,059}{2} \lg \frac{a(\text{Hg})^2 a(\text{H}^+)^2 a(\text{Cl}^-)^2}{a(\text{Hg}_2\text{Cl}_2) a(\text{H}_2)},$$

где E° – стандартная ЭДС, равная условному стандартному потенциалу каломельного электрода; $a(\text{Hg}) = 1$, $a(\text{Hg}_2\text{Cl}_2) = 1$ (как обычно для чистых твердых веществ); $a(\text{H}^+) = 1$, $a(\text{H}_2) \approx p(\text{H}_2) = 1$ (для стандартного водородного электрода).

Следовательно:

$$E = E^\circ - \frac{0,059}{2} \lg a(\text{Cl}^-)^2 = E^\circ - 0,059 \lg a(\text{Cl}^-).$$

По условию $E^o = 0,2682$ В. Активность хлорид-ионов:

$$a(\text{Cl}^-) = f(\text{Cl}^-) c(\text{Cl}^-) = 0,755 \cdot 0,1 = 0,0755 \text{ В.}$$

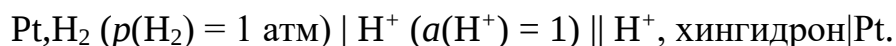
Окончательно получаем:

$$E = 0,2682 - 0,059 \lg 0,0755 = 0,3344 \text{ В.}$$

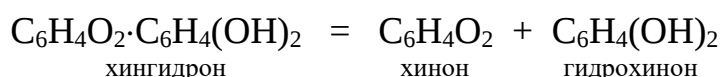
3. Рассчитайте условный реальный потенциал хингидронного электрода (окислительно-восстановительный электрод) при комнатной температуре, если его стандартный потенциал при этой температуре равен $E = 0,699$ В, а значение рН раствора составляет $\text{pH} = 3,0$.

Решение

Реальный условный потенциал хингидронного электрода
 $\text{Pt} | \text{хингидрон}, \text{H}^+$:



В растворе хингидрона устанавливается равновесие:

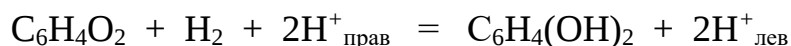


На правом электроде протекает реакция:



На левом электроде протекает реакция: $\text{H}_2 = 2\text{H}^+ + 2\bar{e}; \quad a(\text{H}^+)_{\text{лев}} = 1.$

Суммарная электрохимическая реакция:



ЭДС рассматриваемой цепи (реальный условный потенциал хингидронного электрода) равна ($n = 2$):

$$E = E^o - \frac{0,059}{2} \lg \frac{a(\text{гх})a(\text{H}^+_{\text{лев}})^2}{a(\text{х})a(\text{H}_2)a(\text{H}^+_{\text{прав}})^2},$$

где $a(\text{гх})$ и $a(\text{х})$ – активности гидрохинона и хинона соответственно.

Концентрации хинона и гидрохинона равны. Так как хингидрон мало-растворим в воде, то концентрации хинона и гидрохинона малы и поэтому их коэффициенты активности близки к единице. В силу сказанного активности хинона и гидрохинона – одинаковы: $a(\text{гх}) = a(\text{х})$.

По условию $a(\text{H}^+_{\text{лев}}) = 1, a(\text{H}_2) \approx p(\text{H}_2) = 1.$

Таким образом:

$$E = E^{\circ} - \frac{0,059}{2} \lg \frac{1}{a(\text{H}_{\text{прав}}^+)^2} = E^{\circ} + 0,059 \lg a(\text{H}_{\text{прав}}^+).$$

Поскольку $\lg a(\text{H}^+) = -\text{pH}$, то для условного реального потенциала хингидронного электрода в общем случае (при комнатной температуре) имеем:

$$E = E^{\circ} - 0,059 \text{ pH}.$$

Согласно условию $E^{\circ} = 0,699 \text{ В}$, $\text{pH} = 3$. Тогда окончательно получаем:

$$E = 0,699 - 0,059 \cdot 3 = 0,522 \text{ В}.$$

Г. Кулонометрический анализ (кулонометрия)

4. Определение массы тиосульфата натрия в растворе методом кулонометрического титрования. Анализируемый водный раствор объемом $V = 100 \text{ мл}$ содержит тиосульфат натрия. Требуется рассчитать массу m тиосульфата натрия в анализируемом растворе, если на холостое титрование затратили время $\tau' = 10 \text{ с}$, а среднее время, затраченное на титрование 2 мл прибавленного анализируемого раствора, оказалось равным $\tau = 120 \text{ с}$ при значении постоянного тока $i = 3 \text{ мА}$.

Решение

Рассчитаем количество электричества Q , затраченное на электролиз тиосульфат-ионов:

$$Q = i(\tau - \tau') = 3 \cdot 10^{-3}(120 - 10) = 0,330 \text{ Кл},$$

где $i = 3 \text{ мА} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ А}$, $\tau = 120 \text{ с}$, $\tau' = 10 \text{ с}$.

Вычислим массу m' тиосульфата натрия, соответствующую 2 мл прибавленного анализируемого раствора:

$$m' = \frac{QM}{nF} = \frac{0,330 \cdot 158,11}{1 \cdot 96487} = 5,4 \cdot 10^{-4} \text{ г} = 0,54 \text{ мг},$$

Найдем массу m тиосульфата натрия в исходном анализируемом растворе объемом 100 мл . Поскольку в 2 мл анализируемого раствора содержится $0,54 \text{ мг}$ тиосульфата натрия, то 100 мл анализируемого раствора содержат:

$$m = 0,54 \cdot 50 = 27 \text{ мг} \quad \text{тиосульфата натрия}.$$

ЗАДАЧИ

1. Рассчитайте условный реальный потенциал серебряного электрода (первого рода) $\text{Ag}^+|\text{Ag}$ при комнатной температуре, если концентрация и коэффициент активности катионов серебра равны $c(\text{Ag}^+) = 0,1$ моль/л, $f(\text{Ag}^+) = 0,75$; условный стандартный потенциал рассматриваемого электрода при комнатной температуре равен $E^\circ = 0,7994$ В. (*Ответ: 0,733 В*)
2. Рассчитайте условный реальный потенциал хлорсеребряного электрода (второго рода) $\text{Ag}|\text{AgCl}, \text{KCl}$ при комнатной температуре, если концентрация хлорида калия $c(\text{KCl}) = 0,1$ моль/л, коэффициент активности хлорид-ионов равен $f(\text{Cl}^-) = 0,755$; условный стандартный потенциал рассматриваемого электрода при комнатной температуре равен $E^\circ = 0,222$ В. (*Ответ: 0,2882 В*)

3. Чему равно соотношение активностей ионов железа(III) и железа(II) в растворе, если электродвижущая сила цепи, составленной из индикаторного платинового электрода, погруженного в анализируемый раствор, и стандартного водородного электрода сравнения, при температуре 25°C равна +0,830 В? (Ответ: $a(\text{Fe}^{3+}) : a(\text{Fe}^{2+}) = 10:1$)

4. Кулонометрическое титрование 10,0 мл анализируемого раствора HCl электрогенерированными ионами OH^- провели при постоянном токе $i = 3 \text{ мА}$ в присутствии индикатора фенолфталеина. Окраска раствора изменилась через 3 мин 30 с. На холостое титрование в тех же условиях потребовалось 10 с. Рассчитайте титр анализируемого раствора HCl в мг/мл. (Ответ: 0,02267 мг/мл)

5. Кулонометрическое титрование 4,00 мл анализируемого раствора перманганата калия KMnO_4 провели электрогенерированным железом(II) при постоянном токе $i = 50$ мА в присутствии индикатора ферроина. Окраска раствора изменилась через 386 с.

Рассчитайте молярную концентрацию перманганата калия в анализируемом растворе. (Ответ: 0,0100 моль/л)