

В.И. Комова

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ - УЧЕБНО-НАУЧНО-
ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОМПЛЕКС»

В.И. Комова

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Рекомендовано ФГБОУ ВПО «Госуниверситет - УНПК»
для использования в учебном процессе в качестве
учебно-методического пособия
для высшего профессионального образования

Орел 2015

УДК 544.344.016 (075)

ББК 36.814я7

К63

Рецензенты:

доктор технических наук, профессор,
заведующая кафедрой «Химия и биотехнология»
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего профессионального образования
«Государственный университет - учебно-научно-
производственный комплекс»

Е.А. Кузнецова,

доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Химия»
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего профессионального образования
«Орловский государственный аграрный университет»

Н.И. Ярован

Комова, В.И.

К63 Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа: учебно-методическое пособие для высшего профессионального образования / В.И. Комова. – Орел: ФГБОУ ВПО «Госуниверситет - УНПК», 2015. – 107 с.

ISBN 978-5-93932-860-9

В учебно-методическом пособии излагаются теоретические основы и практическое использование наиболее важных физико-химических методов анализа: оптических, электрохимических, хроматографических. Обсуждаются области применения, достоинства и недостатки методов. Излагаются способы нахождения концентрации по аналитическому сигналу. Описан порядок проведения 19 лабораторных работ с необходимыми реактивами, приводятся образцы расчетов в анализе, а также контрольные вопросы и задания.

Предназначено студентам, обучающимся по направлениям подготовки бакалавров пищевых производств: 19.03.01; 19.03.02; 19.03.03; 19.03.04; 260800.62, изучающим дисциплину «Аналитическая химия и физико-химические методы анализа».

УДК 544.344.016 (075)

ББК 36.814я7

ISBN 978-5-93932-860-9 © ФГБОУ ВПО «Госуниверситет - УНПК», 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
I. Общая характеристика инструментальных (физических и физико-химических) методов анализа.....	6
1. Оптические методы анализа	7
1.1. Фотометрические методы анализа.....	7
Лабораторная работа № 1. Определение железа (III) в питьевой воде.....	13
Лабораторная работа № 2. Определение железа (III) в растворе в виде тиоцианатов	17
Лабораторная работа № 3. Фотометрическое определение меди в растворе	19
Лабораторная работа № 4. Экстракционно-спектрофотометрическое определение кофеина в чае	20
Лабораторная работа № 5. Определение редуцирующих сахаров в продуктах кондитерского производства	22
Лабораторная работа № 6. Определение общего сахара в продуктах кондитерского производства	25
Лабораторная работа № 7. Определение цветности белого сахара.....	28
Лабораторная работа № 8. Спектрофотометрическое определение каротинов в моркови.....	29
1.2. Рефрактометрический метод анализа.....	33
Лабораторная работа № 9. Определение сухих веществ в карамельной патоке и мармеладе.....	37
Лабораторная работа № 10. Определение жира в сливочном масле	39
Лабораторная работа № 11. Определение жира в продуктах кондитерского производства.....	41
Лабораторная работа № 12. Измерение показателя преломления растительных масел	44
Лабораторная работа № 13. Определение хлорида натрия в рассолах.....	45
2. Электрохимические методы анализа	46
2.1. Потенциометрические методы анализа.....	47
Лабораторная работа № 14. Определение нитрат-ионов ионометрическим методом в продуктах растениеводства.....	54
Лабораторная работа № 15. Определение нитрата методом добавок	58

Лабораторная работа № 16. Определение фторид-иона в водах ионометрическим методом	61
Лабораторная работа № 17. Определение рН растворов	63
2.2. Вольтамперометрические методы анализа	67
Лабораторная работа № 18. Определение содержания ионов меди, свинца, цинка, кадмия в водах методом инверсионной вольтамперометрии	75
3. Хроматографические методы анализа	79
3.1. Классификация хроматографических методов анализа	79
3.2. Хроматографические параметры	85
Лабораторная работа № 19. Разделение и обнаружение ионов методом бумажной хроматографии	86
Лабораторная работа № 20. Разделение и определение смеси аминокислот методом бумажной хроматографии	90
4. Средства и методы оперативного аналитического контроля. Применение тест-методов и сенсоров в анализе	95
4.1. Тест-методы.....	95
4.2. Сенсоры	97
II. Математическая обработка результатов измерений.....	101
Литература	106

ВВЕДЕНИЕ

Для управления технологическими процессами в промышленности, а также биологическими процессами нужны быстрые методы анализа, позволяющие контролировать ход процесса. Поэтому существуют тенденции к разработке не только высокочувствительных, но и так называемых экспрессных, т.е. ускоренных, методов анализа. Некоторые из физических и физико-химических методов отличаются высокой чувствительностью и быстротой выполнения.

Химические методы анализа не всегда удовлетворяют современным требованиям. Например, если гравиметрическое определение продолжается несколько часов, а иногда и суток, то анализ вещества современными физическими и физико-химическими методами обычно занимает всего несколько минут.

Инструментальные методы анализа занимают все более значительное место в системе контроля качества продуктов питания. Важную роль приобрели они и в контроле загрязненности окружающей среды (почва, растения, природные воды) пестицидными остатками.

Сочетание различных инструментальных методов при анализе веществ ведет к возникновению новых, «гибридных» методов. Все более важное значение приобретают автоматические анализаторы.

Современная аналитическая химия широко использует достижения физики, квантовой механики, радиоэлектроники, полупроводниковой техники.

В данном учебно-методическом пособии излагаются теоретические основы и практическое использование наиболее важных физико-химических методов анализа: оптических, электрохимических, хроматографических.

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ (ФИЗИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ) МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Физические и физико-химические методы анализа основаны на использовании зависимости между измеряемыми физическими свойствами веществ и их качественным и количественным составом. Поскольку физические свойства веществ измеряются с помощью различных приборов – «инструментов», то эти методы анализа называют также инструментальными.

К физическим и физико-химическим методам анализа относятся следующие методы:

- *оптические*, основанные на измерении оптических свойств веществ;
- *хроматографические*, основанные на использовании способности различных веществ к избирательной сорбции;
- *электрохимические*, основанные на измерении электрохимических свойств систем;
- *радиометрические*, в основе лежит измерение радиоактивных свойств веществ;
- *термические*, базирующиеся на измерении тепловых эффектов соответствующих процессов;
- *масс-спектрометрические методы*, основанные на изучении ионизированных фрагментов веществ.

Применяются также и другие методы анализа (ультразвуковые, магнитохимические, пикнометрические и др.).

Достоинства и недостатки физических и физико-химических методов анализа. К достоинствам этих методов анализа относятся:

- а) низкий предел обнаружения ($1 \cdot 10^{-9}$ мкг) и малая предельная концентрация (до $\sim 10^{-12}$ г/мл) определяемого вещества;
- б) высокая чувствительность, определяемая величиной тангенса угла наклона соответствующей градуировочной кривой, отражающей графически зависимость измеряемого физического параметра (по оси ординат) от концентрации или количества определяемого вещества (по оси абсцисс);
- в) высокая селективность (избирательность) методов;
- г) малая продолжительность проведения анализов, возможность их автоматизации и компьютеризации.

К недостаткам физических и физико-химических методов анализа можно отнести следующее:

а) иногда воспроизводимость их результатов оказывается хуже, чем при использовании классических химических методов количественного анализа – гравиметрии и титриметрии;

б) погрешности определений с использованием физических и физико-химических методов анализа часто составляют около $\pm 5\%$, в то время как в классическом химическом анализе они обычно не превышают $\pm(0,1 - 0,5)\%$;

в) сложность применяемой аппаратуры, ее высокую стоимость.

1. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Классифицируют оптические методы анализа различным образом:

- по изучаемым объектам;
- характеру взаимодействия электромагнитного излучения с веществом;
- области используемого электромагнитного спектра;
- природе энергетических переходов.

1.1. Фотометрические методы анализа

Все вещества поглощают электромагнитные излучения. Вещества, поглощающие излучение в видимой области спектра (длина волны – 400–760 нм), характеризуются собственной окраской. Фотометрические методы анализа основаны на измерении интенсивности светового потока, прошедшего через вещество или его раствор. В зависимости от длины волны, ширины полосы излучения и способа измерения интенсивности светового потока различают следующие фотометрические методы:

1) колориметрию, которая основана на визуальном сравнении интенсивности окраски анализируемого раствора с интенсивностью окраски раствора того же вещества известной концентрации (стандартный раствор);

2) фотоэлектрокolorиметрию, основанную на измерении интенсивности света в видимой части спектра; для монохроматизации света применяют светофильтры (рис. 1);

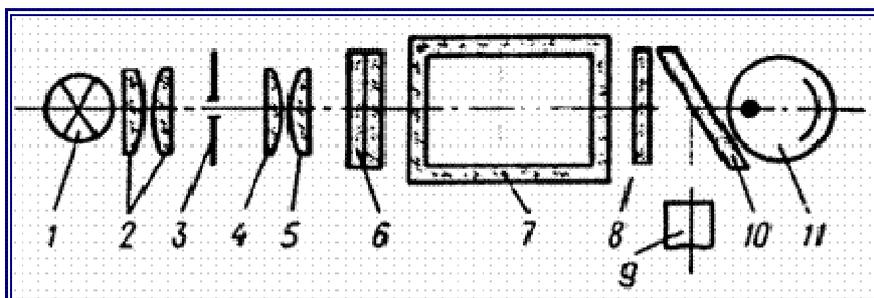


Рис. 1. Оптическая схема фотоколориметра КФК-2 МП:

1 – источник света; 2 – конденсор; 3 – диафрагма; 4, 5 – линзы объектива; 6 – светофильтр; 7 – кювета; 8 – защитное стекло; 9 – фотодиод (590 – 980 нм); 10 – пластинка, делящая световой поток; 11 – фотоэлемент (315 – 540 нм)

3) спектрофотометрию, в основе которой использование монохроматического света как в видимой, так и в ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра; для монохроматизации света применяются дифракционные решетки и призмы (рис. 2).



Рис. 2. Блок-схема спектрофотометра UNICO 1201/1200

В основе фотометрических измерений и расчетов лежат два закона светопоглощения (два закона фотометрии).

Первый закон светопоглощения: доля светового потока, поглощенного однородной средой, прямо пропорциональна толщине поглощающего слоя:

$$\frac{\Delta I}{I} = k_1 l,$$

где ΔI – поглощенная часть падающего светового потока I ;

l – толщина поглощающего слоя;

k_1 – коэффициент пропорциональности.

Связь между интенсивностями световых потоков ΔI и I устанавливается законом Бугера – Ламберта.

Второй закон светопоглощения: доля светового потока, поглощенного тонким слоем внутри однородной среды, пропорциональна числу светопоглощающих частиц в единице объема, т.е. концентрации:

$$\frac{\Delta I}{I} = k_2 c,$$

где c – концентрация;

k_2 – коэффициент пропорциональности.

В 1852 году немецкий ученый А. Бер установил зависимость светопоглощения от концентрации поглощающей среды на основании исследования поглощения света окрашенными растворами. Оба закона светопоглощения объединяют в один, *объединенный основной закон светопоглощения* Бугера – Ламберта – Бера, который можно представить в логарифмической форме:

$$A = \varepsilon c l,$$

где A – оптическая плотность;

ε ($\varepsilon = k/2,3$) – молярный коэффициент поглощения;

c – концентрация светопоглощающих частиц в данной среде;

l – толщина светопоглощающего слоя.

Оптическая плотность A – безразмерная величина. Молярный коэффициент поглощения измеряют в единицах л·моль⁻¹·см⁻¹.

Численно молярный коэффициент поглощения равен оптической плотности данного раствора при концентрации растворенного светопоглощающего вещества $c = 1$ моль/л и толщине поглощающего слоя $l = 1$ см.

Оптическую плотность (абсорбцию) вычисляют по формуле

$$A = \lg \frac{I_0}{I},$$

где I_0 – интенсивность входящего светового потока;

I – интенсивность светового потока, прошедшего через поглощающую среду.

Кроме оптической плотности A , используют также светопропускание, T :

$$T = \frac{I}{I_0} \cdot 100\%,$$

которое связано с оптической плотностью A следующим образом:

$$A = -\lg T; A = \lg \frac{1}{T} \text{ или } A = 2 - \lg T.$$

Первый закон светопоглощения часто называют *законом Бугера – Ламберта*, а второй – *законом Бугера – Бера*.

Закон Бугера – Ламберта – Бера: оптическая плотность раствора прямо пропорциональна концентрации светопоглощающего вещества, толщине слоя раствора и молярному коэффициенту светопоглощения. Оптическую плотность раствора измеряют фотоэлектроколориметрами и спектрофотометрами. Принцип работы фотоэлектроколориметра заключается в том, что световой поток, прошедший через кювету с раствором, попадает на фотоэлемент, который преобразует энергию света в электрическую энергию, измеряемую микроамперметром. Отклонение стрелки микроамперметра пропорционально интенсивности падающего света.

Для измерения светопоглощения выбирают такую спектральную область (или длину волны), в которой возможен минимальный предел обнаружения. В фотоэлектроколориметрах это достигается применением светофильтров, пропускающих определенную полосу лучей света. Необходимо, чтобы цвет светофильтра был дополнительным по отношению к окраске раствора, т.е. при выборе светофильтра руководствуются окраской анализируемого раствора (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика окрашенных растворов и соответствующих светофильтров

Характеристика анализируемого вещества		Цвет светофильтра	Длина волны, пропускаемого света, нм
Окраска раствора	Длина волны поглощаемого света, нм		
Зеленовато-желтая	400	Фиолетовый	400 – 430
Желтая	425	Сине-фиолетовый	420 – 450
Оранжевая	450	Синий	430 – 460
Красная	490	Зеленый	460 - 500
Пурпурная	510	Зеленый	490 – 530
Фиолетовая	530	Зеленовато-желтый	520 – 550
Синяя	590	Оранжевый	590
Сине-зеленая	640	Красный	600 – 650

Оптическую плотность анализируемого раствора измеряют последовательно при всех светофильтрах и выбирают тот, при котором оптическая плотность наибольшая.

Спектрофотометрия основана на тех же законах светопоглощения, что и фотоэлектроколориметрия. Основным преимуществом спектрофотометрии по сравнению с фотоэлектроколориметрией является возможность измерения оптической плотности в монохроматическом свете как в видимой, так и в ближней ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра.

Наиболее правильные результаты получают, когда оптическая плотность раствора находится на уровне $\sim 0,4$. Если оптическая плотность превышает 0,8, то применяют кюветы с меньшей толщиной светопоглощающего слоя. Напротив, при оптической плотности 0,1 и менее следует пользоваться кюветами с большей толщиной светопоглощающего слоя.

Закон аддитивности. Оптическая плотность – экстенсивное свойство вещества. Поэтому A смеси веществ равна сумме A каждого из них. Это справедливо при условии подчинения каждого вещества закону *Бугера – Ламберта – Бера* и в отсутствие химических взаимодействий между ними. Для смеси веществ при одной и той же длине волны имеем:

$$A = \varepsilon_1 c_1 l + \varepsilon_2 c_2 l + \dots + \varepsilon_m c_m l.$$

Нахождение концентрации определяемого вещества при фотометрических измерениях:

1. *Метод градуировочного графика.* Готовят серию из четырех–шести растворов определяемого вещества с известной концентрацией, измеряют их оптическую плотность. Строят график зависимости A – C . Если получается прямая линия, то ее можно описать уравнением

$$y = ax + b,$$

где x – концентрация раствора (c);

y – оптическая плотность (A);

a – угловой коэффициент, равный коэффициенту поглощения (если использована молярная концентрация, то $a = \varepsilon$);

b – значение оптической плотности холостого раствора $A_{\text{хол}}$.

Следовательно, уравнение градуировочного графика при фотометрических измерениях имеет вид:

$$A = \varepsilon c + A_{\text{хол.}};$$

$$c = \frac{A - A_{\text{хол.}}}{\varepsilon}.$$

2. *Метод одного стандарта* (применим, когда выполняется закон светопоглощения). Готовят стандартный раствор с точно известной концентрацией $c_{\text{ст.}}$. Измеряют $A_{\text{ст.}}$ при аналитической длине волны по отношению к раствору сравнения. Затем в той же кювете и в тех же условиях измеряют A анализируемого раствора с неизвестной концентрацией c_x определяемого вещества.

$$A_{\text{ст.}} = \varepsilon c_{\text{ст.}} l;$$

$$A_x = \varepsilon c_x l;$$

$$c_x = \frac{A_x}{A_{\text{ст.}}} \cdot c_{\text{ст.}}.$$

3. *Определение концентрации по молярному или удельному коэффициенту поглощения*. Численное значение молярного ε или удельного E коэффициента поглощения должно быть известно (если нет, то определяют экспериментально). По измеренному значению A_x рассчитывают c_x , исходя из основного закона светопоглощения:

$$A_x = \varepsilon c_x l; \quad c_x = \frac{A_x}{\varepsilon l}.$$

4. *Метод добавок стандарта*. Готовят два раствора: 1-й – анализируемый раствор с искомой концентрацией c_x определяемого вещества и 2-й – анализируемый раствор, к которому прибавили точно известное количество (добавка стандарта) определяемого вещества, так что его концентрация во втором растворе равна: $c_x + c$. Измеряют последовательно A_1 и A_2 :

$$A_1 = \varepsilon c_x l; \quad A_2 = \varepsilon (c_x + c) l,$$

откуда $\frac{A_1}{A_2} = \frac{c_x}{c_x + c}; \quad c_x = \frac{A_1}{A_2 - A_1} \cdot c.$

5. *Определение концентрации нескольких веществ при их совместном присутствии.* В основе этого метода лежит закон аддитивности.

6. *Визуальные методы:*

а) *метод стандартных серий*, который заключается в сравнении окраски раствора неизвестной концентрации определяемого компонента с окраской стандартной серии растворов известной концентрации, т.е. эталонных;

б) *метод уравнивания окраски*, основанный на уравнивании окраски раствора неизвестной концентрации вещества c_x с окраской раствора известной концентрации $c_{эт.}$. Окраску можно уравнивать изменением толщины слоя раствора или ширины щели, через которую проходит световой поток. При равенстве интенсивности окраски:

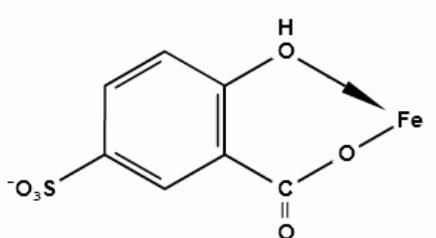
$$A_x = A_{эт.}; \quad \varepsilon c_x l_x = \varepsilon c_{эт.} l_{эт.};$$

поскольку значение ε одинаково, то $c_x l_x = c_{эт.} l_{эт.}$;

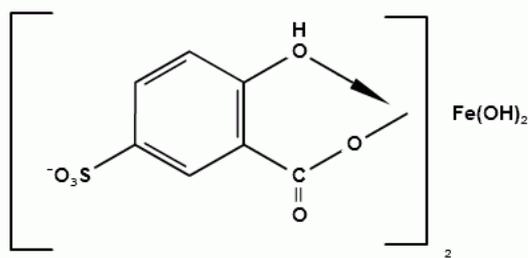
$$c_x = c_{эт.} \cdot \frac{l_{эт.}}{l_x}.$$

Лабораторная работа № 1. Определение железа (III) в питьевой воде

Определение основано на образовании интенсивно окрашенного соединения при взаимодействии Fe^{3+} с сульфосалициловой кислотой. В зависимости от pH раствора образуются продукты, отличающиеся окраской:



I

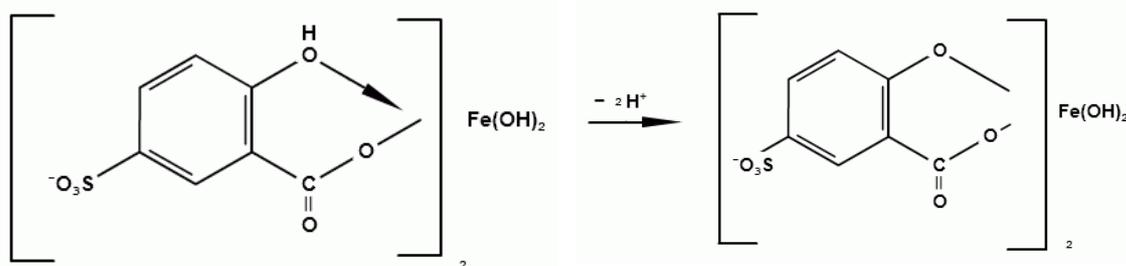


II

При рН 1,8 – 2,5 образуется красно-фиолетовый катионный комплекс (I), имеющий полосу поглощения с $\lambda_{\max} = 510$ нм и $\epsilon_{\max} = 1,8 \cdot 10^3$.

При увеличении рН до 4–8 раствор приобретает красно-бурую окраску, которую приписывают анионному бис-комплексу (II).

В щелочных средах при $9 < \text{pH} < 11,5$ образуется комплекс желтого цвета с полосой поглощения $\lambda_{\max} = 416$ нм и $\epsilon_{\max} = 5,8 \cdot 10^3$. При $\text{pH} > 12$ происходит его разложение с выпадением в осадок гидроксида железа. Ранее предполагалось, что образующийся в щелочных средах комплекс является трисульфосалицилатом Fe (III). Однако в более поздних исследованиях высказывается другая точка зрения относительно природы этого комплекса. Предполагают, что его образование связано не с присоединением третьей молекулы реагента, а с депротонированием бис-комплекса:



Цель работы: приобретение навыков приготовления стандартных растворов с заданной концентрацией и работы на фотоэлектроколориметре.

Реактивы, посуда и оборудование

Сульфосалициловая кислота, 10%-й раствор; стандартный раствор соли железа (III), 0,1 мг/мл: в мерной колбе на 1000 см³ растворяют в дистиллированной воде 0,5030 г х.ч. Fe₂(SO₄)₃·9H₂O; серная кислота, 0,5 моль/дм³ раствор; аммиак, 10%-й раствор; мерные колбы 50 см³, 1000 см³; градуированные пипетки вместимостью 1, 5 и 10 см³; пипетка Мора вместимостью 25 см³; универсальная индикаторная бумага; фотоэлектроколориметр; кюветы $l = 1$ см; аналитические весы.

Выполнение работы

1. *Кислая среда. Построение градуировочного графика.* В шесть мерных колб емкостью 50 см³ градуированной пипеткой помещают

последовательно 0, 2, 4, 6, 8 и 10 см³ стандартного раствора соли железа (III). В каждую колбу добавляют по 3 см³ раствора сульфосалициловой кислоты и 1 см³ серной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Получают серию окрашенных в красно-фиолетовый цвет растворов. Оптическую плотность растворов измеряют на фотоэлектроколориметре КФК-2МП (рис. 3) при светофильтре № 5, спектрофотометре при длине волны 510 нм. Раствором сравнения служит раствор, содержащий все указанные реактивы, кроме Fe³⁺.



Рис. 3. Фотоэлектроколориметр КФК-2МП

По полученным данным строят градуировочный график в координатах: по оси ординат – оптическая плотность, по оси абсцисс – содержание Fe³⁺, мг/50 см³.

2. *Определение концентрации железа (III) в питьевой воде.* В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 25 см³ анализируемой питьевой воды, 3 см³ раствора сульфосалициловой кислоты и 1 см³ серной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора в приведенных выше условиях, по градуировочному графику находят содержание Fe³⁺ в 50 см³ раствора, т.е. в 25 см³ анализируемой питьевой воды.

Содержание Fe³⁺ (Q, мг/дм³) рассчитывают по формуле

$$Q = \frac{q \cdot 1000}{25},$$

где q – масса Fe³⁺ в 25 см³ анализируемой питьевой воды, мг.

3. *Щелочная среда. Построение градуировочного графика.* В шесть мерных колб емкостью 50 см³ градуированной пипеткой

помещают последовательно 0, 2, 4, 6, 8 и 10 см³ стандартного раствора соли железа (III). В каждую колбу добавляют по 3 см³ раствора сульфосалициловой кислоты и 5 см³ раствора аммиака, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Получают серию окрашенных в желтый цвет растворов.

Оптическую плотность растворов измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 416 нм, спектрофотометре – при 425 нм.

4. *Определение концентрации железа (III) в питьевой воде.* В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 25 см³ анализируемой питьевой воды, 3 см³ раствора сульфосалициловой кислоты и 5 см³ раствора аммиака, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора в приведенных выше условиях (щелочная среда), по градуировочному графику находят содержание Fe³⁺ в 50 см³ раствора, т.е. в 25 см³ анализируемой питьевой воды.

Содержание Fe³⁺ (Q, мг/дм³) рассчитывают по приведенной выше формуле.

Контрольные вопросы

1. Объясните принцип выбора светофильтра при измерении оптической плотности продуктов реакции Fe³⁺ с сульфосалициловой кислотой.

2. Как можно снизить предел обнаружения фотометрических определений?

3. Что такое молярный коэффициент светопоглощения?

4. По градуировочному графику рассчитайте молярный коэффициент светопоглощения и предел обнаружения Fe³⁺ в водных растворах по реакции с сульфосалициловой кислотой.

5. По характеру градуировочного графика установите соблюдение основного закона светопоглощения для растворов сульфосалицилата Fe³⁺.

6. Что называют коэффициентом пропускания T и оптической плотностью A ? В каких пределах изменяются эти величины?

7. Что означает свойство аддитивности оптической плотности?

8. Действие каких факторов может привести к нарушению линейной зависимости оптической плотности от концентрации раствора?

Лабораторная работа № 2. Определение железа (III) в растворе в виде тиоцианатов

Железо (III) в кислой среде образует тиоцианаты – ряд комплексных соединений различного состава, отличающихся сравнительно малой устойчивостью, – в зависимости от его концентрации и кислотности среды.

Для получения воспроизводимых результатов важно соблюдать точную концентрацию роданид-ионов в испытуемом и эталонном растворах. При одинаковом составе комплексных частиц соответственно получится одинаковая интенсивность окраски растворов. Рекомендуется добавлять большой избыток роданида. В качестве реагента можно применять роданиды аммония или калия.

Оптимальной кислотностью считают 0,05 Н – 2 Н растворы. Подкисление можно проводить серной, соляной, азотной, хлорной кислотами.

Реакцию тиоцианата применяют только для определения железа (III). Железо (II) не вступает в реакцию с тиоцианатами.

Для окисления Fe^{2+} и Fe^{3+} используют азотную кислоту, а также другие окислители в зависимости от природы анализируемого объекта: перманганат калия, персульфат аммония. Проведению реакции мешает ряд веществ. Прежде всего должны отсутствовать элементы, ионы которых дают комплексные соединения с тиоцианатом: кобальт, хром, висмут, медь, молибден, вольфрам, кадмий, цинк, ртуть.

Красное окрашивание недостаточно устойчиво. Поэтому оптическую плотность необходимо измерять немедленно после приготовления окрашенного раствора при $\lambda = 520$ нм, $l = 0,5$ м.

Цель работы: ознакомление с методикой определения железа (III) в растворе в виде тиоцианатов.

Реактивы, посуда и оборудование

Стандартный раствор соли железа (III), 0,1 мг/мл: в мерной колбе на 1000 см³ растворяют в дистиллированной воде 0,5030 г х.ч. $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; серная кислота, х.ч.; азотная кислота, х.ч., (1:1); тиоцианат калия или аммония, 10%-й раствор; мерные колбы 100 см³, 1000 см³; бюретка; универсальная индикаторная бумага; фотоэлектроколориметр; кюветы $l = 0,5$ м; аналитические весы.

Выполнение работы

1. *Построение градуировочного графика.* В шесть мерных колб емкостью 100 см^3 из бюретки помещают последовательно 10, 15, 20, 25, 30 см^3 стандартного раствора соли железа (III). В каждую колбу добавляют по 1 см^3 разбавленной (1:1) азотной кислоты и по 5 см^3 10%-го раствора тиоционата аммония или калия, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Получают серию окрашенных в красный цвет растворов.

Оптическую плотность растворов измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм. Раствором сравнения служит дистиллированная вода.

По полученным данным строят градуировочный график в координатах: по оси ординат – оптическая плотность, по оси абсцисс – содержание Fe^{3+} мг/ см^3 .

2. *Определение концентрации железа (III) в растворе.* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают исследуемый раствор, 1 см^3 разбавленной азотной и 5 см^3 10%-го раствора тиоционата аммония (или калия), доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора в приведенных выше условиях и по градуировочному графику находят содержание Fe^{3+} в мг на 1 см^3 раствора. Найденное содержание умножают на объем всего анализируемого раствора (100 см^3), вычисляют общую массу железа (III).

Контрольные вопросы

1. При какой кислотности среды следует проводить определение железа (III) по данной методике?
2. Какие катионы мешают определению Fe^{3+} с тиоционатами?
3. Какие приборы можно использовать для фотометрического определения оптической плотности исследуемых растворов, содержащих Fe^{3+} ?
4. Какие факторы влияют на молярный коэффициент поглощения?
 - а) длина волны проходящего света;
 - б) температура;
 - в) концентрация раствора;
 - г) природа вещества.

5. Что называют спектром поглощения вещества и в каких координатах его можно представить?

6. При каких оптимальных значениях T и A обеспечивается наименьшая относительная погрешность измерения?

Лабораторная работа № 3. Фотометрическое определение меди в растворе

Определение основано на измерении светопоглощения медно-аммиачного комплекса синего цвета, образующегося по реакции:



Окраска его достаточно устойчива. Измерение оптической плотности проводят на фотоколориметре в кюветах с толщиной слоя раствора 2,0 см, при работе используют оранжево-красный светофильтр при длине волны 610 нм.

Определение содержания Cu^{2+} в растворах представляет большой интерес. Соли меди широко применяют в сельском хозяйстве как ядохимикаты. Кроме того, ион Cu^{2+} входит в состав медных микроудобрений.

Цель работы: умение выбора условий для фотометрических определений и закрепление навыков работы на фотоколориметре.

Реактивы, посуда и оборудование

Стандартный раствор соли меди 1 мг/мл: в мерной колбе на 1000 см³ растворяют 3,927 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ марки х.ч., приливают 5 см³ концентрированной серной кислоты ($\rho = 1,84$ г/см³) и доводят до метки дистиллированной водой; водный раствор аммиака (1:3); мерные колбы 100 см³, 1000 см³; бюретка; фотоэлектроколориметр; кюветы $l = 2,0$ см; аналитические весы.

Выполнение работы

1. *Построение градуировочного графика.* В шесть мерных колб емкостью 100 см³ из бюретки помещают последовательно 5; 7,5; 10; 12,5; 15 см³ стандартного раствора соли меди. Затем в каждую колбу добавляют по 10 см³ раствора аммиака (1:3), доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Получают серию окрашенных в синий цвет растворов.

Оптическую плотность растворов измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 610 нм. Раствором сравнения служит раствор, содержащий 10 см³ раствора аммиака (1:3), доведенный дистиллированной водой до метки в колбе на 100 мл.

2. *Определение концентрации меди в растворе.* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают исследуемый раствор, добавляют 10 см³ раствора аммиака (1:3) и доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора в приведенных выше условиях и по градуировочному графику находят содержание Cu²⁺ в мг/100 см³ раствора.

Контрольные вопросы

1. Напишите закон Бугера – Ламберта – Бера в логарифмической форме.
2. В чем сущность метода градуировочного графика?
3. По градуировочному графику рассчитайте молярный коэффициент светопоглощения и предел обнаружения Cu²⁺ в водных растворах аммиака.
4. Каковы особенности градуировочного графика?
5. Чем определяется выбор длины волны, светофильтра, длины кюветы для измерения концентрации веществ?
6. Какова сущность метода добавок?
7. Как рассчитывается концентрация определяемого вещества методом добавок с помощью графика?
8. В чем заключаются достоинства и недостатки метода добавок?

Лабораторная работа № 4. Экстракционно-спектрофотометрическое определение кофеина в чае

Методика основана на получении хлороформного экстракта из чая и на способности кофеина, содержащегося в экстракте, поглощать лучи в ультрафиолетовой области спектра ($\lambda = 272$ нм). Сопутствующие компоненты (танины, пигменты и др.) не мешают определению кофеина в чае.

Цель работы: ознакомление с методом разделения веществ — экстракцией и применение ее со спектрофотометрией.

Реактивы, посуда и оборудование

Стандартный раствор кофеина, 1 мг/см^3 ; кофеин, х.ч.; хлороформ; мерные колбы на 50 см^3 ; градуированные пипетки на 2 и 5 см^3 ; мерный цилиндр вместимостью 50 см^3 ; воронка диаметром 5–8 см; складчатый фильтр; вибросмеситель; аналитические весы; спектрофотометр; кюветы $l = 1\text{ см}$; анализируемый чай.

Выполнение работы

1. *Приготовление стандартного раствора кофеина.* В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 50 ± 1 мг кофеина, растворяют в хлороформе, доводят до метки хлороформом и перемешивают. 1 см^3 приготовленного раствора содержит 1 мг кофеина.

2. *Построение градуировочного графика.* В пять мерных колб емкостью 50 см^3 последовательно вводят 0; 0,2; 0,5; 1,0 и $1,5\text{ см}^3$ стандартного раствора кофеина. В каждую колбу добавляют хлороформ до метки и перемешивают. Получают серию растворов, содержащих в 50 см^3 0; 0,2; 0,5; 1,0 и 1,5 мг кофеина.

Оптическую плотность растворов измеряют при $\lambda = 272\text{ нм}$. Раствором сравнения служит дистиллированная вода.

По полученным данным строят градуировочный график в координатах: по оси ординат – оптическая плотность, по оси абсцисс – содержание кофеина, $\text{мг}/50\text{ см}^3$.

3. *Определение кофеина в чае.* На аналитических весах отбирают пробу сухого чая массой 1–1,5 г, помещают в колбу с пришлифованной пробкой, приливают 30 см^3 хлороформа, колбу помещают на вибросмеситель и экстрагируют кофеин в течение часа. Экстракт помещают в мерную колбу. Отстоявшуюся после экстрагирования пробу чая промывают небольшими порциями хлороформа, которые присоединяют к экстракту в мерной колбе, добавляют хлороформ до метки и перемешивают.

Полученную жидкость фильтруют, $5,0\text{ см}^3$ прозрачного фильтрата помещают в мерную колбу, разбавляют хлороформом до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора; контрольный раствор – хлороформ. По градуировочному графику находят содержание кофеина в $\text{мг}/5\text{ см}^3$ разбавленного экстракта.

Содержание кофеина в чае [ω , % (мас.)] вычисляют по формуле

$$\omega = \frac{q \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot 1000} = \frac{q}{m},$$

где q – найденное по градуировочному графику содержание кофеина в экстракте, мг/5 см³;

50 – объем экстракта, см³;

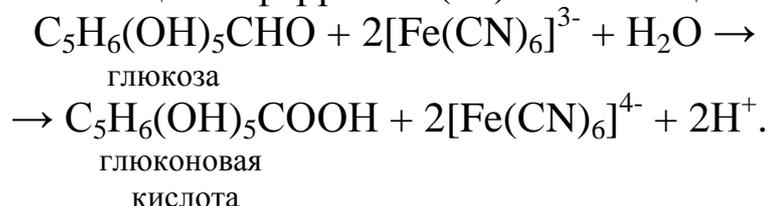
m – масса навески чая, г.

Контрольные вопросы

1. Напишите структурную формулу кофеина.
2. К какому классу соединений относится кофеин?
3. В каких пищевых продуктах присутствует кофеин?
4. Какой области спектра соответствует максимум светопоглощения кофеина?
5. Почему танин и пигменты не мешают определению кофеина в водных и хлороформных растворах?
6. Как экстрагируют кофеин из чая и чайных листьев? Какие растворители при этом применяются?

Лабораторная работа № 5. Определение редуцирующих сахаров в продуктах кондитерского производства

В кондитерских продуктах присутствуют инвертный сахар, глюкоза, фруктоза, мальтоза и лактоза. Их определение основано на взаимодействии с гексацианоферратом (III) калия в щелочной среде:



Гексацианоферрат (III) калия, раствор которого окрашен в желтый цвет, в результате восстановления обесцвечивается с образованием гексацианоферрата (II) калия. С повышением содержания редуцирующих сахаров в анализируемом продукте оптическая плотность фотометрируемого раствора уменьшается.

Цель работы: определение глюкозы в растворе.

Реактивы, посуда и оборудование

Стандартный раствор глюкозы $C_6H_{12}O_6$; щелочной раствор гексацианоферрата (III) калия $K_3[Fe(CN)_6]$; сульфат цинка $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 моль/дм³ раствор; гидроксид натрия, 1 моль/дм³ раствор; мерные колбы на 100, 500 и 1000 см³; конические колбы вместимостью 100 см³; градуированные пипетки вместимостью 5, 10 и 25 см³; воронка диаметром 10 см; складчатый фильтр; водяная баня; ступка с пестиком; термометр до 100 °С; секундомер; аналитические весы; технические весы; фотоэлектроколориметр или спектрофотометр; кюветы с $l = 1$ см; анализируемый продукт (конфеты, леденцы, сиропы, печенье).

Выполнение работы

1. *Приготовление стандартного раствора глюкозы.* $1 \pm 0,0002$ г глюкозы растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 500 см³, доводят водой до метки и перемешивают. 1 см³ приготовленного раствора содержит 2 мг глюкозы.

2. *Приготовление щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия.* В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 8 г $K_3[Fe(CN)_6]$ и 20 г КОН, растворяют в дистиллированной воде при перемешивании и доводят до метки.

3. *Построение градуировочного графика.* В шесть конических колб вместимостью 100 см³ пипеткой вводят по 25 см³ раствора гексацианоферрата (III) калия, последовательно добавляют 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0 и 9,5 см³ стандартного раствора глюкозы. Объем доводят дистиллированной водой до 35 см³, для этого добавляют соответственно 3,0; 2,5; 2,0; 1,5; 1,0 и 0,5 см³ воды. Получают серию растворов, содержащих 14, 15, 16, 17, 18 и 19 мг глюкозы. Растворы в колбах нагревают до кипения, кипятят точно 1 мин и сразу охлаждают струей водопроводной воды.

Оптическую плотность окрашенных в желтый цвет растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 440 нм или на фотоэлектроколориметре при светофильтре № 4. Раствором сравнения служит дистиллированная вода. По полученным данным строят градуировочный график в координатах: по оси абсцисс – содержание глюкозы, мг/35 см³; а по оси ординат – оптическая плотность раствора.

4. *Приготовление исследуемого продукта к анализу.* Пробу анализируемого продукта, содержащую 14 – 19 г редуцирующих саха-

ров, измельчают в ступке, переносят в коническую колбу вместимостью 100 см³ и растворяют в теплой воде. Если продукт растворяется полностью, то раствор кипятят 5 мин, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят до метки водой и перемешивают. Если проба растворяется в теплой воде неполностью (нерастворимые компоненты – белки, жиры, крахмал), то ее помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, нагревают 15 мин на водяной бане при 60 °С, при этом сахара растворяются. Для осаждения веществ, мешающих анализу, в колбу добавляют по 10 см³ растворов сульфата цинка и гидроксида натрия, доводят до метки водой, перемешивают и фильтруют в коническую колбу вместимостью 100 см³.

В другую коническую колбу вместимостью 100 см³ помещают 25 см³ раствора гексацианоферрата (III) калия, 8 см³ прозрачного фильтрата и 2 см³ воды, кипятят ровно 1 мин, сразу охлаждают струей водопроводной воды. Измеряют оптическую плотность окрашенного в желтый цвет раствора. По градуировочному графику находят массу (мг) редуцирующих сахаров в анализируемом продукте в пересчете на глюкозу.

5. *Определение содержания глюкозы в растворе.* Содержание редуцирующих сахаров в пересчете на глюкозу [ω , % (мас.)] рассчитывают по формуле

$$\omega = \frac{qV_1 \cdot 100}{V_2 m \cdot 1000},$$

где q – найденная по градуировочному графику масса глюкозы в водном растворе, мг;

V_1 – вместимость мерной колбы для приготовления водного раствора, см³;

V_2 – объем водного раствора, взятый для реакции с гексацианоферратом (III) калия, см³;

m – масса навески анализируемого продукта, г.

Контрольные вопросы

1. Какие сахара называются редуцирующими?
2. Какой фотометрический реагент применяется для определения редуцирующих сахаров?
3. Перечислите условия проведения реакции редуцирующих сахаров с гексацианоферратом (III) калия.

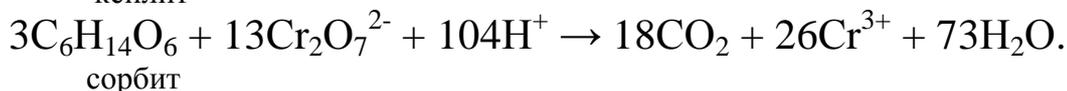
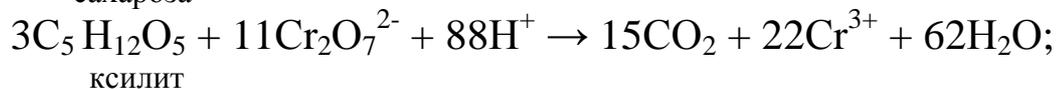
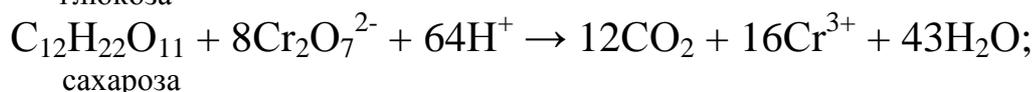
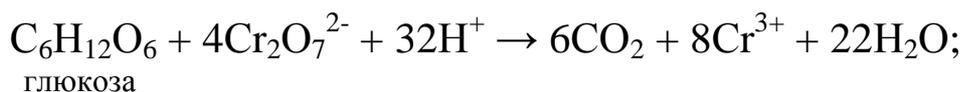
4. Объясните выбор светофильтра при измерении оптической плотности растворов редуцирующих сахаров.

5. Как готовят контрольный раствор при определении редуцирующих сахаров?

6. Запишите уравнение реакции, на которой основано определение глюкозы в продуктах кондитерского производства.

Лабораторная работа № 6. Определение общего сахара в продуктах кондитерского производства

Общий сахар – это содержание сахарозы и редуцирующих сахаров в продуктах кондитерского производства в пересчете на сахарозу. Методика основана на окислении общего сахара дихроматом калия в сильноокислой среде:



Образующиеся соединения Cr^{3+} окрашены в сине-зеленый цвет, их количество пропорционально содержанию общего сахара в анализируемом продукте.

Цель работы: определение содержания общего сахара в анализируемом продукте.

Реактивы, посуда и оборудование

Стандартный раствор сахарозы $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; раствор дихромата калия $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; сульфат цинка $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 моль/дм³ раствор; гидроксид натрия, 1 моль/дм³ раствор; концентрированная серная кислота; мерные колбы на 100, 500 и 1000 см³; конические колбы вместимостью 100 см³; градуированные пипетки вместимостью 10 см³; бюретка; мерные цилиндры; воронка диаметром 5–8 см; складчатый фильтр; водяная баня; ступка с пестиком; термометр до 100 °С; се-

кундомер; аналитические весы; технические весы; фотоэлектроколориметр или спектрофотометр; кюветы с $l = 3$ см; анализируемый продукт (конфеты, леденцы, сиропы, печенье).

Выполнение работы

1. *Приготовление стандартного раствора сахарозы $C_{12}H_{22}O_{11}$.* $2 \pm 0,0002$ г сахарозы растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 500 см^3 , доводят водой до метки и перемешивают. 1 см^3 приготовленного раствора содержит 4 мг глюкозы.

2. *Приготовление раствора дихромата калия $K_2Cr_2O_7$.* 49 г соли растворяют при нагревании в 300 см^3 дистиллированной воды; отдельно к 300 см^3 воды медленно при перемешивании добавляют 300 см^3 концентрированной серной кислоты (соблюдают осторожность!) и охлаждают. В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают сначала раствор дихромата калия, затем серную кислоту (строго соблюдают последовательность введения растворов!), доводят водой до метки, осторожно перемешивают.

3. *Построение градуировочного графика.* В шесть мерных колб вместимостью 100 см^3 пипеткой вводят по 25 см^3 раствора дихромата калия, последовательно добавляют 0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и $20,0 \text{ см}^3$ стандартного раствора сахарозы. Объем доводят дистиллированной водой до 50 см^3 , для этого добавляют соответственно 25,0; 23,0; 21,0; 19,0; 17,0 и $15,0 \text{ см}^3$ воды. Получают серию растворов, содержащих в 100 см^3 0, 8, 16, 24, 32 и 50 мг сахарозы.

Колбы нагревают на кипящей водяной бане 10 мин, охлаждают струей водопроводной воды, добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают.

Оптическую плотность окрашенных в зеленый цвет растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 670 нм или на фотоэлектроколориметре при светофильтре № 8. Контрольный раствор не содержит сахарозы. По полученным данным строят градуировочный график в координатах: по оси абсцисс – содержание сахарозы, мг/ 100 см^3 , а по оси ординат – оптическая плотность раствора.

4. *Приготовление исследуемого продукта к анализу.* Анализируемый продукт измельчают в ступке, отбирают 0,40-2,00 г продукта, обрабатывают теплой дистиллированной водой, переносят в мерную колбу вместимостью 100 или 200 см^3 (в зависимости от массы взятой пробы), нагревают на водяной бане 15 мин при 60°C .

Добавляют по 10 см³ растворов сульфата цинка и гидроксида натрия (для осаждения нерастворимых веществ – белков, жиров, крахмала и др.), доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют. В мерную колбу вместимостью 100 см³ отбирают мерным цилиндром 25 см³ раствора дихромата калия, 10 см³ прозрачного фильтрата и 15 см³ воды, нагревают 10 мин на кипящей водяной бане, охлаждают струей водопроводной воды, добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность окрашенного в зеленый цвет раствора. По градуировочному графику находят содержание сахарозы в мг/100 см³ раствора, что соответствует содержанию сахарозы во взятой пробе в мг.

5. *Определение содержания общего сахара в анализируемом продукте.* Содержание общего сахара [ω , % (мас.)] рассчитывают по формуле

$$\omega = \frac{qV_1 \cdot 100}{V_2 m \cdot 1000},$$

где q – найденное по градуировочному графику содержание общего сахара, мг/100 см³;

V_1 – вместимость мерной колбы, см³;

V_2 – объем фильтрата, взятый для реакции с дихроматом калия, см³;

m – масса навески анализируемого продукта, г.

Контрольные вопросы

1. Какие компоненты входят в состав общего сахара?
2. С какой целью добавляют раствор сульфата цинка к фотометрируемым растворам?
3. По градуировочному графику рассчитайте молярный коэффициент светопоглощения продукта реакции.
4. Запишите уравнения реакций, на которых основано определение сахарозы, глюкозы, сорбита.
5. Объясните условия проведения фотометрической реакции при определении сахаров в кондитерских изделиях.
6. Почему при определении общего сахара оптическую плотность раствора измеряют при длине волны 670 нм?

Лабораторная работа № 7. Определение цветности белого сахара

Цветность – важная характеристика качества белого сахара, зависящая от окрашенности сахара-песка, следовательно, продуктов, из которых его получают (соки, сиропы). Цветность выражают в градусах на 100 г сухих веществ сахара (условные единицы). Согласно государственному стандарту, цветность белого сахарного песка не должна превышать 0,8 усл. ед.

Цель работы: ознакомление с методикой определения цветности белого сахара.

Реактивы, посуда и оборудование

Мерные колбы; химический стакан вместимостью 200–250 см³; воронка диаметром 8-9 см; кристаллизатор; фильтровальная бумага; ареометр; аналитические весы; рефрактометр; фотоэлектроколориметр; набор кювет; анализируемый белый сахар.

Выполнение работы

1. *Приготовление исследуемого продукта к анализу.* Навеску белого сахара (50±0,001) г количественно переносят в мерную колбу, растворяют в горячей дистиллированной воде, охлаждают в кристаллизаторе до 20 °С, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через складчатый бумажный фильтр в сухой химический стакан. Первые порции фильтрата удаляют. Раствор должен быть абсолютно прозрачным.

2. *Проведение определения.* Измеряют оптическую плотность полученного раствора при $\lambda = 560$ нм; контрольный раствор – дистиллированная вода. Длину кюветы выбирают так, чтобы погрешность при измерении была минимальной ($A = 0,45$).

Рефрактометром измеряют содержание сухих веществ [ω , % (мас.)], ареометром – плотность анализируемого раствора.

В соответствии с законом Бугера – Ламберта – Бера рассчитывают коэффициент светопоглощения по формуле

$$k = \frac{A}{cl} = \frac{100A}{\omega pl},$$

где A – оптическая плотность раствора;

c – концентрация раствора, г/см³;

l – толщина светопоглощающего слоя, см;

ω – массовая доля сухих веществ в анализируемом растворе, г/100 г сахара;

ρ – плотность раствора сахара, г/см³.

Коэффициент светопоглощения k пересчитывают в цветность f (в градусах цветности) по формуле

$$f = \frac{10k}{0,16},$$

где 0,16 – оптическая плотность специального стекла в комплекте светофильтров для фотоэлектроколориметра.

Контрольные вопросы

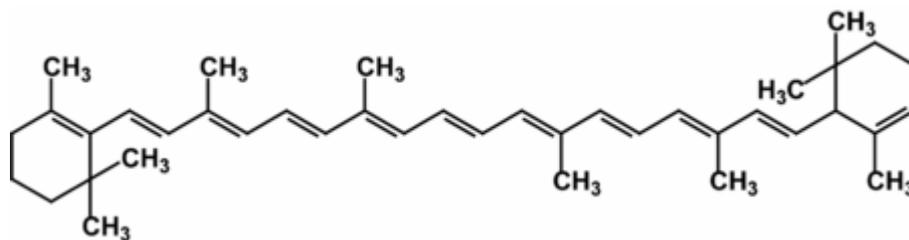
1. Перечислите соединения, обуславливающие цветность сахара.
2. В каких единицах выражают цветность сахара?
3. Оптическая плотность раствора сахара с концентрацией 50 % (масс.) составляет 0,18 ($l = 5$ см). Рассчитайте коэффициент светопоглощения раствора.
4. Как рассчитывают коэффициент светопоглощения раствора белого сахара?
5. Укажите принцип выбора толщины светопоглощающего слоя при определении цветности сахара.
6. Почему оптическую плотность раствора сахара измеряют при $\lambda = 360$ нм?

Лабораторная работа № 8. Спектрофотометрическое определение каротинов в моркови

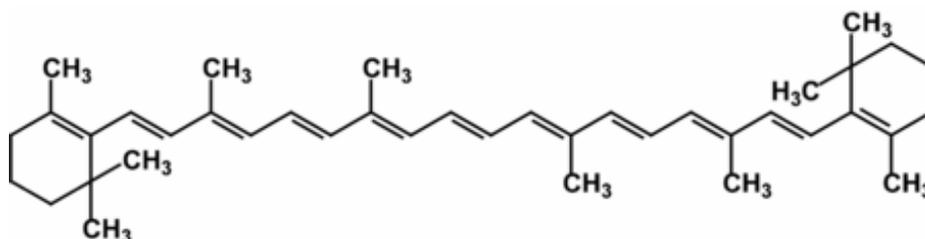
Из всех каротинов основными считаются две формы: альфа- и бета-каротин. Есть и другие: гамма-, дельта- и т.д., но именно бета-каротин лучше всех каротиноидов умеет превращаться в витамин А, попадая в организм человека.

Каротины содержатся в моркови, репе, салате, листьях крапивы, во многих плодах и фруктах. Наличие в их молекулах сопряженных двой-

ных связей обуславливает характерное ярко-желтое окрашивание этих соединений:



α -каротин



β -каротин

Эмпирическая формула – $C_{40}H_{56}$. Каротин зарегистрирован в качестве пищевой добавки *E 160a*.

Особенно необходимо отметить роль *β -каротина*, одна молекула которого образует две молекулы витамина *A* и который очень важен для здоровья человека:



Превращение каротина в витамин *A* осуществляется в кишечнике под действием фермента диоксигеназы.

Функции β -каротина:

– обладает свойствами антиоксиданта, позволяющими нейтрализовать свободные радикалы, реактивные и сильно активированные молекулы, образующиеся в ходе определенных нормальных биохимических реакций. Свободные радикалы могут повреждать липиды

в клеточных мембранах, равно как и генетический материал в клетках, окончательные же повреждения могут привести к развитию рака;

– может блокировать атомарный кислород, реактивную молекулу, которая образуется, в частности, в коже под воздействием ультрафиолетового света и которая может вызывать предраковые изменения в клетках. Атомарный кислород обладает способностью инициировать цепные реакции, в результате которых образуются свободные радикалы.

Определение каротинов основано на их экстракции органическим растворителем и фотометрии экстракта.

Цель работы: определение каротинов в моркови.

Реактивы, посуда и оборудование

Стандартный раствор дихромата калия; хлороформ; конические колбы; мерный цилиндр на 100 см³; воронка диаметром 8-9 см; складчатый фильтр; теххимические лабораторные весы; спектрофотометр; набор кювет; анализируемый продукт (морковь).

Выполнение работы

1. *Подготовка пробы к анализу.* Отобранную морковь измельчают. Навеску 10 г измельченной моркови помещают в плоскодонную колбу на 250 мл и заливают 100 мл хлороформа. Встряхивают на аппарате для встряхивания проб в течение 30 мин. Полученную смесь фильтруют через складчатый фильтр в мерный цилиндр с притертой пробкой. Отмечают объем V_1 хлороформного экстракта.

2. *Приготовление стандартного раствора из дихромата калия.* Растворяют в 1 л дистиллированной воды 0,72 г дихромата калия (1 мл такого раствора соответствует по окраске 0,00416 мг каротина). Раствор фотометрируют и определяют его оптическую плотность.

3. *Фотометрирование хлороформного экстракта.* На спектрофотометре UNICO 1200 (рис. 4) выставляют длину волны 470 нм. В рабочую кювету наливают хлороформный экстракт, в сравнительную – хлороформ. Выставляют ноль оптической плотности по хлороформу, затем фотометрируют хлороформный экстракт. Записывают значение оптической плотности A_x .

4. *Определение процентного содержания каротина.* Процентное содержание каротина в моркови рассчитывают по формуле

$$X = \frac{0,00416 \cdot A_x V \cdot 100}{A_{ст.} \cdot m},$$

где A_x – оптическая плотность опытного раствора;

$A_{ст.}$ – оптическая плотность стандартного раствора $K_2Cr_2O_7$;



Рис. 4. Спектрофотометр UNICO 1200

V – объем элюата;

m – навеска моркови;

100 – пересчет на 100 г продукта; 1 мл стандартного раствора $K_2Cr_2O_7$ соответствует по окраске 0,00416 мг каротина.

Контрольные вопросы

1. Что такое экстракция?
2. При какой длине волны проводят фотометрирование экстракта при использовании в качестве растворителя ацетон?
3. Что такое каротины?
4. Какие бывают каротины?
5. В каких процессах участвуют каротины в растениях?
6. В каких процессах участвуют каротины в животных организмах?
7. Перечислите области использования каротинов.

1.2. Рефрактометрический метод анализа

Метод основан на зависимости показателя преломления от концентрации двухкомпонентных растворов или смесей двух жидкостей (рефрактометрия твердых веществ в анализе пищевых продуктов не применяется).

Рефрактометрический метод анализа характеризуется относительной простотой аппаратуры и техникой выполнения при высокой точности измерения показателя преломления. Прибор – рефрактометр – позволяет измерять показатель преломления с точностью до 10^{-2} % (рис. 5).



Рис. 5. Рефрактометр универсальный лабораторный

Рефрактометрия – это пример оптического экспрессного микрометода: для измерения показателя преломления в течение нескольких минут достаточно одной-двух капель анализируемой жидкости. Метод основан на преломлении луча света при переходе из одной среды в другую. Когда луч монохроматического света переходит из одной среды в другую, его скорость изменяется, а на границе раздела между средами изменяется и его направление (если луч проходит границу раздела неперпендикулярно). Отклонение луча происходит по закону Снеллиуса:

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{c_1}{c_2},$$

где c_1 и c_2 – скорость света в первой и второй средах соответственно;

α и β – угол падения и преломления луча света соответственно при переходе из первой среды во вторую (рис. 6).

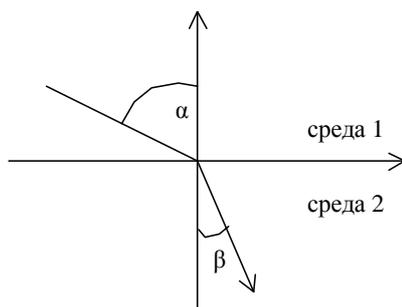


Рис. 6. Изменение направления луча монохроматического света на границе раздела между средами

Отношение синусов этих углов представляет собой показатель преломления среды, в которую луч света входит из другой среды. Правильность показания шкалы рефрактометра проверяют измерением показателя преломления дистиллированной воды при температуре $(20 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$, он должен быть равен 1,3330. Если наблюдается отклонение n_D^{20} от указанного значения, то устанавливают визирную линию так, чтобы при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ граница светотени находилась против показания 1,3330, и 2-3 раза проверяют правильность показания рефрактометра по дистиллированной воде. После каждого измерения призмы промывают дистиллированной водой и насухо вытирают мягкой хлопчатобумажной тканью или марлей.

Для проверки других точек шкалы рефрактометра пользуются органическими растворителями с известными значениями n , измеренными при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ на желтой линии в спектре натрия (линия D), например:

<i>Органические растворители</i>	n_D^{20}
Хлороформ	1,4467
Толуол	1,4992
Йодистый метил	1,5207
Анилин	1,5863
1-бромнафталин	1,6582

Показатель преломления зависит от температуры: с повышением температуры он уменьшается. Поэтому в рефрактометрическом ме-

тоде предусмотрено термостатирование измерительного блока. Как правило, показатель преломления измеряют при температуре $(20 \pm 0,2) \text{ }^\circ\text{C}$.

Значение n зависит также от длины волны входящего света: с уменьшением λ показатель преломления возрастает (нормальная дисперсия). По этой причине показатель преломления измеряют в монохроматическом свете (табл. 2).

Таблица 2

Линии спектра и соответствующие длины волн

Линия спектра	Длина волны	Обозначение
Красная линия водорода (линия С)	656	n_C
Желтая линия натрия (линия D)	589	n_D
Синяя линия водорода (линия F)	486	n_F
Фиолетовая линия водорода (линия G)	434	n_G

Влияющие факторы (температура и длина волны входящего света) указываются в виде индексов: например, n_D^{20} означает, что показатель преломления измерен при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ и $\lambda = 589 \text{ нм}$.

Каждое вещество, находящееся в смеси с другими компонентами, сохраняет свою преломляющую способность, поэтому показатель преломления – аддитивная величина.

Преломляющие свойства вещества, обусловленные строением его молекулы, характеризуются молекулярной рефракцией R_M и описываются уравнением Лорентца – Лоренца:

$$R_M = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \cdot \frac{M}{d},$$

где M – молярная масса вещества, г/моль;

d – плотность $\cdot 10^3$, кг/м³.

Молекулярная рефракция не зависит от температуры и агрегатного состояния вещества. Для химических соединений она представляет собой аддитивную величину, что применяется при установлении состава и строения органических веществ. Молекулярную рефракцию вычисляют как сумму атомных рефракций и инкрементов кратных связей (табл. 3).

С другой стороны, измеряют показатель преломления и плотность идентифицируемого вещества при 20 °С.

Таблица 3

*Атомные рефракции некоторых химических элементов
и инкрементов кратных связей (20 °С, $\lambda = 589$ нм)*

Элемент	Атомная рефракция	Элемент	Атомная рефракция
Углерод	2,418	Бром	6,865
Водород	1,100	Йод	13,91
Кислород в группах:	1,525	Азот в первичных алифатических аминках	2,322
–ОН	1,643	Инкременты кратных связей: >C=C< –C≡C–	1,733 2,389
–O–	2,211		
>C=			
Хлор	5,967		

Вычисление молярной рефракции рассматривается на примере хлорбензола, молекула которого содержит 6 атомов углерода, 5 атомов водорода, 1 атом хлора, а также в ней имеются 3 двойные связи, поэтому

$$R_M = 6 \cdot 2,418 + 5 \cdot 1,100 + 1 \cdot 5,967 + 3 \cdot 1,733 = 31,2.$$

Экспериментально находят, что показатель преломления анализируемой жидкости равен 1,5248; плотность хлорбензола – $1,107 \cdot 10^3$ кг/м³, молярная масса – 112,56 г/моль. Эти величины вводят в формулу и получают:

$$R_M = \frac{1,5248^2 - 1}{1,5248^2 - 2} \cdot \frac{112,56}{1,107} = 50,9.$$

Небольшое различие двух значений R_M ($31,2 - 30,9 = 0,3$) свидетельствует о том, что анализируемая жидкость действительно представляет собой хлорбензол. Существенные расхождения между значениями R_M , найденными двумя способами, могут обуславливаться экспериментальными погрешностями, значительным загрязнением анализируемого вещества.

Удельную и молекулярную (молярную) рефракцию твердых веществ можно определять в растворах. Для вычисления удельной рефракции пользуются соотношением

$$R_x = R_p \frac{100}{C} - R \frac{100 - C}{C},$$

где R_x – искомая удельная рефракция растворенного вещества;

C – процентное содержание вещества в растворе;

R_p и R – удельная рефракция раствора и чистого растворителя.

Умножив найденную удельную рефракцию твердого вещества на его молекулярный вес, находят молекулярную рефракцию.

Молекулярная (молярная) рефракция является непосредственной мерой *поляризуемости молекулы*, т.е. подвижности зарядов под влиянием внешнего электрического поля (возбуждение светом, электрическим полем другой молекулы и т.д.).

Зависимость между поляризуемостью и молекулярной рефракцией выражается уравнением

$$M \cdot R = \frac{4\pi}{3} \cdot N \alpha,$$

где $M \cdot R$ – молекулярная рефракция;

N – число Авогадро;

α – поляризуемость.

Знание поляризуемости имеет существенное значение не только для характеристики строения молекулы, но и для понимания течения химических реакций.

Рефрактометрический метод анализа применяется в химико-аналитическом контроле качества многих продуктов пищевой промышленности.

Лабораторная работа № 9. Определение сухих веществ в карамельной патоке и мармеладе

Кондитерские изделия содержат многие вещества, имеющие различные показатели преломления. Шкала сухих веществ рефрактометра градуирована по растворам сахарозы. При анализе продуктов кондитер-

ского производства вводят поправочные коэффициенты. Сухие вещества патоки (декстрины, глюкоза, мальтоза) завышают результаты рефрактометрических определений. Поэтому при анализе патоки и кондитерских изделий, содержащих патоку, результаты умножают на коэффициент $K = 0,95 \div 0,98$ (в зависимости от осахаривания патоки).

Цель работы: ознакомление с методикой определения сухих веществ в карамельной патоке и мармеладе.

Реактивы, посуда и оборудование

Капельная пипетка; рефрактометр; термостат; анализируемый продукт (карамельная патока, мармелад).

Выполнение работы

1. *Проверка правильности показаний рефрактометра.* На измерительную призму помещают несколько капель воды; показатель преломления воды $n_D^{20} = 1,3330$ соответствует содержанию сухих веществ (по правой шкале), равному 0 %. Измерения выполняют при температуре 20 °С, которую поддерживают с помощью термостата.

2. *Проведение определения.* На призму рефрактометра капельной пипеткой помещают 2-3 капли патоки и измеряют содержание в ней сухих веществ $[\omega, \% \text{ (мас.)}]$. Содержание сухих веществ в мармеладе или патоке рассчитывают по формуле

$$\omega = 0,97\omega_{\text{с.в.}}$$

При определении сухих веществ в мармеладе приняты значения поправочного коэффициента K , представленные ниже:

<i>Мармелад</i>	<i>K</i>
Желейный	0,3
Формовой	0,7
Пластовый	0,9

Контрольные вопросы

1. Как проверяют правильность показаний рефрактометра?
2. Укажите единицы, в которых градуированы шкалы рефрактометра.

3. Почему показатель преломления измеряют при 20 °С и как поддерживают постоянную температуру?

4. Что учитывает поправочный коэффициент при определении содержания сухих веществ в мармеладе?

5. Показатели преломления растворов, полученных из патоки до и после упаривания, составляют 1,3452 и 1,3568 соответственно. Рассчитайте объем воды, выпаренной из 1 кг исходного раствора сахарозы.

6. При выпаривании 100 см³ воды из раствора сахарозы показатель преломления увеличился с 1,3605 до 1,4651. Рассчитайте массу исходного раствора сахарозы.

Лабораторная работа № 10. Определение жира в сливочном масле

Методика основана на измерении показателя преломления раствора жира в органическом растворителе с известным и более высоким, чем для жира, показателем преломления (например, в 1-бромнафталине). Сливочное масло содержит в среднем 83 % жира.

Лучшим растворителем жира является 1-бромнафталин (показатель преломления – 1,6580 при 20 °С), который не растворяет воду и отличается малой летучестью.

Показатели преломления жиров в продуктах кондитерского производства при 20 °С составляют, как правило, 1,46–1,48 (табл. 4).

Цель работы: ознакомление с методикой определения жира в сливочном масле рефрактометрическим методом анализа.

Реактивы, посуда и оборудование

1-бромнафталин; сульфат натрия безводный, ч.д.а.; химический стакан вместимостью 100 см³; градуированная пипетка вместимостью 5 см³; стеклянная палочка; капилляр; таймер; водяная баня; резиновая «груша»; технические весы; рефрактометр; термостат; анализируемое сливочное масло.

Выполнение работы

1. *Подготовка пробы к анализу.* В химическом стакане взвешивают 10 г сливочного масла. Пипеткой приливают 5 см³ 1-бромнаф-

талины (обязательно пользоваться резиновой «грушей»!), стакан нагревают на водяной бане примерно до 40 °С, при этом масло плавится. Для обезвоживания масла и удаления белков к пробе прибавляют 2-3 г сульфата натрия, смесь тщательно растирают стеклянной палочкой в течение 2-3 мин.

Таблица 4

Зависимость показателя преломления n_D^{20} раствора жира в 1-бромнафталине от содержания жира в сливочном масле (20 °С)

Содержание жира, % (масс.)	n_D^{20}	Содержание жира, % (масс.)	n_D^{20}
90,5	1,5285	70,3	1,5400
89,5	1,5290	68,9	1,5410
87,5	1,5300	67,4	1,5420
85,6	1,5310	66,0	1,5430
83,7	1,5320	64,4	1,5440
81,9	1,5330	63,3	1,5450
80,1	1,5340	62,0	1,5460
78,3	1,5350	60,8	1,5470
76,7	1,5360	59,5	1,5480
75,0	1,5370	58,3	1,5490
73,4	1,5380	56,4	1,5500
71,9	1,5390		

2. *Проведение определения.* После осаждения белков на дно стакана наносят капилляром 2-3 капли прозрачной жидкости на нижнюю призму рефрактометра и измеряют показатель преломления при температуре (20±0,2) °С.

Измерения повторяют 2-3 раза и рассчитывают среднеарифметическое значение показателя преломления. Содержание жира в анализируемом масле [ω , % (мас.)] вычисляют по формуле

$$\omega = \frac{Vd}{m} \cdot \frac{n_1 - n_2}{n_2 - n_3} \cdot 100,$$

где V – объем органического растворителя, см³;

d – плотность жира при 20 °С ($d = 0,92 \cdot 10^3$ кг/м³);

m – масса навески сливочного масла, г;

n_1 – показатель преломления 1-бромнафталина ($n_1 = 1,6580$ при 20 °С);

n_2 – показатель преломления раствора жира в 1-бромнафталине;

n_3 – показатель преломления жира ($n_3 = 1,4606 \div 1,4640$ при 20 °С).

По данному уравнению можно заранее вычислить показатель преломления n_D^{20} раствора жира в 1-бромнафталине в зависимости от содержания жира в масле (табл. 4).

Контрольные вопросы

1. Объясните сущность определения жира в сливочном масле рефрактометрическим методом.

2. Перечислите физико-химические свойства 1-бромнафталина и укажите его применение в рефрактометрии.

3. Чем объясняется снижение показателя преломления при увеличении содержания жира в 1-бромнафталине?

4. Перечислите факторы, влияющие на относительную погрешность определения жира в сливочном масле.

5. Как и с какой целью термостатируют призмы рефрактометра?

6. Укажите преимущества и ограничения рефрактометрического метода определения жиров по сравнению с другими оптическими методами анализа.

Лабораторная работа № 11. Определение жира в продуктах кондитерского производства

Методика основана на определении жира, растворенного в органическом растворителе, показатель преломления которого известен и отличается от показателя преломления жира. Правильность получаемых результатов зависит от этих различий: чем больше жира содержит анализируемый продукт, тем меньше показатель преломления раствора жира в данном органическом растворителе.

Цель работы: определение жира в продуктах кондитерского производства рефрактометрическим методом анализа.

Реактивы, посуда и оборудование

1-бромнафталин; воронка диаметром 2-3 см; градуированная пипетка вместимостью 5 см³; стеклянная палочка; капилляр; часовое стекло; пробирки; таймер; водяная баня; резиновая «груша»; беззольный обезжиренный фильтр; фарфоровая ступка с пестиком; аналитические весы; рефрактометр; термостат; анализируемый продукт (шоколад, печенье, халва, порошок какао, пирожные).

Выполнение работы

1. Подготовка пробы к анализу:

А. На аналитических весах взвешивают пробу измельченного гомогенизированного продукта 0,5–1,5 г. Необходимую для анализа массу пробы рассчитывают, исходя из предполагаемого содержания жира в продукте:

Содержание жира, % (46 масс.).....	>30	20–30	10–20	<10
Масса пробы, г.....	0,5	0,75	1,0	1,5

Отобранную пробу помещают в фарфоровую ступку и добавляют пипеткой (обязательно пользоваться резиновой «грушей»!) точный объем 1-бромнафталена из расчета 2 см³ растворителя на 1 г анализируемого продукта. Пробу растирают в ступке с растворителем в течение 3 мин, полученную массу отфильтровывают, фильтрат собирают в пробирку. Фильтр не рекомендуется делать складчатым, воронку следует прикрывать часовым стеклом во избежание потерь вследствие возможного испарения органического растворителя. Фильтрат тщательно перемешивают стеклянной палочкой.

Б. Некоторые продукты кондитерского производства могут содержать смесь жиров. При этом необходимо предварительно экстрагировать из продукта жир и измерить его показатель преломления при 20 °С. Для этого 5–10 г измельченного продукта смешивают в делительной воронке вместимостью 50 см³ с 15-20 см³ растворителя (петролейный эфир, хлороформ) и экстрагируют в течение 5 мин. Экстракт (органический слой) фильтруют и нагревают на кипящей водяной бане для удаления растворителя.

При отгонке петролейного эфира (температура кипения – 40–70 °С) следует строго соблюдать правила противопожарной безопасности.

Полученный жир помещают в фарфоровую чашку и высушивают в сушильном шкафу при 110 °С.

2. Проведение определения:

А. Капилляром наносят 2-3 капли фильтрата на нижнюю призму рефрактометра и измеряют показатель преломления при температуре (20±0,2) °С.

Б. Капилляром отбирают 1-2 капли обезвоженного жира и измеряют показатель преломления при температуре (20±0,2) °С. Плотность жира принимают равной 0,920·10³ кг/м³.

Содержание жира в анализируемом продукте [ω, % (мас.)] вычисляют по формуле

$$\omega = \frac{Vd}{m} \cdot \frac{n_1 - n_2}{n_2 - n_3} \cdot 100,$$

где V – объем 1-бромнафталена, см³;

d – плотность жира при 20 °С, кг/м³ (табл. 5);

m – масса пробы анализируемого продукта, г;

n_1 – показатель преломления 1-бромнафталена ($n_1 = 1,6580$ при 20 °С);

n_2 – показатель преломления растворенного жира в 1-бромнафталеине при 20 °С;

n_3 – показатель преломления жира при 20 °С (табл. 5).

Таблица 5

Показатели d^{20} и n_D^{20} для некоторых жиров, применяемых в кондитерском производстве

Жиры	$d^{20} \cdot 10^3$, кг/м ³	n_D^{20}
Сливочное масло	0,920	1,4640
Маргарин	0,923	1,4690
Арахисовое масло	0,914	1,4680–1,4720
Оливковое масло	0,910–0,918	1,4690–1,4720
Кукурузное масло	0,918–0,927	1,4720–1,4740
Хлопковое масло	0,918–0,932	1,4720–1,4770
Кунжутное масло	0,916	1,4720–1,4760
Подсолнечное масло	0,924	1,4740–1,4760
Соевое масло	0,922	1,4754

В приведенную формулу вводят известные значения и получают:

$$\omega = 0,46 \frac{1,6580 - n_2}{n_2 - 1,4624}.$$

Контрольные вопросы

1. Какие соединения называются жирами и какова их структурная формула в общем виде?
2. Объясните сущность пробоподготовки при определении жиров в продуктах кондитерского производства.
3. Как и чем экстрагируют жиры из кондитерских изделий?
4. Перечислите специальные требования техники безопасности при экстрагировании жиров хлороформом или петролейным эфиром.
5. Как измеряют показатель преломления растворов жира в 1-бромнафталине?

Лабораторная работа № 12. Измерение показателя преломления растительных масел

Показатель преломления – объективный критерий доброкачественности и чистоты растительных масел, прогорклые масла характеризуются повышенным значением n .

Цель работы: измерение показателя преломления растительных масел на рефрактометре.

Реактивы, посуда и оборудование

Химический стакан вместимостью 50 см³; воронка; капилляр; сухой складчатый фильтр; таймер; рефрактометр; термостат; анализируемое растительное масло.

Выполнение работы

1. *Проведение определения.* Анализируемое масло перемешивают и фильтруют в сухой химический стакан. Капилляром отбирают 2-3 капли прозрачного масла, наносят на нижнюю призму рефрактометра и измеряют показатель преломления при температуре (20±0,2) °С.

Измерения повторяют 3-4 раза, вычисляют среднеарифметическое значение n и сравнивают его с соответствующей величиной, приведенной в табл. 5.

2. *Вычисления.* Если показатель преломления измеряют не при 20 °С, то вводят поправку:

$$n_D^{20} = n_D^t + (t - 20) \cdot 0,0035,$$

где n_D^{20} – показатель преломления масла, измеренный при 20 °С;

n_D^t – показатель преломления, измеренный при температуре t °С;
0,0035 – поправка при изменении температуры на 1 °С.

Контрольные вопросы

1. Объясните сущность определения качества растительного масла рефрактометрическим методом.

2. Почему окисление растительного масла сопровождается повышением показателя преломления?

3. Как оценивают качество рафинированного и нерафинированного масел?

4. Укажите температуру, при которой измеряют показатель преломления растительных масел.

5. Как изменяется показатель преломления масла с повышением температуры?

6. Укажите минимальное содержание продуктов окисления кукурузного масла, определяемое рефрактометрическим методом.

Лабораторная работа № 13. Определение хлорида натрия в рассолах

Методика основана на линейной зависимости показателя преломления рассолов от содержания в них хлорида натрия.

Цель работы: определение показателя преломления рассолов и определение хлорида натрия в них.

Реактивы, посуда и оборудование

Хлорид натрия, ч.д.а.; химический стакан вместимостью 50 см³; капилляр; рефрактометр; термостат; анализируемый рассол.

Выполнение работы

1. *Построение градуировочного графика.* В химическом стакане готовят серию водных растворов хлорида натрия известной концен-

трации. По 2-3 раза измеряют показатель преломления приготовленных растворов при температуре $(20 \pm 0,2)$ °С, вычисляют среднеарифметическое значение n и по этим данным строят градуировочный график в координатах: по оси абсцисс – содержание хлорида натрия, г/100 см³ раствора, а оси ординат – показатель преломления. Например:

NaCl, г/100 см ³ раствора.....	2	6	10	15	20
n_D^{20}	1,3367	1,3433	1,3496	1,3572	1,3645

2. *Проведение определения.* Анализируемый раствор (1-2 капли) капилляром наносят на нижнюю призму рефрактометра и измеряют показатель преломления при температуре $(20 \pm 0,2)$ °С. Измерения повторяют 3-4 раза. Допустим, что среднеарифметическое значение $n = 1,3546$. По градуировочному графику находят, что это соответствует содержанию 13,8 г хлорида натрия в 100 см³ анализируемого рассола.

Контрольные вопросы

1. Где применяются рассолы хлорида натрия в технологии пищевых продуктов?
2. Объясните, почему для определения NaCl в водных растворах рекомендуется рефрактометрический метод анализа.
3. Укажите цель термостатирования призмы рефрактометра.
4. Оцените возможную относительную погрешность определения NaCl в рассолах разного назначения.
5. Укажите массовое соотношение, в котором смешивают растворы хлорида натрия с концентрациями 5 и 20 % (мас.) для получения раствора с концентрацией 16 % (мас.)
6. Оцените селективность определения NaCl в водных растворах рефрактометрическим методом.

2. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

В основе электрохимических методов анализа и исследования лежат процессы, протекающие на электродах или в межэлектродном пространстве.

При выполнении анализа используют функциональную зависимость тока или потенциала, или электрической проводимости от концентрации анализируемого раствора.

Электрохимические методы анализа можно классифицировать в зависимости от параметров, характеризующих электрические свойства растворов (табл. 6).

Таблица 6

Классификация электрохимических методов анализа

Измеряемый параметр	Метод
Потенциал (E)	Потенциометрия
Ток (J)	Вольтамперометрия
Количество электричества (Q)	Кулонометрия
Удельная электрическая проводимость (κ)	Кондуктометрия
Масса (m)	Электрогравиметрия

2.1. Потенциометрические методы анализа

Потенциометрические измерения можно проводить двумя способами.

Первый способ, называемый прямой потенциометрией, заключается в том, что в анализируемый раствор погружают подходящий индикаторный электрод и измеряют его потенциал относительно электрода сравнения, обычно хлорсеребряного. Затем по градуировочному графику, построенному в координатах $E - pC$, находят концентрацию определяемого иона в анализируемом растворе.

Второй способ состоит в измерении потенциала индикаторного электрода в процессе химической реакции между определяемым ионом и подходящим титрантом. По полученной кривой титрования можно найти объем титранта, необходимый для достижения конечной точки титрования, и рассчитать концентрацию определяемого иона. Этот способ называют косвенной потенциометрией или потенциометрическим титрованием.

На практике чаще всего используют первый способ – *прямую потенциометрию*. В настоящее время в аналитической химии широкое применение получают новые методы прямого потенциометрического анализа, объединенные под общим названием – *ионометрия*. Основной задачей ионометрии является разработка, изучение и применение ионоселективных электродов (ИСЭ).

По определению ИЮПАК, ИСЭ – это сенсоры (чувствительные элементы, датчики), потенциалы которых линейно зависят от десятичного логарифма активности ($\lg a$) определяемого иона в растворе.

Известно несколько классификаций ИСЭ:

- по области применения (продукты анализа);
- по конструкции;
- по типу мембран (твердые электроды, пленочные и жидкостные электроды).

Согласно рекомендациям ИЮПАК, различают: электроды с кристаллическими мембранами; электроды с жесткой матрицей (стеклянные); электроды с подвижными носителями – положительно заряженными, отрицательно заряженными, незаряженными (с «нейтральными переносчиками»); сенсibilизированные (активированные) электроды – газочувствительные; ферментные.

Электроды с кристаллическими мембранами. Наиболее совершенным электродом с кристаллической мембраной является фторид-селективный электрод. Мембрана его выполнена из пластинки монокристалла фторид лантана (III) LaF_3 .

Превосходным электродно-активным кристаллическим веществом является сульфид серебра, обладающий малой растворимостью ($K_s \sim 10^{-51}$), высокой устойчивостью к окислителям и восстановителям, низким электрическим сопротивлением.

Электроды с жесткой матрицей. Стеклообразные мембраны изготавливают из специальных стекол, подбирая их состав так, чтобы мембрана проявляла повышенную селективность к определяемому иону и позволяла определить его в присутствии других. Первым ИСЭ был стеклянный электрод для измерения pH.

Электроды на основе мембран с подвижными носителями имеют жидкие мембраны – раствор ионообменника или «нейтрального переносчика» в органическом растворителе, удерживаемый на пористом полимере. Современные конструкции подобных электродов выполняют на основе пластифицированных мембран.

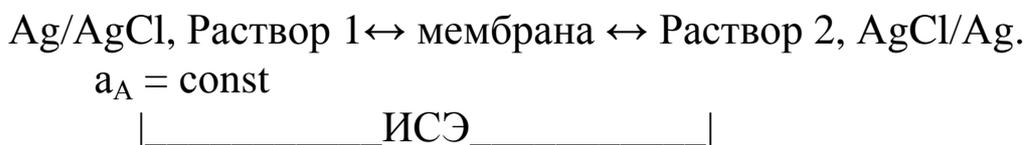
Сенсibilизированные (активированные), или газочувствительные, электроды – это датчики, объединяющие индикаторный электрод и электрод сравнения и имеющие газопроницаемую мембрану или воздушный зазор для отделения анализируемого раствора от тонкой пленки промежуточного раствора электролита. Индикаторный электрод взаимодействует с определяемым газом. Отклик электрода пропор-

ционален парциальному давлению определяемого компонента в анализируемом газе. Определяемый газ: CO₂, NH₃, SO₂, HF, H₂S.

Ферментные электроды – это датчики, в которых ИСЭ покрыт пленкой, содержащей фермент, способный вызвать реакцию органического или неорганического вещества (субстрата) с образованием веществ (ионы, молекулы), на которые реагирует электрод. В основе работы электрода лежит ферментативная реакция, в результате которой образуется частица, обуславливающая отклик электрода:



С целью определения концентрации искомого иона практически собирается электрохимическая цепь, условно записывается следующим образом:



Общая ЭДС данной электрохимической цепи описывается уравнением Нернста:

$$E = E^0 - \frac{2,3RT}{Z_A \cdot F} \cdot \lg a_A.$$

Это уравнение хорошо иллюстрирует частный случай, когда в растворе присутствует только ион А.

В реальных системах имеется большое число ионов, которые существенно влияют на общую величину ЭДС цепи. Эмпирическое уравнение, описывающее величину ЭДС в присутствии посторонних ионов, выглядит следующим образом:

$$E = E^0 - \frac{2,3RT}{Z_A F} \cdot \lg \left(a_A + \sum_{j=1}^n K_{A-j} \cdot a_j \cdot \frac{Z_A}{Z_j} \right),$$

где Z_A – заряд определяемого иона А;

Z_j – заряды посторонних ионов;

n – число видов посторонних ионов;

K_{A-j} – коэффициент селективности, показывающий степень влияния постороннего иона на потенциал электрода;

$$\frac{2,3RT}{Z_A F} = S \text{ – коэффициент Нернста.}$$

На величину S влияет заряд потенциалоопределяющего иона A (табл. 7).

Таблица 7

Зависимость коэффициента Нернста от заряда потенциалоопределяющего иона

Z_A	S , мВ ($t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$)
1	59
2	29
3	19
4	14,5

Следовательно, наибольший наклон градуировочного графика наблюдается для однозарядных ионов, поэтому точность анализа в этом случае будет наибольшей.

Если в анализируемом растворе присутствуют ионы A и B (для простоты – однозарядные), уравнение принимает вид:

$$E = E^0 - S \cdot \lg(a_A + K_{A-B} \cdot a_B).$$

Влияние второго слагаемого в скобках будет проявляться при большей концентрации иона A или при большей величине коэффициента селективности K_{A-B} . При уменьшении a_A , меньше установленной величины, наибольший вклад в общую ЭДС будет определяться ионом B и будет обнаруживаться загиб градуировочного графика. По этой точке считают величину K_{A-B} :

$$K_{A-B} = \frac{a_A}{a_B}.$$

Лучшие электроды имеют коэффициент селективности $\sim 10^{-5} - 10^{-10}$.

Основные характеристики ИСЭ:

- диапазон измеряемых концентраций;
- селективность;

- время отклика (время, по истечении которого потенциал электрода принимает постоянное значение).

Способы определения концентрации:

- а) метод титрования;
- б) метод градуировочного графика.

Области применения ионометрии:

- металлургическая и химическая промышленность;
- объекты окружающей среды;
- контроль качества продуктов питания;
- медико-биологические исследования и др.

Потенциометрические измерения относятся к группе экспрессных, непрерывных методов анализа. Аппаратура, применяемая при измерении с помощью ИСЭ, сравнительно проста и доступна, а сам процесс может быть легко автоматизирован.

Применяют в ионометрическом методе анализа следующие приборы: рН-метр-иономер серии «Эксперт 001» и рН-метр-410 (рис. 7); комплексы на основе рН-метров-иономеров «Эксперт-001».



Рис. 7. рН-метр-иономер «Эксперт-001»

На рис. 8 представлен хлорсеребряный электрод сравнения, который входит в электрохимическую цепь с ионоселективным электродом (рис. 9). Потенциал хлорсеребряного электрода сравнения равен 0,222 В (относительно стандартного водородного электрода) и воспроизводится с точностью $\pm 0,02$ мВ.

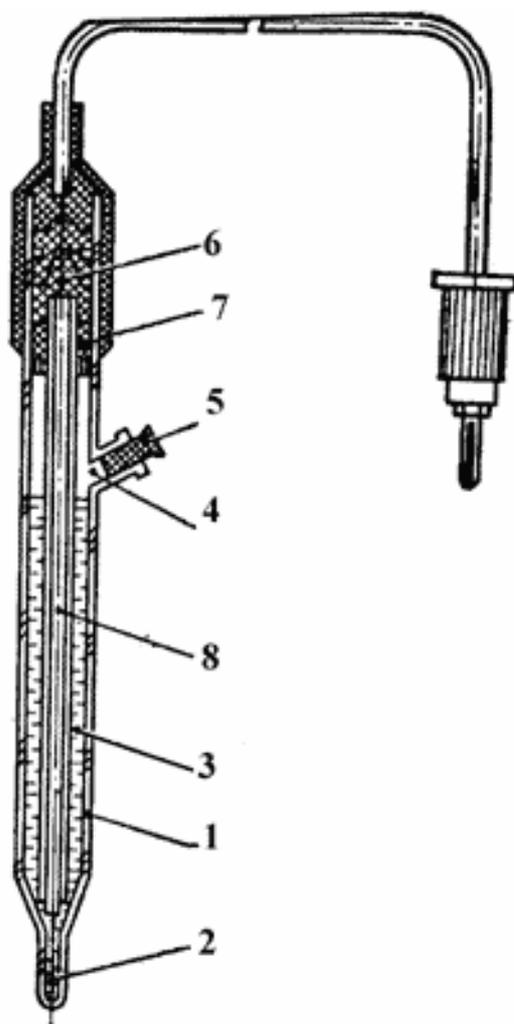


Рис. 8. Хлорсеребряный электрод сравнения



Рис. 9. Ионоселективные электроды

На рис. 10 показан стеклянный электрод для измерения рН, который считается первым ионоселективным электродом. Схема его конструкции представлена на рис. 11.



Рис. 10. Стеклянный электрод

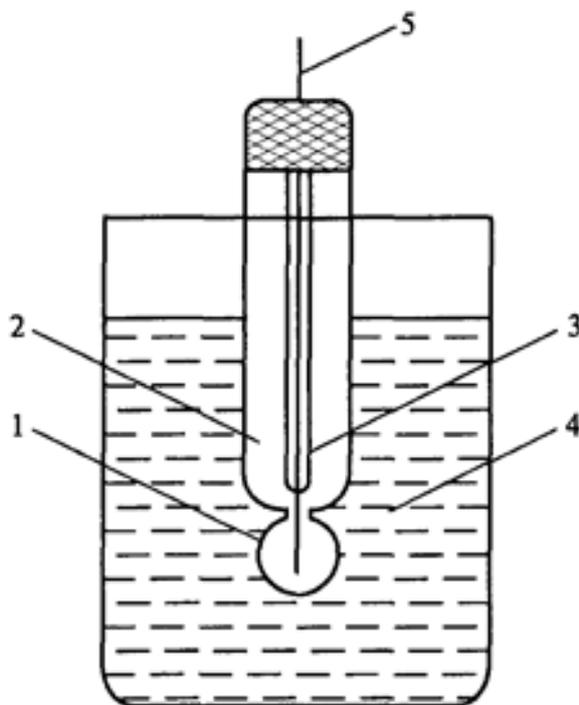


Рис. 11. Схема стеклянного электрода:
1 – стеклянный шарик (мембрана); 2 – внутренний раствор HCl;
3 – хлорсеребряный электрод (Ag/AgCl);
4 – измеряемый раствор; 5 – металлический проводник

Лабораторная работа № 14. Определение нитрат-ионов ионометрическим методом в продуктах растениеводства

Ионометрический метод основан на извлечении нитратов из анализируемого материала раствором алюмокалиевых квасцов и последующем измерении концентрации нитратов в полученной вытяжке с помощью ионоселективного электрода. Метод не пригоден в случае, если содержание хлоридов в исследуемом материале превышает содержание нитратов более чем в 50 раз. Поэтому метод применим для анализа продукции, к которой не добавляют хлориды.

Установлено, что нитратная функция сохраняется практически до 100-кратных избытков ионов Cl^- , до 500-кратных избытков ионов CH_3COO^- , HCO_3^- и до 1000-кратных избытков ионов SO_4^{2-} . Таким образом, наибольшее влияние на нитратную функцию электрода оказывают ионы Cl^- .

Мембраны электродов позволяют работать при pH водных растворов в диапазоне от 2,0 до 10,0.

Цель работы: определение содержания нитрат-ионов в картофеле, моркови, свекле, луке-репке с помощью промышленного электрода марки ЭМИС-121 NO_3 .

Реактивы, посуда и оборудование

Нитрат калия, 1 М раствор; 1%-й раствор алюмокалиевых квасцов; pH-метр-иономер «Эксперт-001»; нитрат-селективный электрод марки ЭМИС-121 NO_3 ; хлорсеребряный электрод сравнения.

Выполнение работы

1. Приготовление реактивов:

А. 1%-й раствор алюмокалиевых квасцов: 10 г квасцов взвешивают с точностью до первого десятичного знака, переносят в колбу вместимостью 1000 cm^3 , растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой не более года. При появлении осадка раствор заменяют свежеприготовленным.

Б. 1 М раствор азотнокислого калия: 10,11 г KNO_3 растворяют в 1%-м растворе алюмокалиевых квасцов в мерной колбе на 1000 cm^3 , доводят до метки этим же раствором.

В. *Приготовление стандартных растворов нитрата калия для градуировочного графика.* Получают десятикратным разбавлением 1 М раствора KNO_3 и доводят до метки 100 см³ дистиллированной водой. Полученный стандартный раствор имеет концентрацию нитрата калия $1 \cdot 10^{-1}$ моль/л. Затем 10 см³ этого раствора переносят в следующую колбу на 100 см³ и получают стандартный раствор нитрата калия с концентрацией $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л и далее продолжают последовательное разбавление растворов и получают стандартные растворы, имеющие $c(\text{NO}_3^-)$, равную $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

2. *Подготовка ионоселективного электрода.* Перед замером электрод помещают на 15 мин в 0,001М раствор KNO_3 . По окончании измерений электрод оставляют на воздухе.

3. *Построение градуировочного графика.* Для построения градуировочного графика концентрации (табл. 8) берут в диапазоне от $1 \cdot 10^{-1}$ до $1 \cdot 10^{-5}$ М, так как в этой области нитратная функция имеет линейный характер. Измеряют ЭДС последовательно, переходя от меньших концентраций к большим.

Таблица 8

Данные для построения градуировочного графика

№ раствора	1	2	3	4	5
C_{KNO_3} , моль/л	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-1}$
E, мВ					

По полученным данным строят градуировочный график. Перед измерением электроды необходимо обмыть водой, обсушить фильтровальной бумагой, после чего погрузить в стаканчик с раствором KNO_3 известной концентрации. Через 1-2 мин записывают показания прибора. Измерения проводят на рН-метре-иономере «Эксперт-001».

4. *Проведение определения.* Пробы, отобранные для анализа, измельчают с помощью терки или мезгообразователя. Зеленые культуры измельчают ножницами или ножом до размера частиц 0,5–1,0 см.

10 г измельченного материала взвешивают с точностью до первого десятичного знака, навеску пробы помещают в стаканчик емкостью 100 мл, приливают 50 мл раствора алюмокалиевых квасцов и перемешивают с помощью магнитной мешалки 3 мин.

При анализе материала, содержащего твердые ткани, пробу массой 10 г растирают в ступке с прокаленным песком или битым стек-

лом до однородной массы. Затем её с помощью 50 мл раствора алюмокалиевых квасцов переносят в стаканчик емкостью 100 мл и перемешивают в течение 3 мин с помощью магнитной мешалки.

В полученной суспензии измеряют концентрацию нитрат-иона, пользуясь градуировочным графиком.

Зная концентрацию, вычисляют содержание нитрат-ионов в анализируемом объеме в мг по табл. 9, 10.

Таблица 9

Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе картофеля, моркови, столовой свеклы, лука-репки

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$									
	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09
	Массовая доля нитрата, млн ⁻¹ (мг/кг)									
1,6	9033	8827	8626	8430	8238	8050	7867	7688	7513	7342
1,7	7175	7012	6852	6696	6544	6395	6249	6107	5968	5832
1,8	5699	5570	5443	5319	5198	5079	4964	4851	4740	4633
1,9	4527	4424	4323	4225	4129	4035	3943	3853	3665	3680
2,0	3596	3514	3434	3356	3280	3205	3132	3061	2991	2923
2,1	2856	2791	2728	2666	2605	2546	2488	2431	2376	2322
2,2	2269	2217	2167	2117	2069	2022	1976	1931	1887	1844
2,3	1802	1761	1721	1682	1644	1606	1570	1534	1499	1465
2,4	1432	1399	1367	1366	1306	1267	1217	1218	1191	1164
2,5	1137	1111	1086	1061	1037	1013	990	963	946	924
2,6	903	883	863	843	824	805	787	769	751	734
2,7	717	701	685	670	654	639	625	611	583	579
2,8	570	557	544	532	520	508	495	485	474	463
2,9	453	442	432	422	413	403	394	385	377	368
3,0	360	351	343	336	328	320	313	306	299	292
3,1	286	279	273	267	261	255	249	243	238	232
3,2	227	222	217	212	207	202	198	193	189	184
3,3	180	176	172	168	164	161	157	153	150	146
3,4	143	140	137	134	131	128	125	122	119	116
3,5	114	111	109	106	104	101	99	97	95	92
3,6	90,3	88,7	86,3	84,3	82,4	80,5	78,7	76,9	75,1	74,4
3,7	71,7	70,1	68,5	67,0	65,4	63,9	62,5	61,1	59,7	58,3
3,8	57,0	55,7	54,4	53,2	52,0	50,8	49,5	48,5	47,4	46,3
3,9	45,3	44,2	43,2	42,2	41,3	40,3	39,4	38,5	47,4	46,3
4,0	36,0	35,1	34,3	33,6	32,8	32,0	31,3	30,6	29,9	29,2

Таблица 10

Перевод величин $pC_{NO_3^-}$ в массовую долю нитрата при анализе арбузов, дынь, огурцов, томатов, лука-пера, столовой капусты

$pC_{NO_3^-}$	Сотые доли $pC_{NO_3^-}$									
	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09
	Массовая доля нитрата, млн ⁻¹ (мг/кг)									
1,6	9188	8979	8775	88575	8380	8189	8003	7821	7643	7469
1,7	7299	7133	6970	6812	6656	6505	6357	6212	6071	5933
1,8	5798	5666	5537	5411	5287	5167	5049	4935	4822	4712
1,9	4605	4500	4398	4298	4200	4104	4011	3920	3830	3743
2,0	3658	3575	3493	3414	3336	3260	3186	3186	3043	2973
2,1	2906	2840	2775	2712	2650	2590	2531	2473	2417	2362
2,2	2308	2256	2204	2154	2105	2057	2010	1964	1920	1876
2,3	1833	1792	1751	1711	1672	1634	1597	1560	1525	1490
2,4	1456	1423	1391	1359	1328	1298	1268	1239	1211	1184
2,5	1157	1130	1105	1030	1055	1031	1007	985	962	940
2,6	919	898	877	856	838	819	800	782	764	747
2,7	730	713	697	681	666	650	636	621	607	593
2,8	580	567	554	541	529	517	505	493	482	471
2,9	461	450	440	430	420	410	401	392	383	374
3,0	366	357	349	341	334	326	319	311	304	297
3,1	291	284	277	271	265	259	253	247	242	236
3,2	231	226	220	215	210	206	201	196	192	188
3,3	183	179	175	171	167	163	160	156	152	149
3,4	146	142	139	136	133	130	127	124	121	118
3,5	116	113	110	108	105	103	101	98	96	94
3,6	91,9	89,8	87,7	85,8	83,8	81,9	80,0	78,2	76,4	74,7
3,7	73,0	71,3	69,7	68,1	66,6	65,0	63,6	62,1	60,7	59,3
3,8	58,0	56,7	55,4	54,1	52,9	51,7	50,5	49,3	48,2	47,1
3,9	46,1	45,0	44,0	43,0	42,0	41,0	40,1	39,2	38,3	37,4
4,0	36,6	35,7	34,9	34,1	33,4	32,6	31,9	31,1	30,4	29,7

Контрольные вопросы

1. Какова основная задача ионометрии?
2. Какой электрод является измерительным?
3. Что такое ионоселективный электрод?

4. Какой электрод является электродом сравнения?
5. Опишите классификацию ИСЭ по ИЮПАК.
6. В каких координатах строится градуировочный график в ионометрии?
7. Что такое селективность ИСЭ?

Лабораторная работа № 15. Определение нитрата методом добавок

Определение содержания нитратов представляет важную аналитическую задачу при анализе различных технологических объектов и объектов окружающей среды, так как известно, что избыточное содержание нитратов в почве и воде оказывает вредное воздействие на живые организмы.

В настоящей работе нитрат-ион определяют методом добавок, который обычно используется для анализа сложных объектов, точный состав которых неизвестен. Предварительно необходимо установить крутизну электродной функции.

Цель работы: определение нитрат-ионов в растворе с помощью нитрат-селективного электрода и определение концентрации методом добавок.

Реактивы, посуда и оборудование

Нитрат калия, 1 М раствор; рН-метр-иономер «Эксперт-001»; нитрат-селективный электрод марки ЭМИС-121NO₃; хлорсеребряный электрод сравнения.

Выполнение работы

1. *Приготовление стандартных растворов нитрата калия для градуировочного графика.* Получают десятикратным разбавлением 1 М раствора KNO₃ и доводят до метки 50 см³ дистиллированной водой. Полученный стандартный раствор имеет концентрацию нитрата калия 1·10⁻¹ моль/л. Затем 5 см³ этого раствора переносят в следующую колбу на 50 см³ и получают стандартный раствор нитрата калия с концентрацией 1·10⁻² моль/л и далее продолжают последовательное разбавление растворов и получают стандартные растворы, имеющие с (NO₃⁻), равную 1·10⁻³, 1·10⁻⁴, 1·10⁻⁵ моль/л.

2. *Подготовка ионоселективного электрода.* Перед замером электрод помещают на 15 мин в 0,001М раствор KNO_3 . По окончании измерений электрод оставляют на воздухе.

3. *Построение градуировочного графика.* Для построения градуировочного графика концентрации (табл. 11) берут в диапазоне от $1 \cdot 10^{-1}$ до $1 \cdot 10^{-5}$ М, так как в этой области нитратная функция имеет линейный характер. Измеряют ЭДС последовательно, переходя от меньших концентраций к большим.

Таблица 11

Данные для построения графика

№ раствора	1	2	3	4	5
C_{KNO_3} , моль/л	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-1}$
J					
γ					
$p\text{NO}_3^-$					
E , мВ					

Перед измерением электроды необходимо обмыть водой, обсушить фильтровальной бумагой, после чего погрузить в стаканчик с раствором KNO_3 известной концентрации. Через 1-2 мин записывают показания прибора. Измерения проводят на рН-метре-иономере «Эксперт-001».

По полученным данным строят график зависимости $E - p\text{NO}_3^-$ и определяют крутизну S электродной функции в мВ. Полученное значение крутизны используют в расчетной формуле в методе добавок.

Значение ионной силы (J) рассчитывают для каждого раствора, величины коэффициентов активности (γ) для соответствующей ионной силы находят в справочных таблицах. Значение $p\text{NO}_3^-$ вычисляют как отрицательный логарифм активности нитрат-иона:

$$p\text{NO}_3^- = - \lg a_{\text{NO}_3^-} .$$

4. *Проведение определения.* Для определения концентрации нитрат-иона в образце необходимо измерить E до и после добавок стандартного раствора KNO_3 . Для этого аликвоту анализируемого раствора 20 см^3 помещают пипеткой в сухой стакан, опускают в него электроды и измеряют E . Затем добавляют по 5 капель стандартного раствора KNO_3 , пользуясь микропипеткой на 1 – 2 мл.

После каждой добавки перемешивают раствор магнитной мешалкой, следя за тем, чтобы она не касалась поверхности мембраны. Затем измеряют E и фиксируют его изменение по отношению к анализируемому раствору. Добиваются изменения E не менее чем на 30 мВ, вводя 2-3 добавки к одной порции образца.

5. *Проведение вычислений.* Рассчитывают результат определения по нескольким добавкам, зная объем V_s добавленного раствора с концентрацией c_s , объем анализируемого раствора V_x (20 см³) и пренебрегая разбавлением, используют формулу

$$c_x = c_s \frac{V_s}{V_x} (10^{\Delta E/S} - 1)^{-1},$$

где ΔE – наблюдаемое изменение потенциала в мВ после добавки;

S – крутизна электродной функции в мВ, установленная по графику.

При необходимости учета разбавления используют более точную формулу:

$$C_x = C_s \frac{V_s}{V_x + V_s} \left[10^{\Delta E/S} - \frac{V_x}{V_x + V_s} \right]^{-1}.$$

Зная концентрацию, вычисляют содержание нитрат-ионов в мг в анализируемом растворе ($M_{\text{NO}_3^-} = 62,01$).

Контрольные вопросы

1. На чем основаны потенциометрические методы анализа?
2. Какая зависимость выражается уравнением Нернста?
3. Какие функции выполняют индикаторные электроды?
4. Какие функции выполняют электроды сравнения?
4. Как устроен стеклянный электрод?
5. Как с помощью стеклянного электрода определяют рН раствора?
6. Какие достоинства и недостатки имеет стеклянный электрод?
7. Каковы основные типы ионоселективных электродов?
8. Как устроены ИСЭ?
9. В чем сущность и области применения методов прямой потенциометрии?

10. В каких случаях можно воспользоваться одной или другой формулой для расчета концентрации в методе добавок?
11. В каких координатах строят кривые потенциометрического титрования?
12. В чем заключается сущность метода добавок?
13. В каких случаях применяют метод добавок для определения концентрации нитрат-ионов?
14. В чем сущность метода концентрационного элемента?

Лабораторная работа № 16. Определение фторид-иона в водах ионометрическим методом

Использование фторидного ионоселективного электрода для контроля содержания фторид-иона в различных водах (природные, сточные и морские), почвах и растительных материалах, в воздухе и сбросовых газах важно при решении проблем окружающей среды.

Электрод на основе LaF_3 обладает уникальной селективностью. Определению не мешают 1000-кратные избытки Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_3^{2-} , SO_4^{2-} и др. Однако отдельные ионы, присутствующие в растворе, могут влиять на величину электродного потенциала вследствие изменения ионной силы раствора или образования комплексных фторидов (например, с ионами алюминия, хрома, бериллия).

Рабочий интервал рН при определении фторид-иона находится в области рН 4,5–12 для 10^{-1} – 10^{-3} М растворов, а для меньших концентраций фторида – в области рН 4,5–8. Положительный дрейф потенциала обусловлен протонизацией фторида с образованием HF и HF_2 . В щелочных растворах происходит отрицательное отклонение потенциала вследствие замещения фторид-ионов в кристаллической решетке LaF_3 ионами гидроксила, так как величины их ионных радиусов близки. Эти помехи можно устранить, используя специальные буферные смеси, например буфер регулирования общей ионной силы с рН 5,0 – 5,5, содержащий 0,25 М CH_3COONa ; 1 М NaCl и 0,001 М цитрата натрия (для маскировки железа и алюминия).

Определение фторид-иона возможно в присутствии ограниченного количества силикат-иона. Механизм его мешающего влияния точно не установлен. Возможно, здесь играют роль адсорбционные процессы на поверхности электрода.

Цель работы: определение содержания фторид-иона в питьевой воде с помощью фторид-селективного электрода.

Реактивы, посуда и оборудование

Фторид натрия, 0,1 М раствор; 1 М KNO₃; буферные растворы с различными значениями pH; pH-метр-иономер «Эксперт-001»; фторид-селективный электрод на основе LaF₃; хлорсеребряный электрод сравнения.

Выполнение работы

1. *Приготовление реактивов:*

А. 0,1 М NaF готовят по точной навеске в колбе на 100 см³.

Б. 1 М *раствор азотнокислого калия:* 10,11 г KNO₃ растворяют в мерной колбе на 1000 см³, доводят до метки дистиллированной водой.

В. *Приготовление стандартных растворов фторида натрия для градуировочного графика:* готовят в колбах вместимостью 50 см³ согласно табл. 12.

Таблица 12

Стандартные растворы NaF в диапазоне 10⁻¹ – 10⁻⁵ М

№ п/п	C _{F⁻} , М	Способ приготовления
1	10 ⁻¹	Используют 0,1 М NaF
2	10 ⁻²	5 см ³ раствора (1) + 4,5 см ³ 1 М KNO ₃ , доводят водой до объема 50 см ³
3	10 ⁻³	5 см ³ раствора (2) + 4,5 см ³ 1 М KNO ₃ , доводят водой до объема 50 см ³
4	10 ⁻⁴	5 см ³ раствора (3) + 4,5 см ³ 1 М KNO ₃ , доводят водой до объема 50 см ³
5	10 ⁻⁵	5 см ³ раствора (4) + 4,5 см ³ 1 М KNO ₃ , доводят водой до объема 50 см ³

2. *Подготовка ионоселективного электрода.* Перед замером электрод помещают на 15 мин в 0,001М раствор NaF. По окончании измерений электрод оставляют на воздухе.

3. *Построение градуировочного графика.* Для построения градуировочного графика концентрации (табл. 13) берут в диапазоне от 1·10⁻¹ до 1·10⁻⁵ М, так как в этой области фторидная функция имеет линейный характер. Измеряют ЭДС последовательно, переходя от меньших концентраций к большим.

Показатели для построения градуировочного графика

№ раствора	1	2	3	4	5
C_{NaF} , моль/л	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-1}$
E , мВ					

Перед измерением электроды необходимо обмыть водой, обсушить фильтровальной бумагой, после чего погрузить в стаканчик с раствором NaF известной концентрации. Через 1-2 мин записывают показания прибора. Измерения проводят на рН-метре-иономере «Эксперт-001».

По полученным данным строят градуировочный график в координатах $E - pC_{\text{F}^-}$.

4. *Проведение определения.* Берут пробу воды для анализа, определяют ее рН. Затем вводят буфер для регулирования общей ионной силы. Раствор переносят в стаканчик на 50 см^3 , в который погружают ИСЭ и электрод сравнения, и снимают значение потенциала фторид-селективного электрода. На градуировочном графике находят значение полученного потенциала, проводят прямую, параллельную горизонтальной оси до пересечения с графиком. Из точки пересечения опускают перпендикуляр на горизонтальную ось и находят концентрацию фторид-иона в воде.

Контрольные вопросы

1. Перечислите основные характеристики ИСЭ.
2. В каких областях нашли широкое применение ИСЭ?
3. Напишите уравнение Нернста, по которому можно рассчитать электродный потенциал.
4. Что такое коэффициент селективности?
5. Напишите уравнение, по которому можно рассчитать электродный потенциал, учитывая в растворе присутствие посторонних ионов.
6. Какие ограничения в работе имеет фторидный электрод?
7. Какие функции выполняют индикаторные электроды и электроды сравнения?

Лабораторная работа № 17. Определение рН растворов

Для определения рН растворов составляют ячейку из стеклянного индикаторного электрода и хлорсеребряного электрода сравнения, погруженных в один и тот же раствор.

Вода диссоциирует на ионы H^+ и OH^- , которые находятся в равновесии с недиссоциированными молекулами H_2O :



Прилагая к этому равновесию закон действия масс, получаем:

$$K = \frac{C_{\text{H}^+} \cdot C_{\text{OH}^-}}{C_{\text{H}_2\text{O}}},$$

$$\text{или } K \cdot C_{\text{H}_2\text{O}} = C_{\text{H}^+} \cdot C_{\text{OH}^-}.$$

Так как концентрация H_2O является постоянной величиной, то произведение $K \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}$ тоже постоянная величина, которая называется ионным произведением воды:

$$C_{\text{H}^+} \cdot C_{\text{OH}^-} = K_w,$$

где K_w – ионное произведение воды.

При 25 °С $K_w = 10^{-14}$, следовательно, при этой температуре $C_{\text{H}^+} \cdot C_{\text{OH}^-} = 10^{-14}$. Так как в чистой воде концентрация ионов H^+ равна концентрации ионов OH^- , то концентрация каждого из ионов при указанной температуре равна:

$$C_{\text{H}^+} = C_{\text{OH}^-} = \sqrt{10^{-14}} = 10^{-7} \text{ моль/л.}$$

Для простоты принято обозначать характер среды раствора десятичным логарифмом концентрации ионов H^+ , взятым с обратным знаком. Этот обратный логарифм концентрации ионов водорода называется водородным показателем и обозначается рН. Например, рН 4 означает, что $C_{\text{H}^+} = 10^{-4}$ моль/л, рН 6 означает, что $C_{\text{H}^+} = 10^{-6}$ моль/л. По рН раствора легко вычислить концентрацию как ионов H^+ , так и ионов OH^- и наоборот.

Вычисление рН сильных кислот:

$$C_{\text{H}^+} = C_{\text{кисл.}};$$

$$\text{рН} = -\lg C_{\text{H}^+} \quad \text{или} \quad \text{рН} = -\lg[\text{H}^+].$$

Вычисление рН сильных оснований. Концентрация ионов OH^- в растворах сильных оснований равна концентрации основания:

$$C_{\text{OH}^-} = C_{\text{осн.}}; C_{\text{H}^+} = \frac{10^{-14}}{C_{\text{осн.}}}$$

C_{H^+} в растворе основания очень мала, поэтому в расчете коэффициент активности не принимается во внимание. Тогда

$$\text{pOH} = -\lg C_{\text{OH}^-}; \text{pH} = \text{p}K_w - \text{pOH} \text{ или } \text{pH} = 14 - \text{pOH}.$$

Вычисление рН слабых кислот и оснований:

а) для растворов слабых кислот

$$C_{\text{H}^+} = \sqrt{K_a \cdot C_a},$$

где K_a – константа кислотности слабого электролита;

C_a – концентрация кислоты.

$$\text{pH} = -\lg C_{\text{H}^+};$$

б) в растворах слабых оснований

$$C_{\text{OH}^-} = \sqrt{K_b \cdot C_b},$$

где K_b – константа основности;

C_b – концентрация основания.

$$\text{pOH} = -\lg C_{\text{OH}^-}; \text{pH} = \text{p}K_w - \text{pOH} \text{ или } \text{pH} = 14 - \text{pOH}.$$

Формулы, по которым проводятся вычисления рН гидролизующихся солей и буферных растворов, представлены в табл. 14.

Цель работы: определение водородного показателя среды кислот, гидроксидов, солей и буферных систем на рН-метре-иономере «Эксперт-001».

Реактивы, посуда и оборудование

Соляная кислота, 0,1 М раствор; соляная кислота, 0,01 М раствор; 0,1 М раствор NaOH; 0,1 М раствор NH_4OH ; 0,1 М раствор Na_2CO_3 ;

0,1 М раствор Na_3PO_4 ; 0,1 М буферные растворы NH_4Cl и NH_4OH ; 0,1 М CH_3COOH и CH_3COONa ; рН-метр-иономер «Эксперт-001»; стеклянный индикаторный электрод; хлорсеребряный электрод сравнения.

Таблица 14

Вычисления рН гидролизующихся солей и буферных растворов

Раствор	$[\text{H}^+]$ или $[\text{OH}^-]$	рН
Гидролиз аниона слабой кислоты	$\sqrt{\frac{K_w \cdot C_{\text{соли}}}{K_a}}$	$7 + 0,5(\text{p}K_a - \text{p}C_B)$
Гидролиз катиона слабого основания	$\sqrt{\frac{K_w \cdot C_{\text{соли}}}{K_B}}$	$7 - 0,5(\text{p}K_B - \text{p}C_A)$
Гидролиз соли, содержащей катион слабого основания и анион слабой кислоты	$\sqrt{\frac{K_w \cdot K_a}{K_B}}$	$0,5(\text{p}K_w + \text{p}K_a - \text{p}K_B)$
Буферная система, содержащая слабую кислоту и ее соль	$K_a \cdot \frac{C_A}{C_{\text{соли}}}$	$\text{p}K_a + \text{p}\frac{C_A}{C_{\text{соли}}}$
Буферная система, содержащая слабое основание и его соль	$K_B \cdot \frac{C_B}{C_{\text{соли}}}$	$14 - \text{p}K_B - \text{p}(C_B/C_{\text{соли}})$

Выполнение работы

1. *Проверка прибора.* Проводят по буферным растворам с известным значением рН.

2. *Проведение определения.* В стаканчики на 50 см^3 наливают приготовленные растворы, опускают в них электроды и снимают показания прибора ($\text{pH}_{\text{эксперим.}}$).

3. *Проведение вычислений $\text{pH}_{\text{теорет.}}$.* Результаты заносят в табл. 15.

Таблица 15

Определение рН водных растворов

Растворы	$[\text{H}^+]$	$[\text{OH}^-]$	$\text{pH}_{\text{экспер.}}$	$\text{pH}_{\text{теорет.}}$
HCl , 0,1 М				
HCl , 0,01 М				
NaOH , 0,1 М				
NH_4OH , 0,1 М				
Na_2CO_3 , 0,1 М				
Na_3PO_4 , 0,1 М				
NH_4Cl и NH_4OH 0,1 М				
CH_3COOH и CH_3COONa 0,1 М				

Контрольные вопросы

1. Что такое водородный показатель?
2. Какой индикаторный электрод использовали при определении рН?
3. Какой электрод применяют в качестве электрода сравнения?
4. Какой электрод ИСЭ считается первым?
5. Как устроен стеклянный электрод?
6. Запишите формулы расчета рН для сильных и слабых кислот.
7. Напишите формулы расчета рН для сильных и слабых оснований.
8. Запишите формулы расчета рН для гидролизующихся солей.
9. Напишите формулы расчета рН для буферных систем.

2.2. Вольтамперометрические методы анализа

Вольтамперометрическими методами называют методы анализа, основанные на регистрации и изучении зависимости тока, протекающего через электролитическую ячейку, от внешнего наложенного напряжения. Графическое изображение этой зависимости называют вольтамперограммой.

Для регистрации вольтамперограмм нужна электролитическая ячейка, состоящая из индикаторного электрода (иногда его называют рабочим электродом) и электрода сравнения. Электродом сравнения обычно служит насыщенный каломельный электрод или слой ртути на дне электролизера (донная ртуть).

В качестве индикаторного используют ртутный капающий электрод, микродисковые платиновый или графитовый электроды.

В зависимости от типа индикаторного электрода вольтамперометрические методы принято делить на полярографию и собственно вольтамперометрию.

Полярография. Если в качестве индикаторного используют ртутный капающий электрод, то полученную зависимость силы тока от напряжения называют полярограммой (рис. 12).

Участок I на полярограмме называют остаточным током. Его величина обусловлена процессами восстановления следов примесей в растворе, в том числе и растворенного кислорода, а также током заряжения. Образование тока заряжения связано с тем, что при снятии полярограммы между поверхностью микроэлектрода и раствором образуется обо-

лочка из невосстанавливающих ионов фонового электролита. Эта система ведет себя как конденсатор. При зарядке такого конденсатора и возникает ток зарядки.

Участок 2 на полярограмме – это участок диффузионного тока, а участок 3 – участок предельного диффузионного тока. Его значение определяется концентрацией восстанавливаемого катиона.

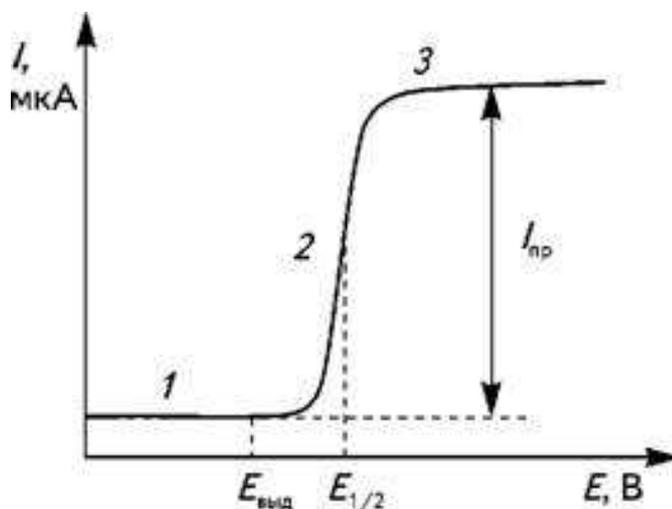


Рис. 12. Полярограмма и ее характеристики

Величина $E_{\text{выд}}$ соответствует потенциалу выделения катиона, после которого начинает возрастать диффузионный ток при росте E .

Потенциал $E_{1/2}$ называют потенциалом полуволны. Его величина не зависит от концентрации анализируемого компонента, а определяется только его природой.

Если электрохимическая реакция протекает обратимо, то зависимость между потенциалом и током можно описать уравнением обратной полярографической волны:

$$E = E_{1/2} - \frac{0,059}{n} \cdot \lg \frac{I}{I_{\text{пр}} - I}.$$

Его можно вывести на основе уравнения Нернста, заменив соотношение концентраций окисленной и восстановленной форм.

Уравнение обратимой полярографической волны дает удобный графический способ нахождения важной количественной характеристики полярограммы – потенциала полуволны $E_{1/2}$ (рис. 13). График позволяет точнее, чем непосредственно по полярограмме, найти величину $E_{1/2}$ и, кроме того, по котангенсу угла наклона ($59,16/n$ мВ при 25°C) оценить число электронов, участвующих в электродной реакции. Если число электронов известно, это же уравнение можно использовать для

оценки обратимости электродного процесса, сравнивая экспериментальную величину котангенса угла наклона с теоретической.

Зависимость диффузионного тока от концентрации деполяризатора выражается уравнением Ильковича:

$$I_d = 607nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}c.$$

Различают качественный и количественный полярографический анализ. В основе качественного полярографического анализа лежит величина потенциала полуволны, характеризующая природу деполяризатора. Его числовое значение показывает процесс восстановления на электроде. Чем менее отрицателен $E_{1/2}$, тем легче протекает восстановление. Потенциал полуволны связан со стандартным потенциалом данной окислительно-восстановительной системы: $E_{1/2}$ для одного и того же вещества зависит от состава фонового электролита.

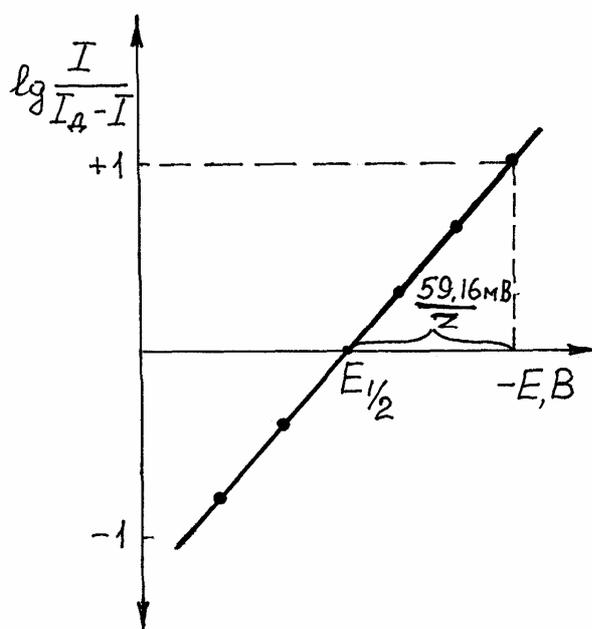


Рис. 13. Графический способ определения потенциала полуволны $E_{1/2}$ по уравнению полярографической волны

Если потенциал полуволны значительно отличается, то на полярограмме раствора смеси нескольких деполяризаторов наблюдаются отдельные волны, которые соответствуют последовательному восстановлению катионов смеси (рис. 14).

В условиях классической полярографии разделение волн наблюдается при разности потенциалов полуволн не менее 0,1 В.

Существуют три способа количественного определения концентрации вещества:

1. *Метод градуировочного графика.* Для построения графика готовят серию из четырех-пяти растворов определяемого вещества с известными концентрациями.

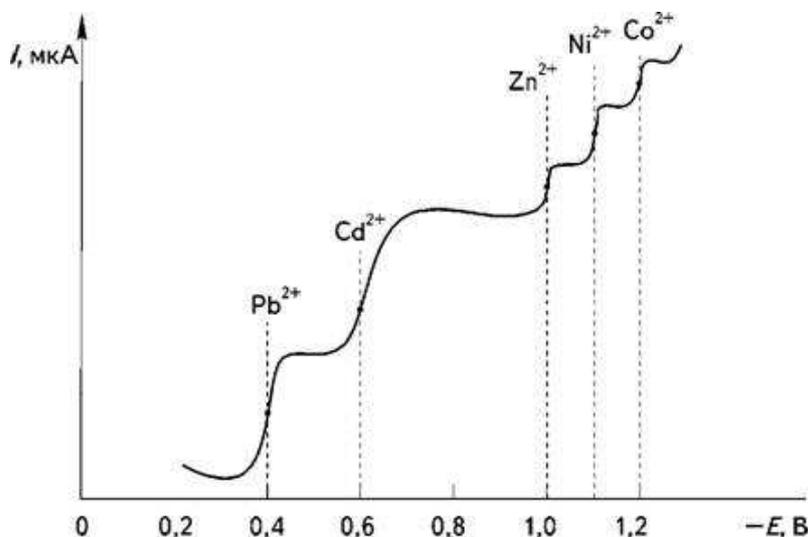


Рис. 14. Полярограмма смеси

Разбавление производят подходящим для определяемого элемента фоновым электролитом. По полученным полярограммам строят градуировочный график в координатах: *высота волны (или диффузионный ток) – концентрация* (рис. 15).

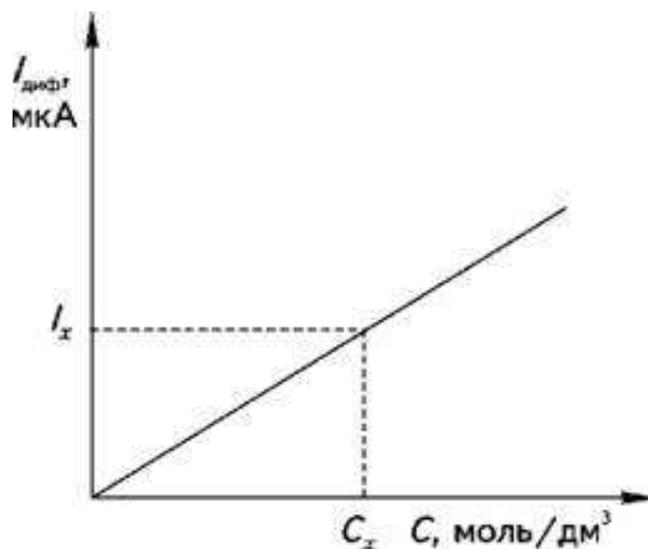


Рис. 15. Градуировочный график в полярографическом анализе

Метод градуировочного графика прост, но не лишен недостатков. Он достаточно трудоемок, главный его недостаток в том, что при приготовлении растворов для построения графика невозможно учесть присутствующие в анализируемом растворе примеси. Поэтому для сложных по составу объектов метод градуировочного графика не очень надежен.

2. *Метод стандартов.* Искомую концентрацию можно рассчитать по формуле

$$C_x = C_{\text{ст.}} \cdot \frac{h_x}{h_{\text{ст.}}},$$

где C_x – концентрация вещества в анализируемом растворе;

$C_{\text{ст.}}$ – концентрация вещества стандартного раствора;

h_x – высота волны на полярограмме анализируемого раствора;

$h_{\text{ст.}}$ – высота волны на полярограмме стандартного раствора.

3. *Метод добавок.* Пусть концентрация вещества в анализируемом растворе – C_x , а высота волны на его полярограмме – h_1 . После введения добавки концентрация стала равной ($C_x + C_{\text{доб.}}$), а высота волны на полученной полярограмме увеличилась и стала равной h_2 . Следовательно, концентрацию можно рассчитать по формуле

$$C_x = C_{\text{доб.}} \cdot \frac{h_1}{h_2 - h_1}.$$

Инверсионная вольтамперометрия. Сущность метода состоит в предварительном накоплении (выделении) анализируемого вещества на индикаторном электроде электролизом с его последующим анодным электрохимическим растворением при линейно изменяющемся потенциале.

Стадия предварительного концентрирования элемента и последующая стадия регистрации аналитического сигнала проходят в одном и том же растворе, что является одним из главных преимуществ инверсионной вольтамперометрии. Кроме этого к несомненным достоинствам метода следует отнести:

- возможность определения значительного числа (более 40) химических элементов и многих органических соединений;
- низкие пределы обнаружения, достигающие для некоторых элементов (например, Cd, Bi, Tl, Pb, Sb, Ni) и органических соединений уровня $10^{-9} - 10^{-10}$ моль/л;

- высокая селективность и хорошие метрологические характеристики;
- легкость компьютеризации и автоматизации аналитических определений.

Электролитическое накопление вещества из раствора проводится в течение определенного времени при постоянном потенциале, который выбирается таким образом, чтобы требуемая электродная реакция протекала на предельном токе, а количество компонента, накопившегося за определенное время, было прямо пропорционально его исходной концентрации в растворе. Раствор во время электролиза перемешивается, как правило, с использованием установки с вращающимся дисковым электродом, чтобы улучшить эффективность стадии накопления. Никаких измерений в течение стадии накопления не проводится.

По окончании стадии предварительного накопления, перед стадией электрохимического растворения выделенного вещества перемешивание раствора прекращают для успокоения раствора. После этого включают развертку потенциала и регистрируют вольтамперограмму (рис. 16). Получаемые при этом вольтамперные кривые имеют пик, положение которого характеризует природу вещества, а его высота пропорциональна концентрации вещества в растворе.

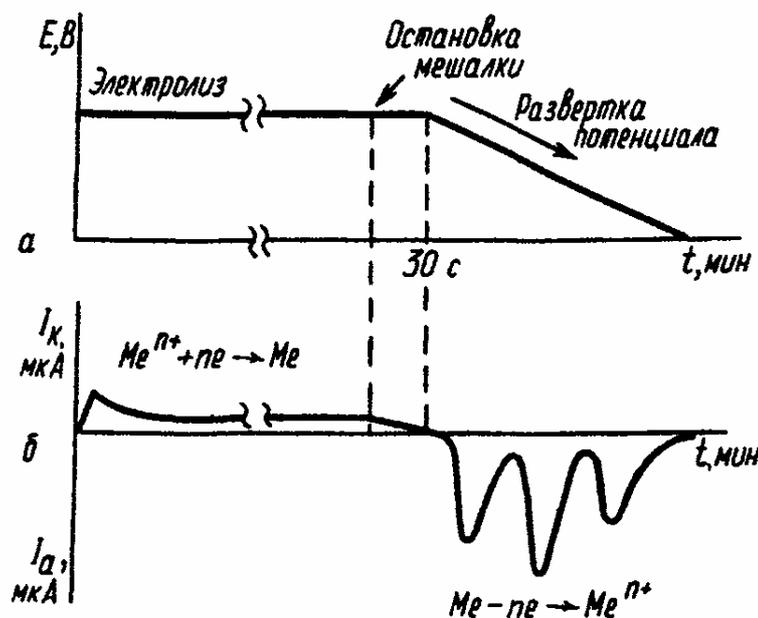
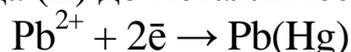


Рис. 16. Развёртка потенциала (а) и изменение тока (б) при регистрации анодной инверсионной вольтамперограммы на стационарном ртутном электроде

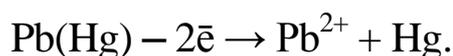
Например, для определения следовых количеств свинца его можно сконцентрировать, проведя электролиз на стационарном ртутном капельном электроде. Он представляет собой каплю ртути, подвешенную на золотой или серебряной проволочке, впаянной в стеклянную трубочку.

При потенциале предельного тока на электроде протекает реакция восстановления ионов свинца (II) до металлического:



и его накопление на электроде в виде амальгамы. Необходимо правильно выбрать фоновый электролит. В зависимости от концентрации ионов свинца электролиз ведут в течение 1–15 мин, чтобы накопить достаточное количество свинца.

По истечении времени электролиза выключают перемешивание, дают раствору успокоиться. Затем регистрируют зависимость тока анодного растворения полученного продукта:



Этот вариант называют *анодной инверсионной вольтамперометрией* (рис. 17).

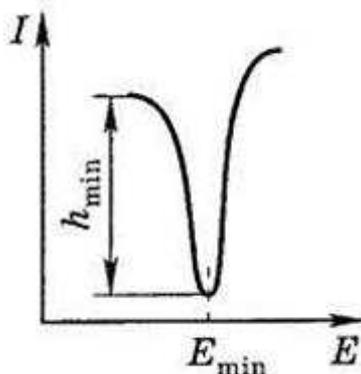


Рис. 17. Кривая анодного растворения

Зависимость силы тока от напряжения при анодном растворении имеет вид характерного пика, глубина h которого пропорциональна концентрации определяемого иона, а потенциал минимума E_{\min} определяется природой иона.

Существует второй вариант метода – *катодная инверсионная вольтамперометрия*. В этом случае вещество концентрируют на электроде в виде продукта окисления. Например, Mn можно концентрировать в виде MnO_2 при потенциале предельного тока окисления $\text{Mn}(\text{II})$ до $\text{Mn}(\text{IV})$.

Метод инверсионной вольтамперометрии пригоден для определения нескольких веществ при совместном присутствии. При правильном выборе фонового электролита на инверсионной вольтамперограмме можно наблюдать отдельные пики компонентов смеси. Для примера на рис. 18 приведена анодная инверсионная вольтамперограмма образца речной воды, содержащей следовые количества меди, кадмия, свинца и цинка.

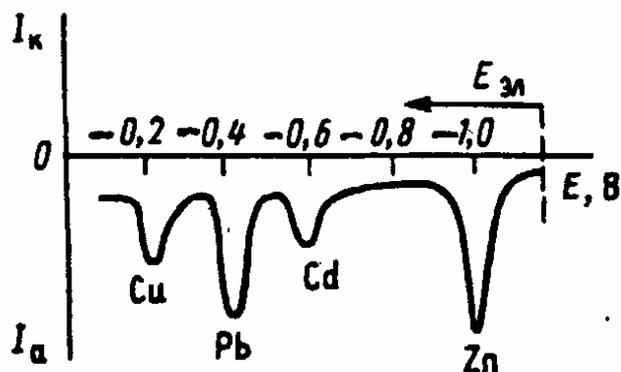


Рис. 18. Анодная инверсионная вольтамперограмма образца речной воды, содержащей 0,5 мкг/л кадмия, 5 мкг/меди и по 15 мкг/л цинка и свинца (предварительный электролиз проводили при -1,2 В на плёночном ртутно-графитовом электроде в течение 5 мин)

Метод инверсионной вольтамперометрии можно применять и для изучения электрохимических свойств и определения фазового состава твердых веществ.

Электроды для инверсионного вольтамперометрического анализа (ИВА). Аналитический сигнал при проведении ИВА формируется за счет процессов, протекающих на поверхности электрода, поэтому очень важен выбор материала электрода и способ обработки его поверхности.

Стационарный ртутный капельный электрод – один из самых популярных электродов в инверсионной вольтамперометрии. Такой электрод состоит из капилляра, соединенного с резервуаром, ртутная капля выдавливается из капилляра и стабилизируется у его устья. Недостаток: с ртутными капельными электродами можно применять только невысокие скорости перемешивания раствора, чтобы избежать сброса капли.

Наряду с использованием стационарной ртутной капли нашел применение и вариант *ртутного пленочного электрода*. Тонкий слой ртути наносят на поверхность подходящей подложки (золото, серебро, графит). Сокращение объема ртути на электроде без уменьшения его поверхности позволяет получить за короткий промежуток времени предэлектролиза амальгаму с более высокой концентрацией металла, а значит, и понизить на один-два порядка предел обнаружения.

Твердые электроды. Использование твердых электродов также получило широкое применение в аналитической практике в тех случаях, когда требуется работа в области положительных потенциалов (где ртутные и ртутно-пленочные электроды не могут использоваться из-за растворения ртути), если металл не образует амальгаму или его растворимость в ртути невелика. Однако при работе с твердыми электродами получение воспроизводимой поверхности часто является основной проблемой для получения воспроизводимых результатов.

Среди наиболее часто используемых в практике электроанализа твердых электродов следует назвать платину, золото, электроды из углеродных материалов (графит, углеситалл, стеклоуглерод). Диапазон рабочих потенциалов для таких электродов обычно зависит от применяемого растворителя, рН раствора и других компонентов.

Лабораторная работа № 18. Определение содержания ионов меди, свинца, цинка, кадмия в водах методом инверсионной вольтамперометрии

Метод инверсионной вольтамперометрии основан на проведении инверсионного вольтамперометрического измерения определяемых ионов по трехэлектродной схеме. Измерения проводят на углеродном макроэлектроде в предварительно подготовленных пробах с использованием вольтамперометрического анализатора «Экотест-ВА».

Инверсионный вольтамперометрический анализ основан на электрохимическом накоплении определяемых элементов на поверхности рабочего электрода в виде амальгамы при заданном потенциале поляризации с последующей количественной регистрацией величин их анодных токов электрорастворения (окисления), имеющих вид пиков на вольтамперограмме.

Цель работы: экспериментальное определение содержания ионов тяжелых металлов (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) в водах методом инверсионной вольтамперометрии.

Реактивы, посуда и оборудование

0,1 М раствор HCl ; 0,1 М раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$; вода; пипетки; колбы; цилиндр; индикаторный электрод; вспомогательный электрод; электрод сравнения; стеклоуглеродный тигель.

Выполнение работы

1. Включение вольтамперометрического анализатора «Экотест-ВА» в сеть. Провести тестирование прибора. Загрузить программу.

2. Подготовка пробы. Провести удаление взвешенных частиц фильтрацией или разрушение органических веществ и ПАВ в пробе минерализацией или фотохимическим окислением.

Подготовку проб при определении цинка, кадмия, свинца и меди проводят по одному из четырех способов:

- В кварцевый стаканчик, проверенный на чистоту, с помощью мерной пипетки помещают $10,0 \text{ см}^3$ пробы анализируемой воды, добавляют $0,1 - 0,2 \text{ см}^3$ концентрированной муравьиной кислоты.

Помещают стаканчик в камеру с источником ультрафиолетового облучения (фотоминерализатор) и проводят облучение раствора при перемешивании в течение 10 – 15 мин. При использовании анализатора со встроенным источником пробу облучают непосредственно в анализаторе, после чего, не вынимая стаканчик из прибора, проводят измерения.

Примечания:

1. При работе с муравьиной кислотой следует соблюдать осторожность: необходимо пользоваться дозатором или пипеткой с грушей.

2. При анализе консервированных проб воды с $\text{pH} < 4$ пробу предварительно упаривают. В фарфоровый тигель или кварцевый стаканчик, проверенный на чистоту, с помощью мерной пипетки помещают $10,0 \text{ см}^3$ анализируемой воды. Пробу упаривают до влажного осадка при температуре $150 - 200 \text{ }^\circ\text{C}$. Добавляют $0,5 \text{ см}^3$ концентрированной соляной кислоты и $0,5 \text{ см}^3$ бидистиллированной воды, упаривают до влажного осадка. Осадок растворяют в $10,0 \text{ см}^3$ фонового электролита. Проводят облучение полученного раствора, как описано выше.

- В фарфоровый тигель или кварцевый стаканчик, предварительно проверенный на чистоту, с помощью мерной пипетки помещают 10,0 см³ анализируемой воды, добавляют 1,0-2,0 см³ концентрированной азотной кислоты и выпаривают при температуре 140 – 170 °С до влажного осадка. К осадку добавляют 1,0-2,0 см³ концентрированной азотной кислоты и 1,0–1,5 см³ пероксида водорода. Раствор упаривают досуха, постепенно поднимая температуру от 120 до 250 °С, не допуская разбрызгивания.

Стаканчик помещают в муфельную печь при температуре 450 °С на 20–30 мин до получения белого осадка. Стаканчик с осадком вынимают из муфельной печи, охлаждают до комнатной температуры. Добавляют 1,0 см³ концентрированной соляной кислоты и выпаривают при температуре 120 – 140 °С до влажного осадка. Осадок растворяют в 10,0 см³ фонового электролита.

Способ предназначен для анализа вод, содержащих растворенные органические вещества, не разрушающиеся под воздействием ультрафиолетового облучения (на вольтамперограмме таких растворов отсутствует пик потенциала цинка, или вольтамперограммы имеют большой наклон).

- 100 см³ пробы, отмеренной цилиндром с точностью до 1,0 см³, помещают в термостойкий химический стакан, приливают 1,0 см³ концентрированной серной кислоты и 1,0 см³ концентрированной азотной кислоты. Упаривают пробу на плитке до остаточного объема 2,0–5,0 см³ и охлаждают. Полученный раствор переносят в мерную колбу объемом 100 см³ и доводят объем раствора до метки на колбе бидистиллированной водой.

- Пробу воды подкисляют соляной кислотой до рН 2. В кварцевый стакан, проверенный на чистоту, помещают 10,0 см³ подкисленной пробы, приливают 0,1 см³ оксида водорода и помещают в фотоминерализатор. Раствор пробы подвергают ультрафиолетовому облучению для разрушения органических веществ при температуре 90 °С в течение 1–2 ч в соответствии с руководством по эксплуатации установки для обработки проб ультрафиолетовым облучением.

3. *Приготовление раствора пробы.* В ячейку (стеклоуглеродный тигель) наливают мерным цилиндром 10 см³ фонового электролита, 10 см³ анализируемой воды и 2 см³ 0,1 М раствора Hg(NO₃)₂ и опускают электроды: индикаторный, вспомогательный и электрод сравнения (хлорсеребряный). Включают ячейку.

4. *Электрохимическая очистка.* Устанавливают потенциал очистки индикаторного электрода.

5. *Накопление.* Проводится электрохимическое концентрирование (накопление) определяемых компонентов на поверхности рабочего электрода из сравнительно большого объема раствора. Производится перемешивание.

6. *Успокоение.* Перед регистрацией вольтамперограммы проводится успокоение раствора (10 – 15 сек.).

7. *Развертка и регистрация.* Нажимают кнопку «сброс развертки». Осуществляют вывод вольтамперограмм (зависимость «ток–потенциал»). Измеряют высоты пиков потенциалов Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} (табл. 16).

Таблица 16

Приблизительные значения потенциалов пиков определяемых ионов металлов

Определяемый элемент	Индикаторный электрод	Потенциал аналитического сигнала элемента, В
Zn	РПЭ	- 0,90
Cd	РПЭ	- 0,60
Pb	РПЭ	- 0,40
Cu	РПЭ, Hg-УЭ	от - 0,05 до - 0,20

Потенциал пика зависит от природы определяемого металла и фонового электролита. На этом основан качественный анализ.

Контрольные вопросы

1. В чем сущность полярографических методов анализа?
2. Как рассчитать потенциал полуволны на основании вольтамперометрической кривой?
3. От чего зависит величина предельного тока?
4. На чем основан качественный полярографический анализ?
5. Какие аналитические приемы используют в количественной полярографии?
6. Что представляет собой инверсионная полярография?
7. Как взаимосвязаны потенциал полуволны и предельный (диффузионный) ток?
8. Какие величины входят в уравнение Ильковича?
9. Каково практическое применение уравнения Ильковича?

3. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Хроматография – это физико-химический метод разделения веществ, основанный на распределении компонентов между двумя фазами – подвижной и неподвижной. Неподвижной (стационарной) фазой обычно служит твердое вещество (его часто называют сорбентом) или пленка жидкости, нанесенная на твердое вещество. Подвижная фаза представляет собой жидкость или газ, протекающий через неподвижную фазу.

Компоненты анализируемой смеси вместе с подвижной фазой передвигаются вдоль стационарной фазы, которую обычно помещают в стеклянную (или металлическую) трубку, называемую колонкой. В зависимости от силы взаимодействия с поверхностью сорбента (за счет адсорбции или по какому-либо еще механизму) компоненты перемещаются вдоль колонки с разной скоростью. Одни компоненты остаются в верхнем слое сорбента, другие, с меньшей степенью взаимодействия с сорбентом, оказываются в нижней части колонки, некоторые покидают колонку вместе с подвижной фазой. Таким образом компоненты разделяются.

Хроматография – гибридный аналитический метод, в котором хроматографическая колонка – часть аналитической системы, сочетающей разделение и определение. Метод позволяет разделять многокомпонентную смесь, идентифицировать компоненты и определять ее количественный состав.

3.1. Классификация хроматографических методов анализа

В основу классификации положены следующие признаки: агрегатное состояние подвижной и неподвижной фаз; механизм взаимодействия «сорбент – сорбат»; форма слоя сорбента; цель хроматографирования.

А. По агрегатному состоянию фаз хроматографию разделяют на газовую и жидкостную. *Газовая хроматография* включает газожидкостную и газотвердофазную. Подвижной фазой является инертный газ (азот, гелий, водород). Пробу подают в виде паров, неподвижной фазой служит либо твердое вещество, либо жидкость, нанесенная на твердый носитель. В качестве носителей используют кизельгур (диатомит) – разновидность гидратированного силикагеля. Часто его об-

рабатывают реагентами, которые переводят группы Si-OH в группы Si-O-Si (CH₃)₃, что повышает инертность носителя. Носителями могут служить хромосорб W, газохром Q.

В *жидкостной хроматографии* выделяют следующие разновидности: жидкостно-жидкостную, жидкостно-твердофазную и жидкостно-гелевую. Первое слово в названии метода характеризует агрегатное состояние подвижной фазы, второе – неподвижной.

Для ускорения процесса хроматографирования его проводят под давлением. Такой метод называется высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЖХ).

Б. По механизму взаимодействия сорбента и сорбата можно выделить несколько видов хроматографии:

- *распределительная* (основана на различии в растворимости разделяемых веществ в подвижной и неподвижной жидких фазах);

- *ионообменная* (основана на разной способности веществ к ионному обмену);

- *адсорбционная* (основана на различии в адсорбируемости веществ твердым сорбентом);

- *эксклюзионная* – на различии в размерах и формах молекул разделяемых веществ и т.д.

В. По технике выполнения различают *колоночную хроматографию* (разделение проводится в специальных колонках) и *плоскостную* [разделение проводится на специальной бумаге (бумажная хроматография) или в тонком слое сорбента (тонкослойная хроматография)].

Г. По цели хроматографирования выделяют *аналитическую хроматографию* (качественный и количественный анализ); *препаративную* (для получения веществ в чистом виде, для концентрирования и выделения микропримесей); *промышленную* (производственную).

По технике выполнения на практике часто находят применение колоночная хроматография. Существует несколько приемов разделения веществ на колонках:

- *первый способ*: пробу в виде раствора или газа пропускают через колонку. При этом компоненты смеси (например, А, В, С, D) распределяются вдоль сорбента, образуя зоны. Сорбент с зонами называют *внутренней хроматограммой* (рис. 19).

Если вещества окрашены, то внутренняя хроматограмма позволяет судить о качественном составе смеси. Если компоненты не окра-

шены или необходимо количественно определить содержание компонента в каждой зоне, то прибегают к другим способам хроматографирования;

- *второй способ – фронтальная хроматография.* Сначала колонку промывают растворителем, а затем непрерывно пропускают раствор смеси веществ (например, А, В, С). На выходе из колонки собирают раствор, называемый *элюатом*. Первым выйдет наименее сорбируемый компонент, затем смесь этого компонента и вещества с несколько большей сорбируемостью (рис. 20) и т.д.

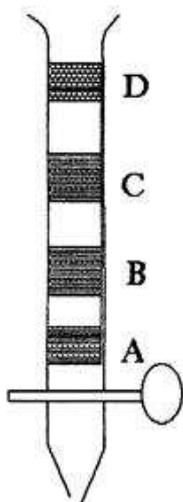


Рис. 19. Вид внутренней хроматограммы

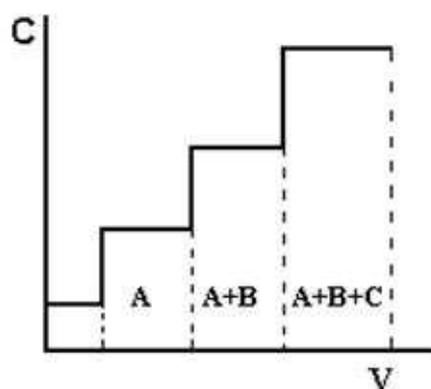


Рис. 20. Хроматограмма фронтального метода

Таким способом удастся выделить в чистом виде лишь один компонент смеси – наименее сорбируемый;

- *третий способ – элюентная хроматография.* При этом способе в колонку вводят небольшую порцию смеси и промывают колонку растворителем, называемым *элюентом*. По мере прохождения элюента через колонку вещества перемещаются вместе с ним с разной скоростью, зависящей от сродства к сорбенту. В результате на выходе из колонки сначала появляется наименее сорбируемое вещество, а затем другие вещества в порядке возрастания сорбируемости. Фиксируя аналитический сигнал, на выходе получают элюентную хроматограмму, состоящую из ряда пиков, каждый из которых соответствует отдельным компонентам смеси.

Из всех видов хроматографии наибольшее значение имеет элюентная колоночная хроматография (рис. 21).

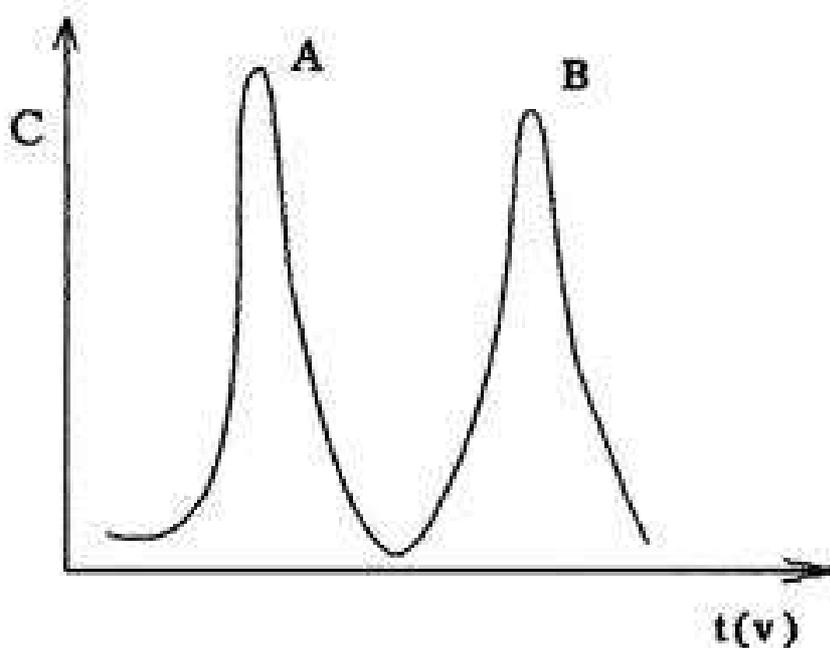


Рис. 21. Хроматограмма элюентного метода

Каждый пик на элюентной колоночной хроматограмме характеризуют временем удерживания, шириной и формой (рис. 22). Время удерживания t_R отсчитывают от момента ввода смеси в колонку до появления на выходе из колонки максимума пика. Время удерживания складывается из двух составляющих – времени вещества в подвижной t_m и неподвижной t_s фазах:

$$t_R = t_m + t_s.$$

Значение t_m фактически равно времени прохождения через колонку несорбируемого компонента. Значение t_R не зависит от количества пробы, но зависит от природы вещества и сорбента. Поэтому для характеристики истинной удерживающей способности следует ввести исправленное время удерживания t'_R :

$$t'_R = t_R - t_m.$$

С параметром t_R связан параметр, называемый индексом удерживания R :

$$R = \frac{t_m}{t_R},$$

где t_m – время прохождения (мертвое время) растворителя или неудерживаемого вещества через ту же колонку.

Для каждого вещества характерно свое R , поэтому R вместе с t_R служат для идентификации веществ.

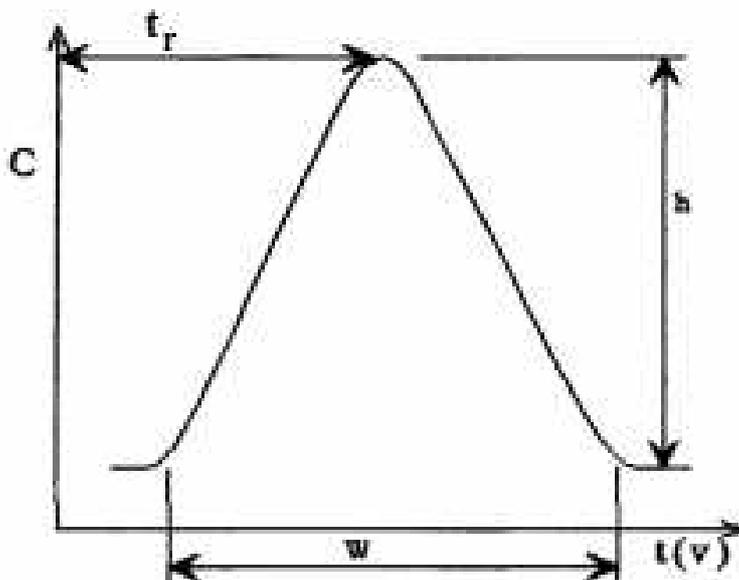


Рис. 22. Способ графической обработки элюентной хроматограммы

Для характеристики пика используют также параметр, называемый удерживаемым объемом V_R :

$$V_R = t_R \cdot F,$$

где F – скорость, с которой продвигается определенный объем потока, $\text{см}^3 \cdot \text{с}^{-1}$.

Объем для вымывания несорбируемого компонента (мертвый объем) выражается через t_m : $V_m = t_m F$ и включает в себя объем колонки, не занятый сорбентом, объем коммуникаций от устройства ввода пробы до колонки и от колонки до детектора. *Исправленный удерживаемый объем* соответственно равен:

$$V'_R = V_R - V_m.$$

Таким образом, на практике используют исправленное время удерживания t'_R и исправленный объем удерживания V'_R .

Для идентификации веществ по хроматограмме обычно используют стандартные образцы или чистые вещества, сравнивая время удерживания неизвестного вещества t_x с временем удерживания известного вещества $t_{ст}$.

Площадь пика S пропорциональна количеству вещества в смеси, поэтому S используют в количественном анализе.

В некоторых случаях, когда хроматограмма состоит из узких пиков, допускается использовать для количественного анализа высоту пика h . Площадь пика измеряют различными способами, например графическим (как площадь треугольника) или планиметром, взвешиванием вырезанных пиков. В современных хроматографах для этой цели предусмотрен электронный интегратор. Автоматизация хроматографического анализа с помощью персональных компьютеров позволила значительно усовершенствовать идентификацию и количественную обработку хроматограмм.

Содержание i -го компонента в смеси по хроматограмме находят одним из методов:

1) *методом абсолютной калибровки*, т.е. по градуировочному графику зависимости типа S или h от содержания (в г) i -го компонента;

2) *методом внутреннего стандарта*, когда в анализируемую смесь неизвестного количественного состава вводят известное количество не содержащегося в ней вещества – внутреннего стандарта. Внутренний стандарт должен быть инертен к компонентам исследуемой смеси, а его физико-химические свойства должны быть близки им.

Содержание i -го компонента смеси (в %) находят по формуле

$$X_i = \frac{S_i \cdot 100r}{S_{\text{ст.}}} \quad \text{или} \quad X_i = \frac{h_i \cdot 100r}{h_{\text{ст.}}},$$

где r – отношение массы внутреннего стандарта к массе анализируемого вещества.

В процессе движения по колонке зона вещества вследствие диффузии размывается, что сказывается на ширине пиков. Ширина пиков W равна основанию треугольника, образованного касательными к левой и правой ветвям пика. Ширина пиков определяется эффективностью хроматографической системы. В качестве меры размывания зоны используют параметр, имеющий размерность длины и называемый высотой, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), H :

$$H = \frac{L}{N} = \frac{L}{16} \left(\frac{W}{t_R} \right)^2,$$

где L – длина колонки;

W – ширина пика;

N – число теоретических тарелок.

При расчете H значения W и t_r необходимо брать одной размерности (или в сек., или в мм).

В хроматографии, как и в дистилляции, используют параметр N – число теоретических тарелок:

$$N = \frac{L}{H} = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2.$$

Теоретическая тарелка – это гипотетическая зона, высота которой соответствует достижению равновесия между двумя фазами. Чем больше теоретических тарелок в колонке, т.е. чем большее число раз устанавливается равновесие, тем эффективнее колонка.

Полнота разделения и правильность определения зависят от того, насколько отделены пики друг от друга. Желательно, чтобы они не перекрывались, в то же время расстояние между ними не должно быть очень большим, так как это замедляет анализ. Для характеристики полноты разделения пиков служит величина, называемая разрешением R_s :

$$R_s = \frac{(t_{R(A)} - t_{R(B)})^2}{W_A + W_B} \quad \text{или при } W_A \approx W_B \quad R_s = \frac{\Delta t_R}{W}.$$

При $R_s < 0,8$ разрешение пиков, как правило, неудовлетворительное, при $R_s = 1$ перекрывание составляет около 2 % и лишь при $R_s = 1,5$ можно считать, что оба вещества разделены полностью. Значение $R_s = 1,5$ является оптимальным для симметричных пиков. Если пики асимметричны, то оптимальное значение R_s должно быть больше 1,5.

3.2. Хроматографические параметры

Коэффициент емкости. Эта характеристика показывает, насколько сильно вещество А удерживается сорбентом:

$$K = \frac{n_{подв.}}{n_{неподв.}},$$

где K – коэффициент емкости;

$n_{подв.}$ и $n_{неподв.}$ – число молей вещества А в подвижной и неподвижной фазах соответственно.

Коэффициент распределения равен:

$$D = \frac{C_{\text{неподв.}}}{C_{\text{подв.}}},$$

где D – коэффициент распределения;

$C_{\text{неподв.}}$ и $C_{\text{подв.}}$ – концентрации вещества А в неподвижной и подвижной фазах.

Коэффициент разделения α :

$$\alpha = \frac{D_A}{D_B},$$

где D_A и D_B – коэффициенты распределения веществ А и В.

Лабораторная работа № 19. Разделение и обнаружение ионов методом бумажной хроматографии

Хроматография на бумаге – это разновидность метода распределительной хроматографии. Носителем для неподвижного растворителя служит фильтровальная бумага, а не колонка с сорбентом.

Бумажная хроматография может быть классифицирована по способу проведения:

- *восходящая* – движение растворителя и веществ смеси происходит снизу вверх по носителю (рис. 23);
- *нисходящая* – движение растворителя и веществ смеси происходит сверху вниз по носителю (рис. 24);
- *радиальная* – движение растворителя и веществ смеси происходит из центра носителя по радиусу к периферии (рис. 25).

Органический растворитель всегда быстрее пропитывает носитель, чем вода.

Метод хроматографии на бумаге широко применяется для определения неорганических соединений, аминокислот, аминов, белков, углеводов, жирных кислот, фенолов, витаминов в химической, пищевой, фармацевтической промышленности, медицине, биохимии.

Эффективность бумажной хроматографии зависит как от типа бумаги, так и от состава подвижной фазы. Сорты бумаги различаются пористостью, толщиной, степенью гидратации. По скорости движения растворителя различают быстрые, средние и медленные бумаги.

Бумажная хроматография имеет большое значение для качественного анализа. Ее использование в количественном анализе ограничено.

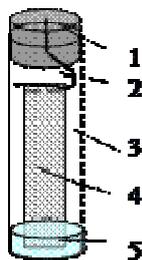


Рис. 23. Камера для восходящей хроматографии:

1 – пробка; 2 – крючок; 3 – стеклянный сосуд; 4 – полоска бумаги; 5 – растворитель

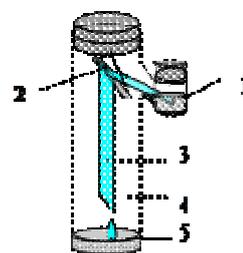


Рис. 24. Хроматографическая камера для нисходящей хроматографии:

1 – растворитель; 2 – переключатель для бумаги; 3 – полоска бумаги; 4 – стеклянный сосуд; 5 – стекающий растворитель

Разделение смесей веществ или ионов с помощью хроматографии на бумаге основано на различной скорости движения компонентов, которую характеризуют коэффициентом движения (рис. 26).

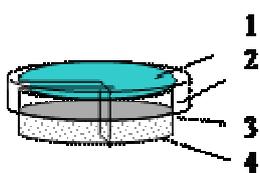


Рис. 25. Разделение веществ методом круговой хроматографии:

1 – хроматографическая бумага;
2 – крышка;
3 – чашка Петри;
4 – органический растворитель

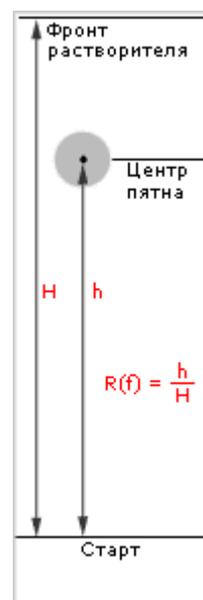


Рис. 26. Количественные характеристики хроматограммы

Коэффициент движения ионов R_f можно рассчитать по формуле

$$R_f = \frac{h}{H},$$

где h – расстояние от линии старта до середины зоны хроматографируемого соединения;

H – расстояние, пройденное растворителем от стартовой линии до линии фронта.

Под фронтом растворителя понимают видимую границу распределения растворителя на бумаге.

Коэффициент движения каждого иона – постоянная величина, не зависящая от концентрации анализируемого раствора, температуры, присутствия других катионов и природы аниона, с которым связан изучаемый катион. Однако величина R_f зависит от состава и свойств используемого подвижного растворителя, а также сорта хроматографической бумаги. Чем больше величина R_f , тем быстрее продвигается катион по бумаге, тем лучше отделяется он от других катионов с низким коэффициентом движения.

Цель работы: разделение и обнаружение ионов методом бумажной хроматографии.

Реактивы, посуда и оборудование

<i>Катион</i>	<i>Реагент</i>
Ni^{2+}	диметилглиоксим, аммиак (пары);
Cu^{2+}	гексацианоферрат (II) калия, 10% раствор;
Pb^{2+}	йодид калия, 10% раствор;
Zn^{2+}	дитизон, 1% раствор в хлороформе;
Al^{3+}	ализарин, аммиак (пары);
Fe^{3+}	тиоцианат калия.

Растворитель-смесь (по объему): HCl (конц.) – 8 %, ацетон – 87 %, вода – 5 %; раствор KOH 1 M; хроматографическая бумага 20×2 см (можно использовать фильтровальную); стеклянный цилиндр с крышкой, песчаная баня; капилляр.

Выполнение работы

1. *Подготовка хроматографической бумаги с исследуемой смесью катионов.* На полоске хроматографической бумаги длиной 20 см

и шириной 2 см проводят стартовую линию на расстоянии примерно 2 см от края, на которую в центре капилляром наносят каплю исследуемого раствора так, чтобы диаметр пятна не превышал 2-3 мм. Пятно обводят карандашом.

2. *Вычисление высоты подъема зоны каждого катиона.* В стеклянный цилиндр с крышкой наливают 10–15 см³ растворителя. Полоску бумаги с нанесенным раствором опускают в цилиндр так, чтобы ее конец был погружен в раствор (полоска бумаги не должна касаться стенок цилиндра). После того как растворитель отойдет от линии старта не менее чем на 10 см, процесс прекращают, полоску бумаги вынимают из цилиндра и тщательно высушивают над песчаной баней. Измеряют расстояние H между стартовой линией и фронтом растворителя по величине R_f , вычисляют высоту подъема h зоны каждого катиона из заданной комбинации:

<i>Катион</i>	Ni ²⁺	Al ³⁺	Pb ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Fe ³⁺
R_f	0,13	0,15	0,70	0,77	0,94	0,1

Для обнаружения катиона капилляром с реагентом прикасаются к участку хроматограммы на высоте размещения зоны данного компонента. Появление характерной окраски подтверждает присутствие катиона в исследуемом растворе.

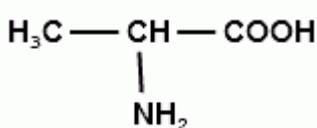
Контрольные вопросы

1. В чем сущность хроматографического процесса?
2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?
3. На чем основан качественный хроматографический анализ?
4. В чем сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ)?
5. Как проводится качественный и количественный анализ методом ТСХ?
6. Перечислите варианты бумажных хроматограмм.
7. Что в данной работе служит подвижной фазой?
8. Что в данной работе служит неподвижной фазой?
9. Чему равен коэффициент движения компонентов с помощью хроматографии на бумаге?

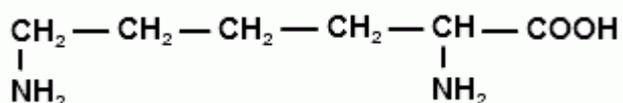
Лабораторная работа № 20. Разделение и определение смеси аминокислот методом бумажной хроматографии

Разделение аминокислот (α -аланин, лизин, лейцин) на бумаге основано на различии их коэффициентов распределения между подвижной и неподвижной фазами.

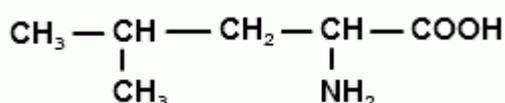
Для проявления хроматограмм используют раствор нингидрина, образующий с аминокислотами окрашенные соединения. После проявления хроматограмм определяют R_f аминокислот-свидетелей и идентифицируют исследуемые аминокислоты:



α -аланин



ЛИЗИН



лейцин

Цель работы: ознакомление с методом разделения на бумаге смеси простейших аминокислот.

Реактивы, посуда и оборудование

α -аланин; лизин, лейцин; органический растворитель (бутанол, ледяная уксусная кислота, вода в соотношении по объему 12:3:5); этанол; раствор с массовой концентрацией нингидрина в ацетоне 1%; хроматографическая бумага; пульверизатор; микропипетка.

Выполнение работы

1. *Приготовление растворов аминокислот.* Смесь аминокислот (взвешивают по 10 мг лизина, аланина и лейцина, смешивают) растворяют в 10 мл раствора с объемной концентрацией этанола 80 %, при отсутствии какой-либо из аминокислот для приготовления смеси можно взять другие аминокислоты с существенно различающимися величинами R_f .

Растворы аминокислот-метчиков, или «свидетелей», по 10 мг каждой из аминокислот, взятых для приготовления смеси, растворяют в отдельных флаконах в 10 мл раствора с объемной концентрацией этанола 80 %.

2. *Приготовление подвижного растворителя.* Смесь (бутанол, ледяная уксусная кислота, вода в соотношении по объему 12:3:5) встряхивают в делительной воронке и после расслоения используют в качестве подвижного растворителя верхний слой смеси. Полученный раствор, приготовленный для разделения смеси аминокислот, наливают в одну из половин чашки Петри по 15–20 мл.

3. *Подготовка хроматографической бумаги с исследуемой смесью аминокислот.* Хроматографическую бумагу следует брать только пинцетом. Из хроматографической бумаги вырезают квадрат со стороной на 0,5 см больше диаметра используемой для работы чашки Петри (рис. 27).

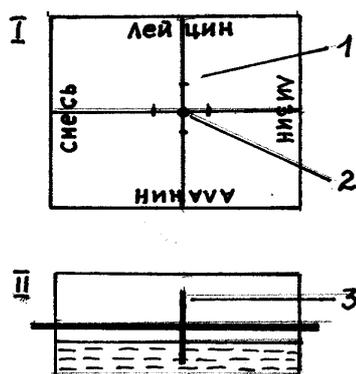


Рис. 27. Хроматография аминокислот:
 I – общий вид радиальной хроматограммы;
 II – схема хроматографической камеры

Двумя перпендикулярными линиями, проведенными карандашом через центр, квадрат делят на четыре сектора. По краю каждого сектора делают простым карандашом надпись о наносимом веществе. На взаимно перпендикулярных прямых, отступив от центра 1,5 см к краю каждой стороны квадрата, сделать карандашом метки (1). Это будет место для нанесения пробы (стартовая линия). В отмеченные точки микропипеткой наносят растворы аминокислот (в соответствии с надписью) или смесь в объеме 0,002 – 0,01 мл. Нанесение осуществляют прикосновением острого конца заполненной микропипетки

к бумаге в отмеченную точку и ее быстром поднятии. При этом на бумаге должно оставаться пятно диаметром не более 3-4 мм. После полного подсыхания пятна операцию повторяют.

Так поступают до тех пор, пока весь раствор из микропипетки не будет перенесен на отмеченную точку (стартовую линию). В центре хроматограммы просверливают отверстие (2) и в него вставляют фитилек (трубочку, скрученную из хроматографической бумаги). Фитилек (3) должен плотно прилегать к краям отверстия, высота его должна быть несколько меньше, чем внутренняя высота камеры.

4. *Проведение разделения смеси аминокислот на бумаге.* Хроматограмму укладывают на половинку чашки так, чтобы фитилек располагался в центре и касался ее дна. Для уменьшения испарения растворителя хроматограмму накрывают второй половиной чашки, добиваясь совмещения краев чашки. Насыщенный неподвижной фазой растворитель по фитильку непрерывно поступает к центру хроматограммы и, двигаясь к краям, растворяет нанесенные аминокислоты и увлекает их за собой. При этом каждая из аминокислот движется по слою бумаги с определенной скоростью, что обусловлено коэффициентом распределения.

Скорость аминокислот неодинакова, так как зависит от степени их растворения в неподвижной и подвижной фазах растворителя. Аминокислоты с полярными незаряженными, отрицательно и положительно заряженными (гидрофильными) радикалами движутся медленно, вместе с водой, некоторые – чуть впереди воды. Аминокислоты с неполярными, гидрофобными радикалами перемещаются быстрее, так как вода, продвигаясь по бумаге, выталкивает их, а бутилово-уксусная фракция увлекает за собой. После того как растворитель дойдет почти до краев чашки, хроматограмму снимают, удаляют фитилек, простым карандашом проводят линию между сухой и мокрыми зонами бумаги (отмечают границу фронта растворителя) и высушивают в вытяжном шкафу.

Затем хроматограмму смачивают в налитом в ванночку растворе с массовой концентрацией нингидрина в ацетоне 1 %, вновь высушивают в вытяжном шкафу и помещают для развития окраски пятен аминокислот на 1,5-2 мин в сушильный шкаф при температуре 100 °С или прогревают над плиткой до полного развития окраски комплексов аминокислот с нингидрином.

5. *Определение коэффициента подвижности аминокислот.* Замеряют расстояние, пройденное каждой аминокислотой от точки старта до середины пятна (h), и расстояние, пройденное растворителем в данном секторе (H). По формуле рассчитывают коэффициент подвижности:

$$R_f = \frac{h}{H}.$$

Идентификация аминокислот, содержащихся в смеси, осуществляется по совпадению их позиций с позицией аминокислот-метчиков на хроматограмме, по совпадению коэффициентов подвижности и по однородности окраски пятен.

R_f для аминокислот при разделении на бумаге растворителем, состоящим из бутанола, уксусной кислоты и воды, приведены в табл. 17.

Таблица 17

Коэффициенты подвижности аминокислот (R_f)

Аминокислота	R_f	Аминокислота	R_f	Аминокислота	R_f
Цистеин	0,08	Оксипролин	0,22	Тирозин	0,4
Гистидин	0,11	Глицин	0,23	Триптофан	0,5
Лизин	0,12	Аспарагиновая кислота	0,23	Метионин	0,5
Аспарагин	0,12	Треонин	0,26	Валин	0,5
Глутамин	0,17	Глутаминовая кислота	0,28	Фенилаланин	0,6
Аргинин	0,15	Аланин	0,30	Изолейцин	0,6
Серин	0,22	Пролин	0,34	Лейцин	0,7

Хроматографический метод позволяет произвести и количественное определение аминокислот в смеси. Для этого пятна аминокислот смеси и аминокислот-метчиков обводят карандашом, нумеруют, вырезают, делают в них надрезы и помещают в пробирки. Затем в пробирки наливают по 3 мл насыщенного сульфатом меди раствора

с объемной концентрацией этанола 80 %, содержащее в пробирках перемешивают и ставят в темное место на 30 мин (каждые 10 мин содержащее пробирок перемешивают). Окраска с бумаги переходит в раствор этанола с образованием медных производных синевioletового Руэмана, окрашенных в красный цвет.

Оптическую плотность окрашенных растворов аминокислот-метчиков и аминокислот смеси измеряют при 540 нм (зеленый светофильтр) на ФЭКе против насыщенного сульфатом меди раствора с объемной концентрацией этанола 80 %. Массовую концентрацию каждой аминокислоты в смеси рассчитывают по формуле

$$X = \frac{c \cdot V \cdot D_2}{D_1 \cdot V_1},$$

где X – массовая концентрация аминокислоты в исследуемой смеси, мг/мл;

C – массовая концентрация аминокислоты-метчика (свидетеля), мг/мл;

V – объем нанесенного на хроматограмму раствора аминокислоты-метчика, мл;

V_1 – объем нанесенного на хроматограмму раствора исследуемой смеси, мл;

D_2 – оптическая плотность раствора с пятна аминокислоты смеси;

D_1 – оптическая плотность раствора с пятна аминокислоты-метчика.

Контрольные вопросы

1. Что такое аминокислоты?
2. Какой тип хроматограммы используется при разделении смеси аминокислот на бумаге?
3. Для каких целей применяется распределительная хроматография?
4. К какому типу по технике выполнения можно отнести бумажную хроматографию?
5. В чем состоит проявительный (элюентный) анализ?
6. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) индекс удерживания?
7. Как влияет температура на хроматографический процесс?
8. Чем характеризуется ионообменное равновесие?

9. Чем отличается ионная хроматография от обычной ионообменной?

10. От чего зависит скорость движения аминокислот в процессе хроматографии?

11. Перечислите разновидности метода хроматографии на бумаге.

4. СРЕДСТВА И МЕТОДЫ ОПЕРАТИВНОГО АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ. ПРИМЕНЕНИЕ ТЕСТ-МЕТОДОВ И СЕНСОРОВ В АНАЛИЗЕ

Тест-методы и сенсоры – это группа аналитических устройств для прямого, селективного, автоматизированного в случае сенсоров, а также простого и быстрого контроля или диагностики разнообразных объектов. Они не заменяют обычных методов анализа, а позволяют получать оперативные данные о состоянии объекта и принимать решения о необходимости отбора пробы и последующего лабораторного анализа.

Появление и применение в качестве инструмента химического анализа тест-методов и сенсоров связано с несколькими причинами. Одной из основных причин является накопление большого количества техногенных веществ в окружающей среде. Отбор огромного числа проб и их анализ в стационарных лабораториях потребовал бы резкого увеличения численности аналитиков, количества проведенных анализов и, соответственно, не всегда оправданных затрат. Используя тест-методы и сенсоры, оценку содержания того или иного вещества в воздухе, воде, почве, растениях прямо на месте может производить не только химик-аналитик, но и геолог, эколог, биолог.

Другая область применения тест-методов и сенсоров – контроль появления ядовитых или отравляющих и других опасных веществ в воздухе рабочей зоны, населенных пунктах, а также состояния среды в труднодоступных условиях, например при извержении вулканов.

4.1. Тест-методы

Тест-методы не требуют сложного лабораторного оборудования и специального обучения персонала. Тест-методы могут быть *химическими, биохимическими и биологическими*. Химические и биохимические

мические тест-наборы, как правило, снабжаются стандартными цветовыми шкалами, по которым оценивают приближенное содержание определяемого компонента в объекте.

Химические тест-методы используют реакции с окрашенными неорганическими или органическими реагентами, которые при контакте с определяемым компонентом изменяют цвет. Окрашенный реагент наносят на твердую матрицу, в качестве которой используют впитывающую целлюлозную бумагу, полимерные материалы или неорганические сорбенты. Закрепление реагентов на матрице может быть адсорбционным или ковалентным.

Адсорбционное закрепление осуществляется пропиткой матрицы раствором соответствующего реагента. Матрица может дополнительно пропитываться буферными растворами, маскирующими, эмульгирующими, закрепляющими соединениями, катализаторами, стабилизаторами и т.д. Недостатком этого способа закрепления реагента является возможность его вымывания водой и загрязнения исследуемого раствора. Поэтому подобные тесты предназначены для однократного использования.

Ковалентный способ заключается в его иммобилизации на матрице путем многостадийного синтеза с использованием вспомогательных реагентов. В результате реагент ковалентно связывается с материалом матрицы. Такой способ закрепления реагентов приводит к тому, что тесты можно длительно хранить и многократно применять, разрушая образующиеся продукты реакции промыванием водой или кислотой. Если матрицей является бумага, то такие тесты называют реактивными индикаторными бумагами (РИБ). Контакт с анализируемым объектом осуществляется прямым опусканием РИБ в жидкость или прокачиванием воздуха через индикаторную трубку.

В биохимических тест-методах на матрице иммобилизируют различные ферменты, антигены или антитела. Биотесты позволяют контролировать содержание болезнетворных микроорганизмов в природных и питьевых водах.

Тест-методы применяют для качественного и количественного экспресс-анализа природных и сточных вод, технологических растворов, биологических жидкостей, воздуха и других газовых сред при оценке экологической ситуации, санитарном и технологическом контроле, медицинском обследовании.

4.2. Сенсоры

Сенсорами называют чувствительные элементы небольших размеров, генерирующие аналитический сигнал, интенсивность которого зависит от концентрации определяемого вещества в объекте. В отличие от тест-методов сенсоры позволяют проводить не визуальное, а инструментальное количественное измерение содержания вещества, связанное с предварительной градуировкой прибора по стандартам.

Сенсоры являются, по сути дела, основными элементами нового поколения аналитических приборов, включающих устройство для ввода пробы, чувствительный элемент, обработку аналитического сигнала и выдачу конечного результата о концентрации компонента.

Существует три типа сенсоров: *физические*, *химические* и *биосенсоры*. В физических сенсорах какие-либо реакции отсутствуют, а под влиянием анализируемого вещества изменяются электрические, тепловые, магнитные или спектральные характеристики.

В химических и биосенсорах имеется в наличии рецептор – слой молекул или частиц вещества, участвующего в химических, биохимических и биологических процессах, протекающих при контакте сенсора с определяемым компонентом объекта. Другим необходимым элементом таких сенсоров является *трансдьюсер* – преобразователь энергии указанных аналитических процессов в электрический или световой сигнал. Далее этот сигнал обрабатывается в электронном блоке и подается на дисплей.

В *химических сенсорах* роль рецептора играют различные реагенты, которые изменяют оптические, электрохимические или иные характеристики при изменении рН раствора, взаимодействии с катионами, анионами или молекулами газов в жидких и газообразных объектах промышленного производства, окружающей среды, медицины.

Химические сенсоры дают прямую информацию о составе среды без отбора пробы и ее какой-либо предварительной подготовки. Они могут работать автономно и обычно связаны с системой накопления информации и ее обработки.

Для повышения избирательности химических сенсоров перед химически чувствительным слоем размещают ионообменные и иные мембраны, селективно пропускающие частицы определяемого вещества.

Селективность электрохимического сенсора в значительной степени определяется материалом электрода.

В *биосенсорах* рецепторами служат ферменты, антитела, антигены, биологические мембраны (биохимические сенсоры) или микроорганизмы (биологические сенсоры). Основная область применения биосенсоров – анализ жидких сред в медицине, биотехнологии, химической, пищевой промышленности и окружающей среде. Преимущества биосенсоров заключаются в высокой селективности и чувствительности определений. Их недостатки – невысокая стабильность, трудность получения биоорганического материала постоянного состава.

Трансдюсерами в биосенсорах могут быть электрохимические и оптические преобразователи, калориметрические системы и т.д.

Наибольшее развитие получили ферментные и клеточные биосенсоры. Сочетание ферментативных и электрохимических реакций позволило разработать многие биосенсоры для определения аминокислот, глюкозы, мочевины и других продуктов жизнедеятельности.

Применения биосенсоров весьма многообразны. Уникален экспресс-анализ качества воды и сточных вод на основании определения БПК (биологическое потребление кислорода). Традиционный метод анализа занимает несколько дней, биосенсор с иммобилизованными клетками дает те же результаты в течение нескольких минут. Применение биосенсоров в качестве биологического компонента ДНК может радикально изменить диагностику заболеваний, особенно на ранних стадиях. Интенсивно ведутся работы для ранней диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, предрасположенности к раку и т.д.

Другая классификация сенсоров основана на способе регистрации аналитического сигнала. Сенсоры делят на электрические, электрохимические (вольтамперометрические, потенциометрические, кондуктометрические, кулонометрические); оптические (фотометрические, люминесцентные, оптотермические); сенсоры, чувствительные к изменению массы и т.д.

К *электрическим сенсорам* относят полупроводниковые устройства с электронной проводимостью на основе оксидов Sn, Zn, Cd, Cr, Ti, W, V, органических полупроводников (хелаты фталоцианинов, порфиринов и другие органические соединения), полевых транзисторов. Измеряемыми величинами являются проводимость, заряд, емкость, разность потенциалов. Наиболее распространены и перспективны полевые транзисторы, в которых металлический контакт затвора (управляющего электрода)

заменен химически чувствительным слоем и электродом сравнения. Главные достоинства полевых транзисторов – это малые габариты и масса, быстрое действие.

В *электрохимических сенсорах* химическое превращение и генерация аналитического сигнала протекают в миниатюрной электрохимической ячейке, выполняющей роль ионоселективного электрода с жидкой или твердой мембраной. Наиболее распространены потенциометрические и амперометрические сенсоры, мембраны которых могут содержать как химические, так и биохимические компоненты. С помощью электрохимических сенсоров определяют ионные и нейтральные соединения органической и неорганической природы, а также газы и биологически активные вещества в широком диапазоне концентраций.

Действие *оптических сенсоров* (оптодов) основано на измерении поглощения и отражения падающего светового потока, люминесценции или теплового эффекта, сопровождающего поглощение света рецептором. В волоконно-оптических сенсорах фоточувствительный реагент может быть иммобилизован на поверхности волокна световода, изготовленного из кварца или других видов стекол, позволяющих работать в УФ-, видимой и ИК-области спектра. Разработаны оптические сенсоры для определения pH, ионов металлов, анионов, глюкозы, мочевины, пероксида водорода, газов, некоторых органических соединений в объектах окружающей среды, медицине, промышленности.

На основе сенсоров конструируют сенсорные анализаторы, представляющие собой батарею отдельных сенсоров, каждый из которых дает информацию о содержании отдельного компонента. Подключенная к компьютеру, такая батарея обеспечивает анализ сложных многокомпонентных смесей. Сенсорные анализаторы контролируют содержание многих органических и неорганических примесей в воздухе, природных и сточных водах.

Применение сенсоров в анализе является новым, интенсивно развивающимся направлением.

Контрольные вопросы

1. Для каких целей используют тест-методы?
2. Какие применяют тест-методы и из чего они выполняются?
3. Каким действием обладают устройства, используемые в тест-методах?
4. Для каких целей применяют сенсоры?

5. В чем отличие сенсоров от тест-методов?
6. Чем различаются разные типы сенсоров?
7. Каково преимущество сенсоров?

II. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Основными характеристиками любого метода анализа являются чувствительность, предел обнаружения, воспроизводимость и правильность.

Чувствительность – это параметр, характеризующий изменение измеряемого сигнала y при изменении концентрации c . Для количественной оценки чувствительности служит коэффициент чувствительности S :

$$S = \frac{dy}{dc}, \text{ или } S = \frac{\Delta y}{\Delta c}.$$

Таким образом, S – это первая производная функции $y = f(c)$. На практике удобно использовать линейную зависимость y от c :

$$y = ac + b,$$

где a – коэффициент чувствительности;

b – значение параметра y в отсутствие определяемого компонента ($c = 0$), т.е. значение y холостой пробы.

Очевидно, что a – тангенс угла наклона прямой $y = f(c)$, отсекающей отрезок b по оси y (рис. 28). Эту прямую называют градуировочным графиком.

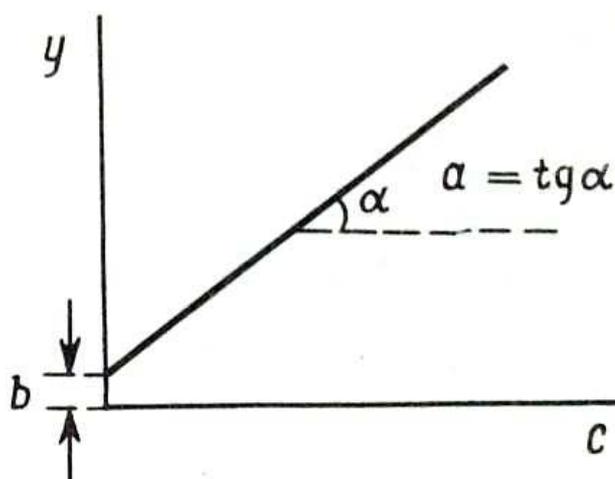


Рис. 28. Градуировочный график

Коэффициенты a и b можно вычислить методом регрессионного анализа. Если проведено n измерений параметра y при разных значениях c , то по методу наименьших квадратов

$$a = \frac{n\sum c_i y_i - \sum c_i \sum y_i}{n\sum c_i^2 - (\sum c_i)^2}; \quad b = \frac{\sum y_i - b\sum c_i}{n}.$$

Если зависимость между y и c нелинейна, то стараются превратить ее в линейную. Например, функцию типа $y = kc^n$ можно привести к линейному виду логарифмированием:

$$\lg y = \lg k + n \lg c.$$

Воспроизводимость – параметр, отражающий случайные ошибки измерения и показывающий степень разброса повторных (параллельных) измерений. Критериями воспроизводимости служат отклонение d от среднего результата серии измерений \bar{y} и размах выборки w (разность между максимальным и минимальным значениями). Если разброс значений y можно описать нормальным (гауссовым) распределением, то для оценки воспроизводимости обычно рассчитывают дисперсию V , стандартное отклонение s или относительное стандартное отклонение s_r .

Среднее для выборки из n результатов находят по формуле

$$\bar{y} = \frac{y_1 + y_2 + \dots + y_i + \dots + y_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}.$$

Поскольку всякая ошибка (как положительная, так и отрицательная) характеризует отклонение от среднего арифметического, при вычислении воспроизводимости можно характеризовать средним отклонением:

$$\Delta_{cp} = \frac{\sum (y_i - \bar{y})}{n},$$

где y_i – результат отдельного определения;

\bar{y} – среднее арифметическое.

Более строгое выражение для характеристики ошибки выражают через дисперсию стандартного отклонения:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1}}; V = s^2,$$

где $n - 1 = f$ – число степеней свободы;

V – дисперсия,

и относительное стандартное отклонение:

$$s_r = \frac{s}{\bar{y}}.$$

Следовательно, дисперсия стандартного отклонения (s) и относительное стандартное отклонение (s_r) характеризуют воспроизводимость результатов химического анализа.

Предел обнаружения $c_{\text{мин},P}$ – наименьшая концентрация, которую можно обнаружить с доверительной вероятностью P :

$$c_{\text{мин},P} = \frac{y_{\text{мин}} - \bar{y}_{\text{хол.}}}{S},$$

где $y_{\text{мин}}$ – предельное значение аналитического сигнала, которое можно еще измерить на данном приборе;

\bar{y} – среднее значение этого параметра в холостом опыте;

S – коэффициент чувствительности.

Для оценки $y_{\text{мин}}$ используют статистические критерии – k (коэффициент, характеризующий доверительную вероятность) и $s_{\text{хол.}}$ (стандартное отклонение холостого опыта):

$$y_{\text{мин}} = \bar{y}_{\text{хол.}} + ks_{\text{хол.}}$$

Коэффициент k принимают равным 2, 3 и выше. Чем больше значение k , тем выше предел надежного обнаружения сигнала.

Для оценки предела обнаружения нужно найти стандартное отклонение холостого опыта (желательно провести не менее 12 измерений) и коэффициент чувствительности измерения:

$$C_{\text{мин},P} = \frac{ks_{\text{хол.}}}{S}.$$

Правильность – параметр, характеризующий близость полученного и истинного значений измеряемой величины. Правильность характеризуется систематической погрешностью, которая связана с работой прибора, с индивидуальными особенностями аналитика, с ошибками расчета, с методическими погрешностями. Опасность систематической погрешности особенно велика при анализе сложных объектов, таких как почвы, руды, минералы.

Существуют определенные приемы выявления систематической погрешности, из них наиболее известны:

- 1) использование стандартных образцов;
- 2) варьирование массы навески;
- 3) метод добавок (метод «введено-найдено»);
- 4) сравнение результатов анализа независимыми методами.

Если выявлены и устранены или учтены систематические погрешности, то результат определения представляют в виде среднего значения с указанием доверительного интервала, в который попадает результат с заданной вероятностью P :

$$\bar{x} \pm \frac{s}{\sqrt{n}} t_P,$$

где \bar{x} – среднее значение;

s – стандартное отклонение;

n – число определений;

t_P – коэффициент Стьюдента.

Контрольные вопросы

1. Перечислите основные характеристики физико-химических методов анализа.
2. Что такое воспроизводимость?
3. Что служит критериями воспроизводимости?

4. Что называется пределом обнаружения?
5. Как называется параметр, характеризующий близость полученного и истинного значений измеряемой величины?
6. Перечислите приемы выявления систематической погрешности.
7. Что такое коэффициент Стьюдента?

ЛИТЕРАТУРА

1. Основы аналитической химии. Практическое руководство: учеб. пособие для вузов / В.И. Фадеева, Т.Н. Шеховцова, В.М. Иванов и др.; под ред. Ю.А. Золотова. – 2-е изд., испр. – М.: Высшая школа, 2003.
2. Харитонов, Ю.Я. Аналитическая химия: в 2 кн.: учеб. для вузов / Ю.Я. Харитонов. – М.: Высшая школа, 2005.
3. Цитович, И.К. Курс аналитической химии: учеб. для вузов / И.К. Цитович. – М.: Высшая школа, 2009.
4. Васильев, В.П. Аналитическая химия: в 2 кн.: учеб. для вузов / В.П. Васильев. – М.: Дрофа, 2009.
5. Золотов, Ю.А. Основы аналитической химии: в 2 кн.: учеб. для вузов / Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И. Фадеева [и др.]. – М.: Высшая школа, 2000.
6. Коренман, Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: в 4 кн. /Я.И. Коренман. – 2-е изд., перераб. и доп. – Книга 2. Оптические методы анализа. – М.: КолосС, 2005.
7. Коренман, Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: в 4 кн. /Я.И. Коренман. – 2-е изд., перераб. и доп. – Книга 3. Электрохимические методы анализа. – М.: КолосС, 2005.
8. ГОСТ Р 52180-2003. Вода питьевая. Определение содержания элементов методом инверсионной вольтамперометрии. – М.: Издательство стандартов, 2004.

Учебное издание

Комова Вера Ивановна

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Учебно-методическое пособие

Редактор Т.Д. Васильева
Технический редактор Н.А. Соловьева

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Государственный университет - учебно-научно-
производственный комплекс»

Подписано к печати 22.05.2015 г. Формат 60×90 1/16.

Усл. печ. л. 6,7. Тираж 100 экз.

Заказ №_____

Отпечатано с готового оригинал-макета
на полиграфической базе ФГБОУ ВПО «Госуниверситет - УНПК»,
302030, г. Орел, ул. Московская, 65.