

2022

Министерство науки и высшего образования РФ

ИФХЭ РАН, Медицинский Университет «РЕАВИЗ»,
Московский финансово-промышленный университет «Синергия»

А.В. Афанасьев, Е.В. Белова, К.Э. Герман

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В МЕДИЦИНЕ

Учебное пособие

Издательский дом Граница

Москва

2022



Министерство науки и высшего образования РФ

ИФХЭ РАН, Медицинский Университет «РЕАВИЗ»,
Московский финансово-промышленный университет «Синергия»

Афанасьев А.В., Белова Е.В., Герман К.Э.

Физико-химические методы анализа в медицине

Учебное пособие

Издательский дом «Граница»,
Москва
2022



ББК Ес25я73
К 14
УДК 543.87

Рецензенты: д-р мед. наук, профессор кафедры биохимии МУ Реавиз А.В. Бабичев, гл. н. сотр. ИФХЭ РАН, д-р хим. наук, проф., заслуж. работник науки В.Ф. Перетрухин

Афанасьев А.В., Белова Е.В., Герман К.Э.
Физико-химические методы анализа в медицине:
Учебное пособие. Москва, Издательский дом «Граница», 2022, 236 с.

Под редакцией проф. Германа К.Э.

Данное учебное пособие написано в соответствии с содержанием Государственных образовательных стандартов и программой дисциплины “Физико-химические методы анализа” по специальности “Медицина”, направлению и программой большого практикума (раздел “Физико-химические методы анализа”), который выполняется студентами по специальности “Биология”, «Биотехнология»

В нем изложены основы физико-химических методов анализа. Рассмотрены условия и области применения методов, их достоинства и недостатки, ограничения, перспективы развития и другие особенности и характеристики.

В конце каждой главы даны задания для самостоятельной работы, приведены контрольные вопросы.

Предназначено для студентов-медиков, биологов, химиков, аспирантов, научных работников.

ISBN 978-5-9933-0367-3

© Издательский дом «Граница», 2022. 236 с.

©Афанасьев А.В., Белова Е.В., Герман К.Э. 2022.



СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
Глава 1. Химические методы анализа	9
1.1. Основы количественного анализа	9
1.2. Кислотно-основное титрование	13
1.3. Оксидиметрия	28
1.4. Комплексонометрия	33
1.5. Методы осаждения	36
1.6. Гравиметрия	54
Глава 2. Физико-химические методы анализа	76
2.0. Электрохимические методы анализа	76
2.1. Потенциометрия	78
2.2. Кулонометрия	109
2.3. Кондуктометрия	116
2.4. Электрофорез	136
Глава 3. Хроматографические методы анализа	176
Глава 4. Спектральные (оптические) методы анализа	202
Рекомендованная литература	231

Введение

Химия как основа всех биологических процессов входит в число наук, составляющих фундамент медицины. Химические методы исследования и анализа постоянно применяются в диагностике заболеваний и профилактических обследованиях. Химический синтез является основой изготовления большинства лекарств. Разнообразные новые материалы, созданные химией в последние годы, широко используются в медицинском оборудовании и при изготовлении искусственных органов.

Физико-химические методы исследования – это название большого числа способов количественного и качественного определения веществ, которые предполагают, как правило, применение различных, часто довольно сложных, измерительных приборов. За рубежом распространен термин “инструментальные методы анализа”. В основе физико-химических методов лежат законы физики и физической химии, а аппаратное оформление основано на применении современных достижений оптики и электроники.

Постоянно открываются новые свойства веществ, которые могут привести к созданию новых методов. Поэтому важно знать фундаментальные свойства и общие закономерности, на которых основано развитие тех или иных родственных методов, уметь выбрать метод, наиболее подходящий в данных обстоятельствах, дающий наибольшую и достоверную информацию. Надо отметить,



что не существует универсального метода, пригодного на все случаи жизни. В для объективности современным стандартом является совместное использование двух или более методов.

Методы анализа, основанные на наблюдении и измерении физических свойств анализируемой системы (интенсивность окраски, электропроводность, потенциал электрода и т.п.), происходящих в результате определенных химических реакций, называют физико-химическими методами.

Общее число физико-химических методов анализа составляет несколько десятков. Наибольшее практическое значение среди них имеют:

- 1) спектральные методы;
- 2) электрохимические методы;
- 3) хроматографические методы анализа.

Наиболее обширной по числу методов и важной по практическому значению является группа спектральных методов анализа, которая включает в себя методы эмиссионной атомной спектроскопии, атомно-абсорбционной спектроскопии, электронной и инфракрасной спектроскопии, спектрофотометрии и другие методы, основанные на измерении различных эффектов при взаимодействии вещества с электромагнитным излучением.

Группа электрохимических методов анализа, основанная на измерении электрической проводимости, потенциалов и других свойств, включает методы кондуктометрии, потенциометрии, вольтамперометрии и т.д.



В группу хроматографических методов входят методы газовой и газожидкостной хроматографии, жидкостной распределительной, тонкослойной, ионообменной и других видов хроматографии.

Возрастающая абсолютная чувствительность методов позволяет анализировать содержимое отдельных клеток. Значение рН в клетках измеряют давно, теперь можно определять ряд компонентов, используя, например, капиллярный электрофорез или масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой. Примером может служить определение кадмия и цинка в микронавеске ткани, извлекаемой биопсией из простаты (изменение содержания этих элементов позволяет лучше понять механизм канцерогенеза).

Аналитики Тайваня определяли марганец в мозговой ткани и формы мышьяка в крови живых крыс, используя прибор для электротермической атомной абсорбции или масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой.

Если стоит задача найти трансгенный протеин, то можно использовать хроматомасс-спектрометрию, капиллярный электрофорез или жидкостную хроматографию. Основным ограничением здесь является невысокое содержание трансгенных протеинов, но известны примеры такого использования; например, скоростная жидкостная хроматография была применена для обнаружения пимозина, продуцируемого генетически модифицированными организмами. Этот метод фактически был рекомендован Европейским союзом.



Повышение концентрации глюкозы в крови диабетиков может быть обнаружено не только непосредственно, например, биотестами (некоторые из которых требуют лишь несколько микролитров крови), но и косвенно – по повышенному содержанию ацетона в выдыхаемом воздухе. Неинвазивный метод определения гематокрита крови основан на использовании инфракрасной спектроскопии и приемов хемометрики.

Биологические и биомедицинские исследования и медицинская практика на современном уровне требуют нестандартных аналитических решений. Это, в частности, диагностика заболеваний путем обнаружения и определения их биомаркеров в крови, моче, потовых выделениях, в тканях и выдыхаемом воздухе. На фоне известных, длительное время используемых для этой цели методов анализа появляются и новые.



Глава 1. Химические методы исследования

1.1. Основы количественного анализа

В настоящее время методы количественного анализа находят широкое применение в медицине и смежных с ней областях, а именно:

- при клиническом исследовании биологических жидкостей (крови, мочи, слюны, спинномозговой жидкости, желчи), проводимом в целях постановки диагноза и назначения курса лечения;
- при разработке, производстве и тестировании всех без исключения лекарственных средств;
- при оценке экологической обстановки: санитарно-гигиенического обследования загрязненности воздуха, состояния водоемов, присутствия химических веществ в почве и продуктах питания и т. д.

Количественный анализ включает в себя весовой и объёмный методы.

Весовой (гравиметрический) метод анализа основан на измерении массы малорастворимого вещества, образовавшегося при взаимодействии раствора анализируемого вещества с раствором реагента-осадителя. Для этого выделяют полученный осадок из раствора, высушивают, прокаливают и взвешивают на аналитических весах.

Весовой метод отличается высокой точностью, однако на проведение анализа затрачивается много времени, поэтому в



настоящее время гравиметрия используется только в качестве арбитражного метода.

Важнейшим инструментом количественного анализа является объёмный метод.

1.2. Объёмный (титриметрический) метод анализа

Основу данного метода составляет измерение объёма титранта (раствора с точно известной концентрацией), затраченного на реакцию с заранее известным точным объёмом раствора анализируемого вещества (или его навески) до момента окончания реакции между ними (до наступления точки эквивалентности).

Процесс постепенного добавления титранта к анализируемой пробе называется **титрованием**, а момент завершения реакции – **точкой эквивалентности**.

В зависимости от типа реакции, лежащей в основе объёмного определения, а также применяемых титрантов, различают несколько методов объёмного анализа:

- 1) нейтрализации (кислотно-основного титрования);
- 2) осаждения;
- 3) оксидиметрии (перманганатометрии и йодометрии);
- 4) комплексонометрии.

Реакции, используемые в объёмном анализе, должны отвечать следующим требованиям:



1. Вещества должны реагировать в строго определённых (стехиометрических) количественных соотношениях.

2. Реакции должны протекать быстро, до конца, при комнатной температуре.

3. Точка эквивалентности должна фиксироваться быстро и точно.

4. Титрование не должно сопровождаться побочными реакциями, искажающими результаты анализа.

По способу выполнения различают:

– прямое титрование, когда анализируемое вещество непосредственно титруют раствором титранта;

– обратное титрование, когда к анализируемому раствору добавляют точное количество раствора с известной концентрацией в избытке, а затем избыток оттитровывают другим соответствующим титрантом;

– вытеснительное титрование (титрование заместителя), когда к анализируемому веществу добавляют избыток раствора с известной концентрацией, при этом содержащееся в растворе вещество реагирует с анализируемым веществом с образованием продукта (заместителя), который далее титруют другим соответствующим титрантом.

Обратное титрование и титрование заместителя применяют в тех случаях, когда реакции анализируемого вещества протекают



медленно, или, когда затруднена фиксация точки эквивалентности.

Расчёты в объемных методах анализа

Основой расчётов в любом методе является закон эквивалентов:

Массы реагирующих и образующихся веществ пропорциональны массам их химических эквивалентов.

Условимся в дальнейшем любое анализируемое вещество обозначать x , а любой титрант T . Тогда закон эквивалентов запишется:

$$n\left(\frac{1}{z}x\right) = n\left(\frac{1}{z}T\right),$$

(1)

равенство количества вещества эквивалента можно также представить в виде:

$$\frac{m(x)}{M\left(\frac{1}{z}x\right)} = \frac{m(T)}{M\left(\frac{1}{z}T\right)}, \quad (2)$$

или

$$C\left(\frac{1}{z}x\right) \cdot V_{p-pa}(x) = C\left(\frac{1}{z}T\right) \cdot V_{p-pa}(T).$$

(3)



В некоторых случаях в расчётах удобно применять комбинированные формы уравнений.

Например:

$$\frac{m(x)}{M\left(\frac{1}{z}x\right)} = C\left(\frac{1}{z}T\right) \cdot V_{p-pa}(T).$$

(4)

Основными способами выражения концентраций растворов в объёмном анализе являются молярная концентрация эквивалента вещества и титр раствора.

Они связаны между собой следующими соотношениями:

$$C\left(\frac{1}{z}x\right) = \frac{T(x) \cdot 1000}{M\left(\frac{1}{z}x\right)}, \quad \left[\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Л}}\right] \quad \text{или}$$

$$T(x) = \frac{C\left(\frac{1}{z}x\right) \cdot M\left(\frac{1}{z}x\right)}{1000}, \quad \left[\frac{\text{Г}}{\text{МЛ}}\right].$$

1.2. КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ ТИТРОВАНИЕ (МЕТОД НЕЙТРАЛИЗАЦИИ)

Основу метода составляет реакция нейтрализации:



Следует упомянуть, что приведенное уравнение является грубой схемой, в которой не упомянуты ни структура водных растворов со сложной системой водородных связей, ни реальное строение указанных ионов, которые в растворе очень прочно связаны с молекулами воды.

Так протон связан с молекулами воды (от 1 до 9 и более) в ионы гидроксония $[\text{H}(\text{H}_2\text{O})_n]^+$. Именно такая структура растворов обеспечивает огромную скорость реакции нейтрализации, для протекания которой фактически не требуется перемещения ядер атомов – участников (процесс протекает как переход электрона, а полученная (возбужденная) конфигурация атомов в молекулах может впоследствии релаксировать с выделением тепла.

Этим методом определяют кислоты, основания и некоторые гидролизующиеся соли. Данный метод на практике используется для определения содержания веществ, имеющих в растворе кислую или щелочную реакцию, в частности:

- для анализа желудочного сока (определение общей и свободной соляной кислоты), буферной ёмкости крови, спинномозговой жидкости;
- при анализе лекарственных препаратов, относящихся к классам органических кислот (ацетилсалициловая, бензойная, никотиновая и др.) или оснований (водный раствор аммиака);
- в санитарно-гигиенической оценке воды, определении содержания аммиака в питьевой и сточной воде и т. д.



Методы кислотно-основного титрования

Ацидиметрия – титрование с помощью кислот (титрант – кислота).

Алкалиметрия – титрование с помощью щелочей (титрант – щёлочь).

Ацидиметрически определяют концентрации или массы оснований (KOH, NH₄OH) и солей, имеющих вследствие гидролиза щелочную реакцию среды (Na₂CO₃, NaHCO₃); алкалиметрически – концентрации или массы кислот (HCl, H₂SO₄) и солей, имеющих вследствие гидролиза кислую реакцию среды (NH₄Cl).

Титранты и их стандартизация

Растворы, используемые в кислотно-основном титровании в качестве титрантов, должны отвечать ряду требований:

- 1) вещество должно быть химически чистым;
- 2) состав его должен точно соответствовать формуле;
- 3) вещество должно быть устойчивым при хранении в твёрдом виде и в растворе;
- 4) желательно, чтобы вещество имело возможно большую молярную массу.

Таким требованиям удовлетворяют: Na₂B₄O₇·10H₂O (бура), Na₂C₂O₄, Na₂CO₃·10H₂O, H₂C₂O₄·2H₂O и др.

Если вещества не удовлетворяют перечисленным выше требованиям (например, HCl, H₂SO₄, NaOH и др.), то производят их **стандартизацию**.



В ацидиметрии основным титрантом является HCl с $C(\frac{1}{Z}HCl)$ в интервале от 0,05 до 0,2 моль/л. Приготовить раствор HCl по точной массе исходного вещества весьма затруднительно из-за высокой летучести кислоты, поэтому титрант готовят путем приблизительного разбавления концентрированного раствора HCl с последующей его стандартизацией, которую проводят следующим образом:

а) готовят первичный стандарт из точной навески $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ или $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$;

б) проводят реакции между стандартным раствором и раствором HCl:



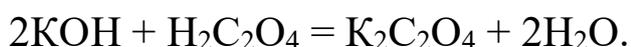
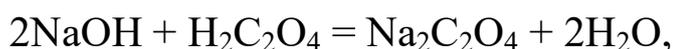
в) по уравнению (3) рассчитывают точную концентрацию раствора HCl.

В алкалиметрии основными титрантами являются NaOH и KOH. Их также нельзя приготовить по точной массе (навеске) вещества, так как щелочи взаимодействуют с CO_2 и загрязнены примесями K_2CO_3 и Na_2CO_3 .

В данном случае титрант готовят путем разбавления концентрированного (~ 50%) раствора щёлочи.



Такой способ позволяет избавиться от примесей K_2CO_3 и Na_2CO_3 , так как они малорастворимы в концентрированных растворах щелочей и удаляются из раствора в виде осадка. После разбавления полученный раствор стандартизуют, используя в качестве первичного стандарта раствор $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ с заданной концентрацией:



Фиксирование точки эквивалентности

При кислотно-основном титровании момент окончания реакции между анализируемым веществом и титрантом обычно не сопровождается внешними признаками, поэтому для его фиксирования необходимо использовать **индикаторы**.

Индикаторы, используемые при кислотно-основном титровании, представляют собой слабые органические кислоты или слабые органические основания, молекулы и ионы которых различаются по окраске.

Индикатор-кислота (условное обозначение $HInd$) в растворе частично диссоциирует по уравнению: $HInd \rightleftharpoons H^+ + Ind^-$

Индикаторы бывают **двухцветными**: **лакмус** (молекулы красные, ионы синие), **метилоранж** (молекулы красные, ионы желтые) и **одноцветными**: **фенолфталеин** (молекулы бесцветные, ионы малиновые). Данные о некоторых кислотно-основных индикаторах приведены в таблице 1.



Таблица 1. Свойства кислотно-основных индикаторов.

Название	Молекулярная форма		Смесь молекулярной и анионной форм		Анионная форма	
	pH	окраска	pH	окраска	pH	окраска
метилоранж	<3,1	розовая	3,1-4,4	оранжевая	>4,4	жёлтая
метилрот (метиловый красный)	< 4,4	розовая	4,4-6,2	оранжевая	>6,2	жёлтая
лакмус	< 4,5	красная	4,5-8,3	фиолетовая	>8,3	синяя
фенолфталеин	< 8,2	бесцветная	8,2-9,8	бледно-розовая	>9,8	малиновая
тимолфталеин	< 9,3	бесцветная	9,3-10,5	бледно-голубая	>10,5	синяя

Механизм действия индикаторов

В зависимости от концентрации ионов H^+ в растворе диссоциация индикатора происходит в большей или меньшей степени. Так, в растворе сильной кислоты индикатор практически не диссоциирует и находится в молекулярной форме. Таким образом, окраска раствора определяется цветом молекул индикатора.

В растворе сильной щёлочи индикатор, напротив, диссоциирует практически полностью и находится в растворе в ионной форме. В данном случае окраска раствора определяется цветом ионов индикатора.

В остальных случаях индикатор присутствует в растворе как в молекулярной, так и в ионной форме, и окраска раствора зависит



от соотношения концентраций форм индикатора.

Точка перехода и интервал перехода окраски индикатора

Каждый индикатор-кислота, как слабый электролит, характеризуется собственной величиной константы диссоциации K_a :

$$K_a = \frac{[H^+] \cdot [Ind^-]}{[HInd]}. \quad (5)$$

Величины K_a , известные для всех применяемых индикаторов, являются справочными данными. Так, для лакмуса $K_a = 10^{-7}$, для метилоранжа $K_a = 10^{-4}$, для фенолфталеина $K_a = 10^{-9}$.

Из формулы (5) следует, что если

$$K_a = [H^+], \quad (6)$$

то $[HInd] = [Ind^-]$. Таким образом, у индикатора, находящегося в растворе с $[H^+]$ численно равной его K_a , концентрация его молекул и ионов одинакова, следовательно, окраска раствора, содержащего индикатор, будет смешанной.

Для удобства расчетов обычно используют логарифмическую форму выражения (6):

$$pH = pK_a. \quad \text{- точка перехода окраски индикатора.}$$

$$\text{Действительно, } -\lg[H^+] = pH; \quad -\lg K_a = pK_a.$$

Значение pH раствора, численно равное показателю константы диссоциации индикатора, называют **точкой перехода окраски индикатора**.



Интервалом перехода окраски индикатора называют интервал значений рН раствора, равный $pK_a \pm 1$, в котором происходит заметное глазу изменение окраски индикатора. Этот интервал определяет область применения индикатора. У некоторых индикаторов интервал перехода окраски может быть шире или уже обозначенного.

Если индикатор находится в растворе с $pH < pK_a - 1$, то преобладает молекулярная форма индикатора, а ионная форма преобладает в растворе с $pH > pK_a + 1$.

Правила выбора индикатора

Поскольку целью применения индикатора является фиксирование точки эквивалентности, необходимо, чтобы индикатор изменил свою окраску в момент окончания реакции, т. е. чтобы рН раствора в точке эквивалентности совпал с интервалом перехода окраски выбранного индикатора. В этой связи для правильного выбора индикатора следует:

- 1) написать уравнение реакции, протекающей между анализируемым веществом и титрантом;
- 2) качественно (без точного расчёта) определить реакцию среды в анализируемом растворе в точке эквивалентности;
- 3) выбрать индикатор, у которого область применения совпадает с рН анализируемого раствора в точке эквивалентности.



Для более точного фиксирования точки эквивалентности строят так называемые кривые титрования – графики, показывающие изменение рН в процессе титрования в зависимости от объёма добавленного титранта. Характер наиболее типичных кривых титрования приведен на рис. 1–3.

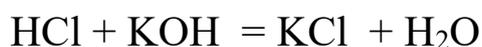
Участок на кривых титрования, характеризующий резкое изменение рН вблизи от точки эквивалентности, называется **скачком рН**.

Любой индикатор, интервал изменения окраски которого полностью или частично входит в скачок рН, пригоден для фиксирования точки эквивалентности.

Рассмотрим примеры кривых титрования.

Титрование сильной кислоты сильным основанием.

Общий вид кривой титрования соляной кислоты гидроксидом калия представлен на рис. 1.



Видно, что точке эквивалентности соответствует значение рН=7, а скачок рН находится в интервале от 4 до 10, т.е. включает в себя кислую, нейтральную и щелочную области.



Для всех случаев приведены приближённые интервалы скачков рН, имеющих место при концентрациях кислот и щелочей, равных 0,1 моль/л.

Таким образом, для фиксирования точки эквивалентности могут быть использованы индикаторы, интервал перехода окраски которых находится в области значений рН от 4 до 10. Этому критерию отвечают, например, метиловый оранжевый ($pK_a=4$, интервал перехода окраски при рН от 3,1-4,4) и фенолфталеин ($pK_a=9$, интервал от 8,3-10).



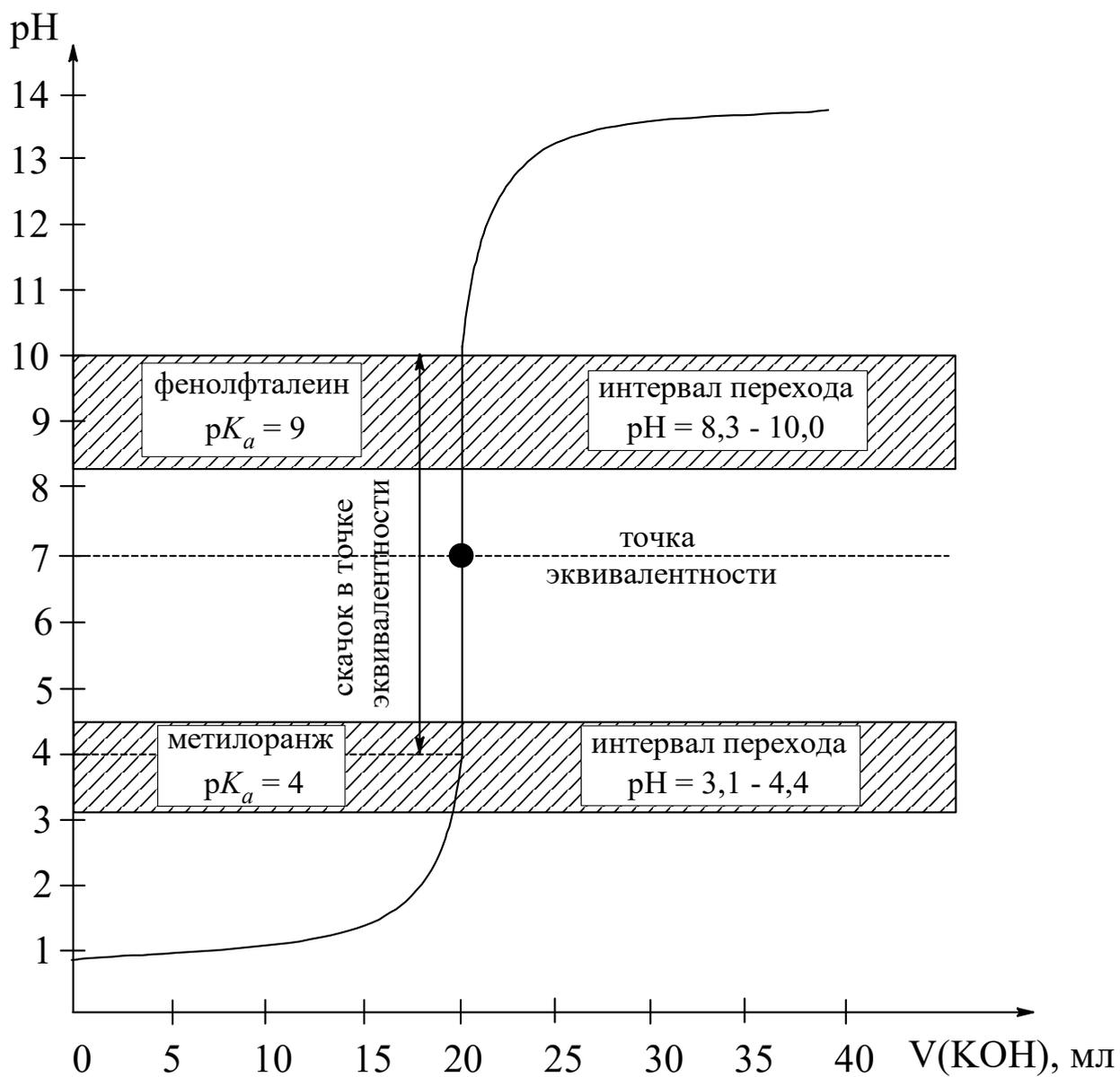


Рис. 1. Кривая титрования сильной кислоты (HCl) сильным основанием (KOH).

Титрование слабой кислоты сильным основанием.

Рассмотрим в качестве примера кривую титрования уксусной кислоты раствором КОН (рис. 2).

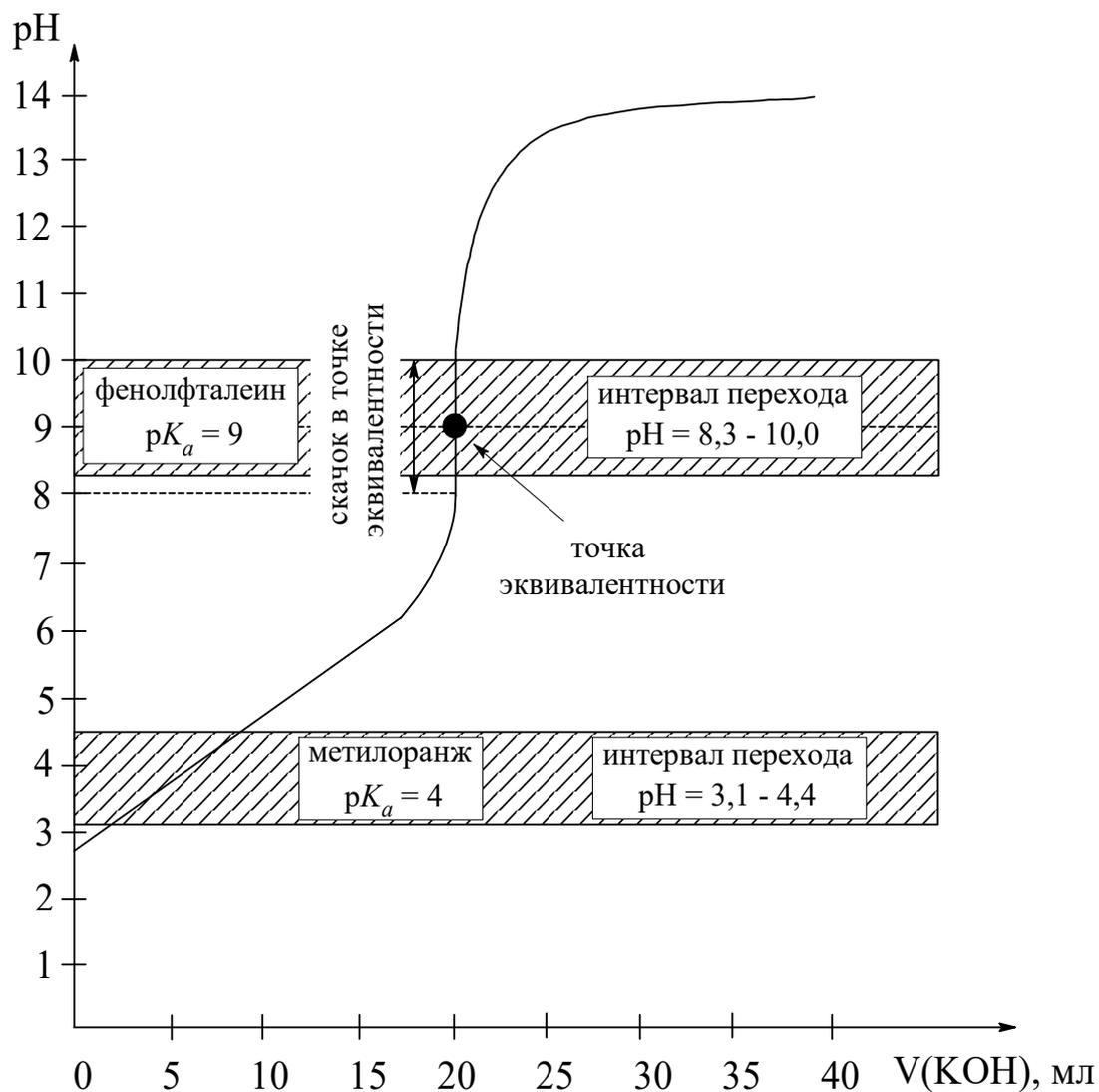
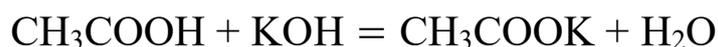


Рис. 2. Кривая титрования слабой кислоты (CH_3COOH) сильным основанием (KOH).

Видно, что точке эквивалентности соответствует значение $\text{pH}=9$, а скачок pH находится в интервале от 8 до 10, т.е. в щелочной среде. Это объясняется тем, что в результате реакции образуется ацетат калия, раствор которого вследствие гидролиза имеет щелочную реакцию среды:



Таким образом, для фиксирования точки эквивалентности в этом случае могут быть использованы индикаторы, интервалы перехода окраски которых совпадают с областью скачка значений pH . Такому условию отвечают, например, фенолфталеин ($\text{p}K_a=9$, интервал перехода от 8,3-10) или тимолфталеин ($\text{p}K_a=10$, интервал перехода окраски 9,3-10,5). Но использование индикатора метилоранж ($\text{p}K_a=4$, интервал 3,1-4,4) приведет к заниженным результатам титрования, а применение индикатора индигокармин ($\text{p}K_a=13$, интервал 12-14) – к завышенным.

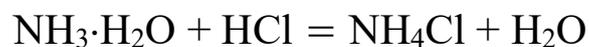
Аналогичный вид имеют и кривые титрования растворов солей, имеющих вследствие гидролиза кислую реакцию среды (например, NH_4Cl), сильными основаниями.

Титрование слабого основания сильной кислотой.

При титровании водного раствора аммиака раствором HCl точке эквивалентности соответствует значение $\text{pH}=5$, а скачок pH находится в интервале от 4 до 6, т.е. в кислой среде (рис. 3). Это



объясняется тем, что в результате реакции образуется хлорид аммония, раствор которого вследствие гидролиза имеет кислую реакцию среды:



Здесь для фиксирования точки эквивалентности пригодны индикаторы, меняющие окраску в области значений pH от 4 до 6.

В частности, может быть использован метилоранж ($pK_a=4$, интервал 3,1-4,4). Применение индикатора фенолфталеин ($pK_a=9$, интервал 8,3-10) приведет к заниженным результатам титрования, а индикатора тимоловый синий ($pK_a=1,7$, интервал 1,2-2,8) – к завышенным.



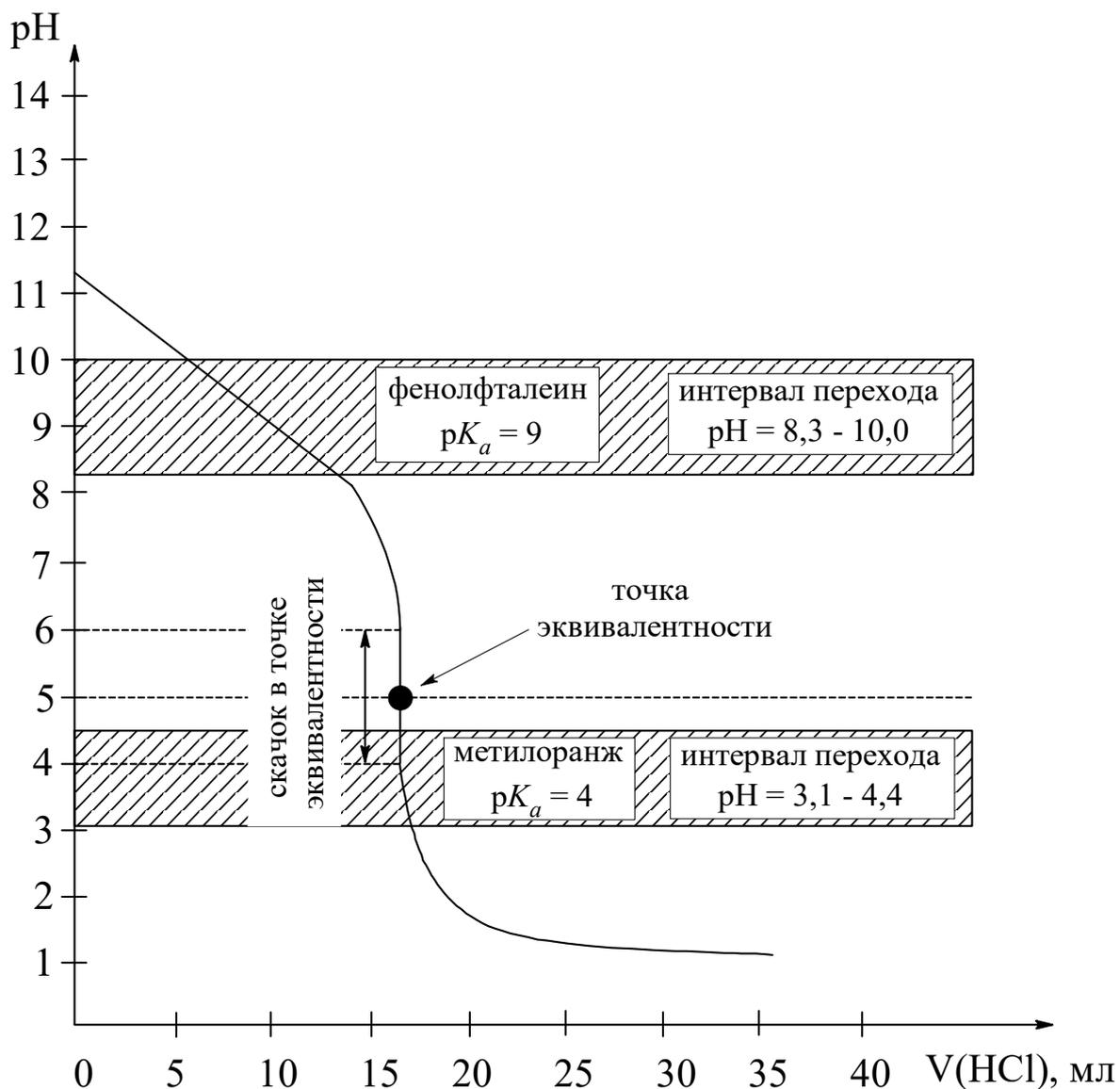


Рис. 3. Кривая титрования слабого основания ($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) сильной кислотой (HCl).

Аналогичный вид имеют и кривые титрования растворов солей, имеющих вследствие гидролиза щелочную реакцию среды (например, Na_2CO_3) сильными кислотами.

1.3. Оксидиметрия

Большинство химических процессов в живой природе носит окислительно-восстановительный характер. Для количественного определения окислителей и восстановителей используют методы окислительно-восстановительного титрования или **оксидиметрии**. Так, в клинических и биологических исследованиях оксидиметрически определяют содержание ферментов каталазы и пероксидазы, аскорбиновой кислоты, сахара в крови, мочевой кислоты в моче и т. д.

В санитарно-гигиенических исследованиях при помощи оксидиметрии определяют содержание активного хлора в питьевой воде, растворённого кислорода и органических примесей в воде природных водоёмов и т. д.

В зависимости от применяемых титрантов оксидиметрию разделяют на **перманганатометрию** (титрант – перманганат калия), **йодометрию** (титранты – йод и тиосульфат натрия), **йодатометрию** (титрант – йодат калия), **нитритометрию** (титрант – нитрит натрия), **цериметрию** (титрант – сульфат церия IV), **дихроматометрию** (титрант – дихромат калия). Особенно широко в медицине и биологии применяют перманганатометрию и йодометрию.

Перманганатометрия

Данный метод основан на окислительной активности перманганата калия KMnO_4 , имеющего в растворе характерную красно-фи-



олетовую окраску. В ходе прямого перманганатометрического титрования KMnO_4 , восстанавливаясь, окисляет многие восстановители.

Характер восстановления перманганат-иона зависит от среды:

среда	полуреакция
кислая	$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\bar{e} \rightarrow \text{Mn}^{2+}$ (бесцветный) + $4\text{H}_2\text{O}$;
нейтральная	$\text{MnO}_4^- + 2\text{H}_2\text{O} + 3\bar{e} \rightarrow \text{MnO}_2$ (бурый осадок) + 4OH^- ;
щелочная	$\text{MnO}_4^- + 1\bar{e} \rightarrow \text{MnO}_4^{2-}$ (зеленый)

Перманганатометрическое титрование почти всегда проводят в кислой среде. Такой выбор обусловлен двумя причинами: во-первых, в кислой среде окислительная активность перманганата калия максимальна; во-вторых, образующиеся в результате реакции ионы Mn^{2+} практически бесцветны и, таким образом, заметно отличаются от окрашенных ионов MnO_4^- . Последнее свойство позволяет использовать перманганат-ион не только в качестве титранта, но и в качестве индикатора. Действительно, первая избыточная (после достижения точки эквивалентности) капля перманганата окрашивает титруемый раствор в розовый цвет, что и является сигналом для прекращения титрования.

В то же время этим методом можно определять и окислители, добавляя к ним известный избыток раствора восстановителя,



например, оксалата натрия $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ или сульфата железа (II) FeSO_4 , а затем титруя не вступивший в реакцию остаток (обратное перманганатометрическое титрование).

Йодометрия

Йодометрия основана на реакциях:



Стандартный окислительно-восстановительный потенциал системы $\text{I}_2/2\text{I}^-$ ($\varphi^0_{\text{I}_2/2\text{I}^-} = 0,53 \text{ В}$) занимает промежуточное положение между потенциалами сильных окислителей и сильных восстановителей. Поэтому метод йодометрии применяется при определении как окислителей, так и восстановителей.

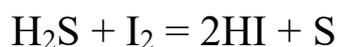
Определение восстановителей

При определении сильных восстановителей (сульфидов, сульфитов, тиосульфатов) титрантом является жёлто-коричневый раствор йода, который в результате реакции



восстанавливается до бесцветных анионов йода. В качестве индикатора используется раствор крахмала. Амилаза, входящая в состав крахмала, образует с йодом адсорбционное соединение синего цвета. Признак окончания реакции (точка эквивалентности) – появление синей окраски при добавлении одной капли раствора йода сверх эквивалентного количества. Например:



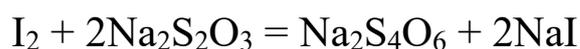
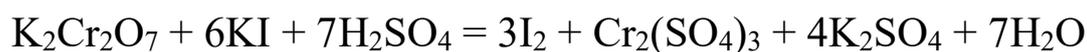


Определение окислителей

Йодометрию можно использовать и для определения концентраций окислителей, таких как перманганаты, хроматы, дихроматы, хлор и бром в свободном состоянии и др. В данном случае используется реакция:



Раствор окислителя обрабатывают избытком йодида калия в кислой среде, а затем оттитровывают выделившийся при этом в эквивалентном количестве элементарный йод стандартным раствором тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (прием косвенного титрования). Индикатором является раствор крахмала. Точка эквивалентности фиксируется по исчезновению синей краски. Например:



Расчет эквивалентов окислителей и восстановителей

В окислительно-восстановительной реакции химический эквивалент определяется как реальная или условная частица вещества, которая эквивалентна одному электрону.



Фактор эквивалентности $\frac{1}{z}$ в окислительно-восстановительных реакциях определяется числом электронов (n), принятых или отданных одним атомом, ионом или молекулой окислителя или восстановителя ($z=n$).

Для KMnO_4 факторы эквивалентности $\frac{1}{z}$ в кислой, нейтральной и щелочной средах соответственно равны $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{3}$ и 1.

Таким образом, молярные массы эквивалентов KMnO_4 в различных средах составляют:

Среда	кислая	нейтральная	щелочная
$M(\frac{1}{z} \text{KMnO}_4)$, (г/моль)	$\frac{1}{5} \cdot 158 = 31,6$	$\frac{1}{3} \cdot 158 = 52,7$	158

Ниже приведены полуреакции окисления некоторых восстановителей, используемых в оксидиметрии, и расчет их молярных масс эквивалента:



$$M(\frac{1}{z} \text{FeSO}_4) = \frac{1}{z} \cdot M(\text{FeSO}_4) = 1 \cdot 152 = 152 \text{ г/моль};$$



$$M(\frac{1}{z} \text{H}_2\text{O}_2) = \frac{1}{z} \cdot M(\text{H}_2\text{O}_2) = \frac{1}{2} \cdot 34 = 17 \text{ г/моль};$$

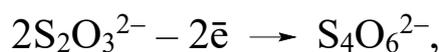




$$M\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\right) = \frac{1}{Z} \cdot M(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) = \frac{1}{2} \cdot 90 = 45 \text{ г/моль};$$



$$M\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4\right) = \frac{1}{Z} \cdot M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = \frac{1}{2} \cdot 134 = 67 \text{ г/моль};$$



здесь на один ион тиосульфата приходится один отданный электрон, поэтому:

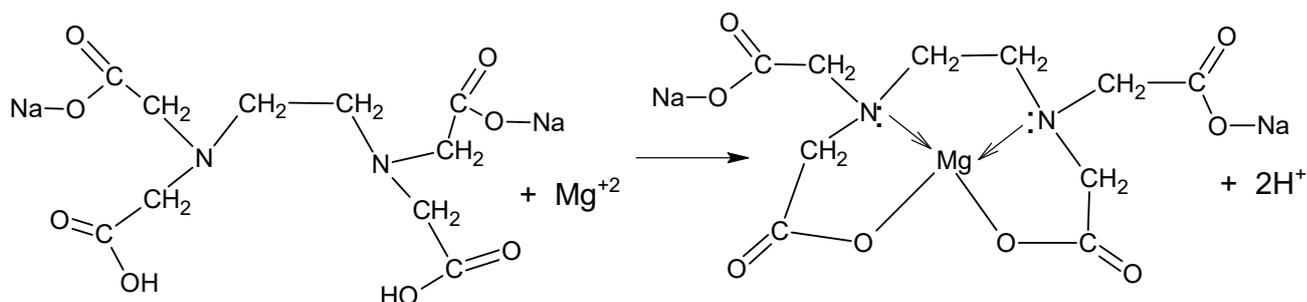
$$M\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\right) = \frac{1}{Z} \cdot M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 1 \cdot 158 = 158 \text{ г/моль}.$$

1.4. Комплексометрия

Метод объёмного анализа, в котором в качестве титрантов используют растворы комплексонов, называется **комплексометрией**. Метод применяют для определения концентрации ионов металлов в растворах, в том числе в биологических жидкостях, сточных водах и т.д.

В качестве титранта чаще всего используется трилон Б (комплексон III). Трилон Б образует прочные, растворимые в воде комплексы с катионами металлов, так как кроме двух ковалентных связей (при замещении ионов водорода в $-\text{COOH}$ группах) образуются две дополнительные координационные связи с участием неподелённых пар электронов атомов азота:



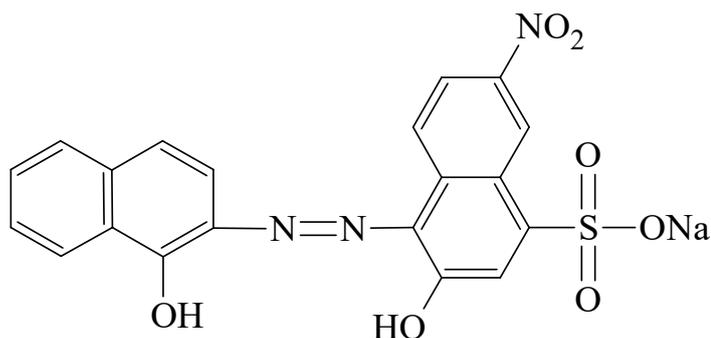


В частности, комплексометрию используют для определения общей жёсткости воды. Жёсткость воды обусловлена присутствием в ней солей кальция и магния – гидрокарбонатов, хлоридов, сульфатов и др. Различают временную жёсткость, вызванную наличием гидрокарбонатов, и постоянную, причиной возникновения которой является, в основном, присутствие хлоридов и сульфатов. Общая жёсткость воды складывается из временной и постоянной жёсткости и выражается суммарной молярной концентрацией эквивалента катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} (ммоль/л). Использование жёсткой воды приводит к образованию накипи в котлах и отопительных приборах, повышает расход моющих средств. Верхний предел жёсткости воды в системах водоснабжения составляет, как правило, 7 ммоль/л.

Точку эквивалентности в методе комплексометрии фиксируют при помощи металлоиндикаторов (эриохром черный Т, мурексид и др.). Металлоиндикаторы представляют собой однозамещённые соли слабых многоосновных органических кислот.

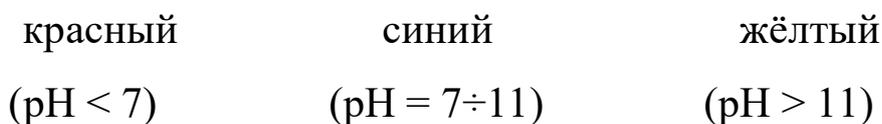
Так, эриохром черный Т имеет структуру:



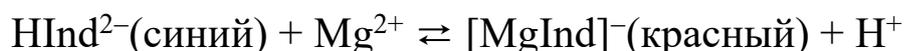
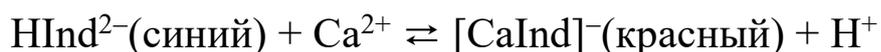


которую условно можно представить как NaH_2Ind .

Кислотность этого соединения обусловлена наличием фенольных групп, величины pK_a которых равны 7,7 и 9,5. В водных растворах этот индикатор может находиться в виде трёх форм, соотношение которых зависит от pH среды. Это находит отражение в изменении окраски раствора:



Отличительной особенностью металлоиндикаторов является их способность образовывать с определяемыми ионами металлов малопрочные, растворимые в воде комплексы, окраска которых отличается от цвета самого индикатора. Так, при добавлении эриохрома черного Т к водопроводной воде при pH = 7÷11 образуется красный комплекс индикатора с ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} :



Освобождающиеся при этом ионы H^+ нейтрализуются аммиачным буфером, и в системе поддерживается рН на уровне $7 \div 11$.

Полученные при этом комплексы характеризуются меньшей прочностью по сравнению с внутрикомплексными соединениями, образующимися в процессе титрования. Действительно, $K_{\text{нест}}$ $[\text{MgInd}]^-$ и $[\text{MgTr}]^{2-}$ равны соответственно $2,8 \cdot 10^{-5}$ и $5 \cdot 10^{-8}$. Поэтому при добавлении трилона Б конкуренцию за ионы Me^{2+} выигрывает комплексон, так при этом образуется более прочный комплекс:



В точке эквивалентности ярко окрашенный комплекс металла с индикатором полностью разрушается, и индикатор выделяется в индивидуальной форме:



цвет которой определяется рН раствора.

Таким образом, если применять индикатор эриохром черный Т, то точку эквивалентности фиксируют по переходу окраски раствора из красной в синюю.

1.5. Методы осаждения

Методы осаждения – объёмные методы количественного анализа, основанные на использовании химических реакций осаждения, т. е. таких химических процессов, протекающих в растворах, при которых одно из образующихся веществ выпадает в осадок.



Сущность методов осаждения заключается в определении по результатам титрования соответствия объёмов исследуемого и рабочего растворов, содержащих эквивалентные количества реагирующих веществ. По данным титрования рассчитывают концентрацию или титр исследуемого раствора. По этим величинам рассчитывают массу вещества в данном объёме раствора и его процентное содержание в растворе или анализируемом образце.

Точку эквивалентности в методах осаждения определяют либо по появлению в растворе избытка реактива, который фиксируется индикаторами, либо по изменениям физико-химических свойств раствора – электропроводности, поглощения и отражения света и другими способами.

Наиболее широко применяются аргентометрия – титрование веществ раствором нитрата серебра AgNO_3 и роданометрия – титрование оставшегося после взаимодействия с веществом избытка раствора нитрата серебра раствором роданида аммония. Роданометрия фактически представляет собой обратное титрование и является разновидностью аргентометрии.

В методах осаждения используют стандартные рабочие растворы нитрата серебра и роданида аммония.

Для индикации точки эквивалентности в аргентометрии применяют ряд индикаторов.

а) В методе Мора индикатором является хромат калия, который с нитратом серебра образует осадок хромата серебра кирпично-красного цвета:





Хромат калия применяют при титровании хлоридов и бромидов растворами AgNO_3 и при титровании солей серебра растворами NaCl или KCl . При титровании хлоридов и бромидов растворами нитрата серебра образуется белый осадок AgCl или желтовато-белый осадок AgBr . При полном осаждении хлоридов или бромидов в растворе появляется избыток нитрата серебра, взаимодействующий с хроматом калия с образованием кирпично-красного осадка Ag_2CrO_4 , и осадки AgCl и AgBr окрашиваются в розовый цвет. В присутствии хлоридов и бромидов осадок Ag_2CrO_4 не образуется, так как его растворимость (10^{-4} моль/л) значительно больше растворимости AgCl ($1,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и AgBr ($7,9 \cdot 10^{-7}$ моль/л).

б) В методе Фольгарда индикатором служат железо-аммонийные квасцы $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, которые образуют с роданидом калия или аммония роданид железа красного цвета:



При титровании раствора нитрата серебра раствором роданида аммония сначала образуется белый осадок роданида серебра, при полном осаждении Ag^+ в растворе появляется избыток NH_4SCN , взаимодействующий с железо-аммонийными квасцами.

в) В методе Фаянса применяются адсорбционные индикаторы – флуоресцеин и эозин. Их действие основано на том, что в точке



эквивалентности они адсорбируются на осадке, образующемся в процессе титрования, и тем самым изменяют его окраску.

Аргентометрию применяют для анализа хлоридов, бромидов и йодидов щелочных и щелочноземельных металлов. При взаимодействии с ними нитрат серебра образует осадки AgCl , AgBr , AgI . Кроме того, аргентометрия применяется для анализа солей синильной и роданистоводородной кислот, так как AgCN и AgSCN также плохо растворимы в воде. Метод используется в анализе таких лекарственных препаратов, как эфедрин, бромизовал, карбромал, бромкамфора, барбитураты и др.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие из перечисленных растворов окрасятся при добавлении к ним индикатора HInd с $\text{p}K_a = 9$, если молекулы его бесцветные, а ионы желтые?

- а) раствор NaCl ;
- б) раствор с $[\text{H}^+] = 10^{-12}$ моль/л;
- в) раствор с $\text{pH} = 3$
- г) раствор с $\text{pH} = 13$

2. Требуется установить концентрацию раствора NH_4Cl . Обосновать выбор титранта и индикатора для титрования.

3. Найти точку перехода и интервал изменения окраски индикатора HInd с $K_a = 10^{-5}$. Следует ли применять этот индикатор при титровании раствора Na_2CO_3 соляной кислотой?



4. Какую окраску будет иметь индикатор HInd с $K_a = 10^{-9}$ в растворах с pH = 1, 5, 7, 9, 11, 13, если его молекулы бесцветные, а ионы малиновые?

5. По кривой титрования определить, следует ли при титровании раствора Na_2CO_3 соляной кислотой использовать индикатор тимоловый синий с $pK_a = 1,7$?

6. По кривой титрования определить, следует ли при титровании раствора уксусной кислоты гидроксидом калия использовать индикатор индигокармин с $pK_a = 13$?

7. Как вычисляется молярная масса эквивалента окислителя (восстановителя)?

8. Чему равны молярные массы эквивалентов веществ, используемых в качестве титрантов в методах перманганатометрии и иодометрии?

9. Как фиксируется точка эквивалентности при выполнении перманганатометрии и иодометрии в кислой среде?

10. Какие реакции используют в методах осаждения?

11. Какие рабочие растворы применяют в методах осаждения?

12. Какие индикаторы применяют в методах осаждения?

13. Почему при титровании NaCl раствором AgNO_3 в присутствии K_2CrO_4 осадок AgCl осаждается первым, а Ag_2CrO_4 – вторым?

14. Почему метод Мора выполним только в нейтральной или слабощелочной среде?

15. В какой среде нельзя проводить метод Фольгарда?



Эталоны решения задач

1. Найти точку перехода и интервал изменения окраски индикатора HInd с $K_a = 10^{-4}$.

Решение

- 1) $pK_a = -\lg K_a = -\lg 10^{-4} = 4$;
- 2) точка перехода окраски определяется как: $pH = pK_a = 4$;
- 3) интервал перехода окраски рассчитывается как: $pH = pK_a \pm 1$ и для данного индикатора составит от 3 до 5 (окраска смешанная).

2. Какую окраску будет иметь индикатор HInd с $K_a = 10^{-7}$ в растворах с $pH = 0, 3, 5, 7, 10, 13$, если его молекулы красные, а ионы синие?

Решение

- 1) $pK_a = -\lg K_a = -\lg 10^{-7} = 7$;
- 2) точка перехода окраски: $pH = pK_a = 7$;
- 3) интервал перехода окраски: $pH = pK_a \pm 1$, т.е. от 6 до 8;
- 4) таким образом, в растворах с $pH < 6$ преобладает молекулярная форма индикатора и растворы с $pH = 0, 3, 5$ будут окрашены в красный цвет;
- 5) в растворах с $pH > 8$ преобладает ионная форма индикатора, следовательно, растворы с $pH = 10, 13$ окрасятся в синий цвет, растворы с $pH = 7$ окрасятся в фиолетовый цвет.

Эту задачу, начиная с п. 4 удобно решать графически:



3. На титрование 20 мл раствора HCl с $C(\frac{1}{Z}HCl) = 0,1$ моль/л затрачено 10 мл раствора NaOH. Вычислить $C(\frac{1}{Z}NaOH)$ в растворе.

Дано:	
V(HCl) = 20	
мл	
$C(\frac{1}{Z}HCl) =$	
0,1 моль/л	
$V_{p-ра}$	
(NaOH) = 10 мл	
<hr/>	
$C(\frac{1}{Z}NaOH) -$	
?	

Решение.

Согласно закону эквивалентов (формула 3):

$$C(\frac{1}{Z}HCl) \cdot V_{p-ра}(HCl) = C(\frac{1}{Z}NaOH) \cdot V_{p-ра}(NaOH)$$

следовательно:

$$C(\frac{1}{Z}NaOH) = \frac{C(\frac{1}{Z}HCl) \cdot V_{p-ра}(HCl)}{V_{p-ра}(NaOH)} = \frac{0,1 \cdot 20}{10} = 0,2 \text{ моль/л.}$$

4. На титрование раствора CH₃COOH израсходовано 15,2 мл раствора NaOH с $C(\frac{1}{Z}NaOH) = 0,05$ моль/л. Вычислить массу CH₃COOH в растворе.

Дано:	
$V_{p-ра}(NaOH) = 15,2 \text{ мл} = 0,0152 \text{ л}$	
$C(\frac{1}{Z}NaOH) = 0,05 \text{ моль/л}$	
<hr/>	
$m(CH_3COOH) - ?$	



Решение

Согласно закону эквивалентов (4):

$$\frac{m(\text{CH}_3\text{COOH})}{M\left(\frac{1}{Z}\text{CH}_3\text{COOH}\right)} = C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) \cdot V_{\text{p-ра}}(\text{NaOH})$$

следовательно:

$$\begin{aligned} m(\text{CH}_3\text{COOH}) &= C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) \cdot V_{\text{p-ра}}(\text{NaOH}) \cdot M\left(\frac{1}{Z}\text{CH}_3\text{COOH}\right) = \\ &= 0,05 \cdot 0,0152 \cdot 60 = 0,0456 \text{ г} = 45,6 \text{ мг.} \end{aligned}$$

5. Рассчитать, какой объем раствора H_2SO_4 с молярной концентрацией эквивалента 0,2 моль/л потребуется для нейтрализации раствора, содержащего 0,4 г NaOH.

Дано:

$$m(\text{NaOH}) = 0,4 \text{ г}$$

$$C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{SO}_4\right) =$$

$$0,2 \text{ моль/л}$$

$$V_{\text{p-ра}}(\text{H}_2\text{SO}_4) - ?$$

Решение.

$$\frac{m(\text{NaOH})}{M\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right)} = C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{SO}_4\right) \cdot V_{\text{p-ра}}(\text{H}_2\text{SO}_4)$$

$$V_{\text{p-ра}}(\text{H}_2\text{SO}_4) = \frac{m(\text{NaOH})}{M\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) \cdot C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{SO}_4\right)} = \frac{0,4}{40 \cdot 0,2} = 0,05 \text{ л} = 50 \text{ мл.}$$

6. Из 0,126 г технической щавелевой кислоты ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) приготовили 200 мл раствора. На титрование 10 мл полученного раствора израсходовали 8 мл раствора NaOH с $C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) = 0,01$ моль/л. Найти массовую долю $\omega(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ в техническом образце.

Дано:

$$m_{\text{обр.}} = 0,126 \text{ г}$$

$$V_0(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 200 \text{ мл}$$

Решение.

По результатам титрования найдем

$$C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\right):$$



$$V_{\text{пробы}}(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 10 \text{ мл}$$

$$C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) = 0,01 \text{ моль/л}$$

$$V_{\text{р-ра}}(\text{NaOH}) = 8 \text{ мл}$$

$$C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\right) \cdot V_{\text{пробы}}(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) =$$

$$= C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) \cdot V(\text{NaOH}),$$

$$\omega(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) - ?$$

$$C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\right) = \frac{C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) \cdot V(\text{NaOH})}{V_{\text{пробы}}(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4)} = \frac{0,01 \cdot 8}{10} = 0,008 \text{ моль/л.}$$

Рассчитаем $T(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4)$:

$$T(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) = \frac{C\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\right) \cdot M\left(\frac{1}{Z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}\right)}{1000} = \frac{0,008 \cdot 63}{1000} =$$

$$= 0,0005 = 5 \cdot 10^{-4} \text{ г/мл.}$$

Вычислим массу чистого $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в образце:

$$m(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = T(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot V_0(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 5 \cdot 10^{-4} \cdot 200 = 0,1 \text{ г.}$$

Рассчитаем $\omega(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ в техническом образце:

$$\omega(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = \frac{m(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})}{m_{\text{обр.}}} \cdot 100\% = \frac{0,1 \cdot 100}{0,126} = 79,4\%.$$

7. На титрование раствора соли Мора было израсходовано 10 мл раствора KMnO_4 с молярной концентрацией эквивалента 0,05 моль/л. Определить массу ионов Fe^{2+} в растворе.

Дано:

$$C\left(\frac{1}{Z}\text{KMnO}_4\right) = 0,05$$

моль/л

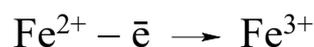
$$V(\text{KMnO}_4) = 10 \text{ мл}$$

$$m(\text{Fe}^{2+}) - ?$$

Решение.

Соль Мора представляет собой кристаллогидрат двойной соли: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Несложно видеть, что объектом перманганатометрического титрования в соли Мора является ион Fe^{2+} , который в процессе титрования окисляется до иона Fe^{3+} :





Из уравнения полуреакции видно, $z(\text{Fe}^{2+}) = 1$.

Запишем выражение закона эквивалентов (формула 4):

$$\frac{m(\text{Fe}^{2+})}{M(\frac{1}{z}\text{Fe}^{2+})} = C(\frac{1}{z}\text{KMnO}_4) \cdot V(\text{KMnO}_4).$$

Получим:

$$m(\text{Fe}^{2+}) = M(\frac{1}{z}\text{Fe}^{2+}) \cdot C(\frac{1}{z}\text{KMnO}_4) \cdot V(\text{KMnO}_4) = 56 \cdot 0,05 \cdot 0,01 = 0,028 \text{ г.}$$

8. Образец загрязненного примесями оксалата натрия массой 0,5 г растворили в колбе на 500 мл. Пробу раствора объемом 10 мл оттитровали в кислой среде 12 мл раствора KMnO_4 с молярной концентрацией эквивалента 0,01 моль/мл. Определить содержание чистого оксалата натрия в образце.

Дано:

$$m_{\text{обр.}} = 0,5 \text{ г}$$

$$V_0(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 500 \text{ мл}$$

$$V_{\text{пробы}}(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 10 \text{ мл}$$

$$C(\frac{1}{z}$$

$$\text{KMnO}_4) = 0,01 \text{ моль/л}$$

$$V(\text{KMnO}_4) = 12 \text{ мл}$$

$$\omega(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) - ?$$

Решение.

В процессе титрования оксалат-ион окисляется до CO_2 :



Отсюда видно, что $z(\text{C}_2\text{O}_4^{2-}) = 2$ и:

$$M(\frac{1}{z}\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = \frac{M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)}{2} = 67 \text{ г/моль.}$$

Найдем массу чистого $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ в титруемой пробе:

$$\frac{m'(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)}{M(\frac{1}{z}\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)} = C(\frac{1}{z}\text{KMnO}_4) \cdot V(\text{KMnO}_4)$$

Отсюда:

$$\begin{aligned} m'(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) &= M(\frac{1}{z}\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot C(\frac{1}{z}\text{KMnO}_4) \cdot V(\text{KMnO}_4) = \\ &= 67 \cdot 0,01 \cdot 12 \cdot 10^{-3} = 0,008 \text{ г.} \end{aligned}$$



В 500 мл раствора $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ содержится:

$$m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = m'(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot \frac{V_0(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)}{V_{\text{пробы}}(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)} = \frac{0,008 \cdot 500}{10} = 0,4 \text{ г.}$$

Таким образом:

$$\omega\% = \frac{m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)}{m_{\text{обр.}}} = \frac{0,4}{0,5} \cdot 100\% = 80\%.$$

9. В 1 литре водного раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ содержится 3,6835г $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Раствор используют в качестве титранта для определения цинка в форме $\text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ методом осадительного гексацианоферратометрического титрования по схеме:



Рассчитайте для указанного раствора молярную концентрацию, молярную концентрацию эквивалента и титр.

Дано:

$V = 1 \text{ л}$
трацию

$m(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 3,6835 \text{ г}$ раствора:

$$\frac{m}{M \cdot V} = \frac{3,6835 \text{ г}}{368,35 \text{ г/моль} \cdot 1 \text{ л}} = 0,01 \text{ моль/л}$$

$C(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = ?$
масса

$C\left(\frac{1}{Z} \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]\right) = ?$

$T(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = ?$

2. Рассчитаем молярную концентрацию

эквивалента:



$$C\left(\frac{1}{Z}\right) = \frac{m}{M\left(\frac{1}{Z}\right) \cdot V} = \frac{3,6835\text{г}}{245,5666\text{г/моль} \cdot 1\text{л}} = 0,015 \text{ моль/л}$$

3. Титр:

$$T = \frac{m}{V} = \frac{3,6835\text{г}}{1000\text{мл}} = 3,6835 \cdot 10^{-3} \text{ г/мл}$$

9. Пробу водопроводной воды объёмом 100 мл оттитровали трилоном Б в среде аммиачного буфера в присутствии индикатора эриохрома чёрного. На реакцию затрачено 8 мл раствора трилона Б с $C\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) = 0,1$ моль/л. Найти общую жёсткость водопроводной воды.

Решение.

В среде аммиачного буфера трилон Б реагирует одновременно с катионами кальция и магния в молярном соотношении 1:1. Общую жёсткость воды (ОЖВ) рассчитывают по формуле:

$$\text{ОЖВ} = \frac{C\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) \cdot V(\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}) \cdot 10^3}{V(\text{H}_2\text{O})} = \frac{0,1 \cdot 8 \cdot 10^3}{100} = 8 \text{ ммоль/л.}$$

10. Рассчитать массу алюминия в мерной колбе на 100 мл, если к 10 мл раствора хлорида алюминия, отобранным из этой колбы, сначала прибавили 25 мл раствора трилона Б с $C\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) = 0,05$ моль/л и 10 мл ацетатного буферного раствора, затем нагрели полученный раствор до 80°C, а после завершения реакции оттитровали избыток комплексона, причём на титрование пошло 8,76 мл раствора хлорида цинка с $C\left(\frac{1}{Z}\text{ZnCl}_2\right) = 0,05$ моль/л.



Решение.

Количество добавленного трилона Б:

$$n\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) = C\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) \cdot V(\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}) = 25 \cdot 0,05 = 1,25$$

ммоль.

Количество оттитрованного трилона Б:

$$\begin{aligned} n\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) &= n\left(\frac{1}{Z}\text{ZnCl}_2\right) = C\left(\frac{1}{Z}\text{ZnCl}_2\right) \cdot V(\text{ZnCl}_2) = 8,76 \cdot 0,05 = \\ &= 0,438 \text{ ммоль.} \end{aligned}$$

Количество прореагировавшего алюминия:

$$n\left(\frac{1}{Z}\text{Al}^{3+}\right) = n\left(\frac{1}{Z}\text{реакт. Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) = 1,25 - 0,438 = 0,812 \text{ ммоль.}$$

Масса алюминия в пробе:

$$m(\text{Al}^{3+}) = n\left(\frac{1}{Z}\text{Al}^{3+}\right) \cdot M\left(\frac{1}{Z}\text{Al}^{3+}\right) = 0,812 \cdot 27 = 21,924 \text{ мг.}$$

Масса алюминия в мерной колбе:

$$m(\text{Al}^{3+}) = \frac{21,924 \cdot 100}{10} = 219,24 \text{ мг.}$$

11. Вычислить массы магния и кальция, которые содержатся в мерной колбе на 100 мл, если при титровании 10 мл этого раствора раствором трилона Б с $C\left(\frac{1}{Z}\text{Na}_2\text{H}_2\text{Tr}\right) = 0,05$ моль/л в присутствии аммиачного буферного раствора затрачено 19,12 мл раствора трилона Б, а на титрование аналогичной пробы с мурексидом после добавления раствора гидроксида натрия с $C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) = 2,0$ моль/л потребовалось 7,89 мл раствора трилона Б такой же концентрации.



Решение.

В среде аммиачного буфера определяется общее количество магния и кальция, а в сильнощелочной среде – только кальций.

$$n(\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}) = n(\text{тр.Б}) = C \cdot V = 19,12 \cdot 0,05 = 0,956 \text{ ммоль};$$

$$n(\text{Ca}^{2+}) = 7,89 \cdot 0,05 = 0,3945 \text{ ммоль};$$

$$n(\text{Mg}^{2+}) = 0,956 - 0,3945 = 0,5615 \text{ ммоль}.$$

Определяем массу магния в пробе и в мерной колбе:

$$n(\text{Mg}^{2+}) = n \cdot M = 0,5615 \cdot 24 = 13,476 \text{ мг};$$

$$m(\text{Mg}^{2+}) = \frac{13,476 \cdot 100}{10} = 134,76 \text{ мг}.$$

12. При аргентометрическом определении хлорид-ионов на титрование 10 мл раствора хлорида натрия затрачено 8 мл раствора нитрата серебра с молярной концентрацией эквивалента 0,05 моль/л. Рассчитать молярную концентрацию эквивалента, титр раствора хлорида натрия и массу хлорида натрия в растворе.

Решение.

Согласно закону эквивалентов:

$$C\left(\frac{1}{z} \text{NaCl}\right) = \frac{C\left(\frac{1}{z} \text{AgNO}_3\right) \cdot V(\text{AgNO}_3)}{V(\text{NaCl})} = \frac{0,05 \cdot 8}{10} = 0,04 \text{ моль/л}.$$

С учетом фактора эквивалентности хлорида натрия $1/z = 1$ титр его раствора составляет:

$$T(\text{NaCl}) = \frac{C\left(\frac{1}{z} \text{NaCl}\right) \cdot M(\text{NaCl}) \cdot \frac{1}{z}}{1000} = \frac{0,04 \cdot 58,5 \cdot 1}{1000} = 0,00234 \text{ г/мл}.$$



Далее рассчитываем массу хлорида натрия в растворе:

$$m(\text{NaCl}) = T \cdot V = 0,00234 \cdot 10 = 0,0234 \text{ г} = 23,4 \text{ мг.}$$

Задачи для самостоятельного решения

1. Рассчитать молярную концентрацию эквивалента HClO_4 в растворе, если на титрование 10 мл этого раствора затрачено 16,3 мл раствора гидроксида калия с $C\left(\frac{1}{Z}\text{KOH}\right) = 0,045$ моль/л.

2. На титрование 5 мл раствора гидроксида бария израсходовано 13 мл раствора соляной кислоты с $C\left(\frac{1}{Z}\text{HCl}\right) = 0,095$ моль/л. Вычислить $T(\text{Ba}(\text{OH})_2)$ и $m(\text{Ba}(\text{OH})_2)$ в растворе.

3. На титрование раствора азотной кислоты израсходовано 10,6 мл раствора гидроксида натрия с $C\left(\frac{1}{Z}\text{NaOH}\right) = 0,05$ моль/л. Вычислить массу кислоты в растворе.

4. Рассчитать массовую долю примесей в образце гидроксида кальция, 0,8 г которого было растворено в мерной колбе объемом 250 мл, а для титрования 10 мл приготовленного раствора затрачено 8 мл раствора соляной кислоты с $T(\text{HCl}) = 0,00365$ г/мл.

5. На титрование раствора, содержащего 0,136 г карбоната натрия, требуется 14,5 мл раствора серной кислоты. Рассчитать $T(\text{H}_2\text{SO}_4)$ и массу H_2SO_4 в растворе.

6. 9,8 г раствора азотной кислоты поместили в мерную колбу и разбавили водой до объема 500 мл. На титрование 15 мл



полученного раствора израсходовано 12 мл раствора гидроксида калия с $C(\frac{1}{Z} \text{KOH})$

7. Вычислить объем раствора оксалата аммония с $C(\frac{1}{Z} (\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4) = 0,02$ моль/л, который при титровании в кислой среде восстанавливает перманганат калия массой 0,004 г.

8. Рассчитать массовую долю иода в образце массой 0,1 г, который прореагировал при титровании с 18,7 мл раствора тиосульфата натрия, если $T(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,00395$ г/мл.

9. Определить молярную концентрацию эквивалента перманганата калия, если на титрование 10 мл этого раствора в кислой среде потребовалось 14,4 мл раствора соли Мора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, титр которой равен 0,00392 г/мл.

10. Найти объем раствора иодида калия с $C(\frac{1}{Z} \text{KI}) = 0,015$ моль/л, который потребуется для титрования в кислой среде 5 мл раствора дихромата калия с $C(\frac{1}{Z} \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 0,039$ моль/л.

11. Образец загрязненного неактивными примесями дигидрата щавелевой кислоты массой 0,13 г растворен в мерной колбе объемом 100 мл. На титрование 10 мл полученного раствора в кислой среде затрачено 24,7 мл раствора перманганата калия с молярной концентрацией эквивалента 0,008 моль/л. Рассчитать массовую долю $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в образце.



12. К раствору, содержащему 0,049 г дихромата калия, добавили раствор серной кислоты и избыток раствора иодида калия. Выделившийся йод оттитровали раствором тиосульфата натрия с $C(\frac{1}{Z}Na_2S_2O_3) = 0,11$ моль/л. Определить объем затраченного раствора тиосульфата натрия.

13. Чем обусловлено использование трилона Б в качестве антидота при отравлениях тяжелыми металлами?

14. Какое соединение, Hg-ЭДТА или Ca-ЭДТА, является более прочным, если константа нестойкости Hg-ЭДТА = 10^{-20} , а константа нестойкости Ca-ЭДТА = 10^{-18} .

15. Привести структурную формулу внутрикомплексного соединения Hg^{2+} с трилоном Б. Чем обусловлена его высокая прочность?

16. Рассчитать общую жесткость воды, если на титрование 50 мл воды было затрачено 2,1 мл трилона Б с молярной концентрацией эквивалента 0,05 моль/л.

17. Рассчитать концентрацию Mg^{2+} в воде, если при титровании 100 мл воды комплексом (III) (Na- ЭДТА) при pH=9,7 с хромогеном черным до синей окраски пошло 19,20 мл раствора комплекса (III) с молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/л.

18. Рассчитать концентрацию циркония в растворе, если при титровании 20 мл этого раствора комплексом с хромогеном



черным до синей окраски пошло 10,15 мл раствора комплексона (III) с молярной концентрацией эквивалента 0,1 моль/л.

19. Сколько г NaCl содержалось в навеске 0,3010 г, если на титрование растворенной навески пошло 15,6 мл раствора AgNO_3 с молярной концентрацией эквивалента 0,11 моль/л ?

20. При аргентометрическом определении хлорид-ионов на титрование 20 мл раствора хлорида натрия затрачено 18 мл раствора нитрата серебра с молярной концентрацией эквивалента 0,0456 моль/л. Рассчитать молярную концентрацию эквивалента, титр раствора хлорида натрия и массу хлорида натрия в растворе.

21. Раствор нитрата серебра объемом 20 мл оттитровали стандартным раствором 0,05 моль/л раствором тиоцианата аммония NH_4NCS в присутствии индикатора – железоаммонийных квасцов – до появления розовой окраски раствора. На титрование израсходовано 21,45 мл титранта. Рассчитать молярную концентрацию эквивалента, титр и массу серебра (I) в анализируемом растворе.

22. При аргентометрическом определении содержания эфедрина гидрохлорида в 5%-ном растворе препарата отобрали 2 мл исходного раствора, прибавили 10 мл воды, несколько капель уксусной кислоты, индикатора бромфенолового синего. Полученный зеленовато-желтый раствор, содержащий хлорид-ионы, оттитровали стандартным 0,05 моль/л раствором нитрата серебра до



перехода окраски раствора в фиолетовую. На титрование затрачено 4,86 мл раствора нитрата серебра. Рассчитать массу эфедрина гидрохлорида в 1 мл исходного раствора.

1.6. ГРАВИМЕТРИЯ

Основные понятия

Гравиметрический анализ — совокупность методов количественного анализа, основанных на выделении определяемого компонента в виде какого-либо соединения и определении его массы. Относительная погрешность анализа составляет 0,01 — 0,1 %.

В гравиметрическом анализе используют метод отгонки (вещество отгоняют в виде какого-либо летучего соединения) и метод осаждения из раствора в виде малорастворимого соединения. Методы отгонки используют, например, для определения содержания кристаллизационной воды в кристаллогидратах, а также при анализе карбонатов, некоторых нитратов и других соединений, образующих летучие продукты реакции.

Содержание определяемого компонента находят как разность масс вещества до и после термической обработки.

Чаще в гравиметрическом анализе используют методы осаждения. В этом случае определяют массу осадка, образовавшегося при взаимодействии определяемого компонента с раствором какого-либо реагента (осадителя).



Различают осаждаемую и гравиметрическую формы вещества. Соединение, в виде которого определяемый компонент осаждается из раствора, называют *осаждаемой формой*, а соединение, в виде которого проводят взвешивание, — *гравиметрической формой*. Гравиметрическая форма по составу может отличаться от осаждаемой.

Иногда гравиметрическая и осаждаемая формы являются одним и тем же соединением. Например, при определении ионов Ba^{2+} их осаждают из раствора в виде сульфата бария $BaSO_4$. Этот осадок отделяют от раствора, промывают, прокаливают и взвешивают. При прокаливании происходит удаление воды и летучих примесей, но состав осадка не меняется, т.е. и гравиметрической, и осаждаемой формой является $BaSO_4$.

Гравиметрический анализ с использованием осаждения включает несколько последовательных операций.

1. Осаждение определяемого компонента в виде труднорастворимого соединения (осаждаемой формы).
2. Отделение осадка от раствора фильтрованием.
3. Промывание осадка.
4. Взвешивание осадка до удаления воды или прокаливания, превращающего осадок в подходящую для взвешивания химическую (гравиметрическую) форму.
5. Взвешивание полученного осадка (гравиметрической формы).

Аналитическим сигналом в гравиметрическом методе явля-



ется масса гравиметрической формы, тогда уравнение связи аналитического сигнала с массой определяемого компонента имеет вид

$$m_r = \frac{m_o}{F},$$

где m_r — масса гравиметрической формы; m_o — масса определяемого компонента; F — аналитический множитель (фактор) гравиметрического анализа.

Аналитический множитель (фактор) гравиметрического анализа представляет собой отношение молярной массы определяемого компонента к молярной массе гравиметрической формы. При вычислении фактора гравиметрического анализа необходимо учитывать стехиометрические коэффициенты в химических формулах определяемого компонента и гравиметрической формы.

Основные операции гравиметрии

Отбор навески

От средней пробы отбирают так называемую аналитическую пробу (навеску), масса которой обычно составляет около 1 г. Предварительно оценивают массу навески, взвешивают навеску сначала на технохимических, затем на аналитических весах с точностью до десятитысячной доли грамма.

Растворение навески



После отбора навески и перенесения ее в химический стакан приступают к растворению. Чаще всего в качестве растворителя выбирают воду или кислоты. Оценивая количество растворителя, исходят из того, чтобы в итоге получить раствор определяемого компонента приблизительно 0,5 — 1,0 %-й концентрации. Навеску растворяют обычно при слабом нагревании, не доводя раствор до кипения во избежание разбрызгивания. Если вещество хорошо растворимо, то его растворяют на холоду.

Осаждение

Для уменьшения погрешностей при проведении гравиметрического анализа необходимо создавать условия осаждения, при которых образуются чистые крупнокристаллические осадки.

Образование осадка начинается с формирования зародышей (или центров кристаллизации). Если скорость образования центров кристаллизации небольшая, по сравнению со скоростью роста кристаллов, в растворе образуется небольшое число крупных кристаллов. В случае если скорость образования центров кристаллизации будет превышать скорость роста кристаллов, в растворе образуется больше мелких кристаллов.

Для уменьшения числа центров кристаллизации необходимо уменьшить концентрацию определяемого вещества и увеличить перед началом осаждения его растворимость. С этой целью перед осаждением раствор разбавляют и нагревают. Для увеличения



растворимости также вводят электролит (чаще всего — соли аммония) или раствор подкисляют.

Существуют соединения (гидроксид алюминия, гидроксид железа(III) и др.), растворимость осадков которых невозможно увеличить перед осаждением. Такие соединения осаждаются в виде мелкокристаллических или аморфных осадков.

Основной причиной загрязнения осадков является соосаждение. *Соосаждение* — это загрязнение осадка посторонними веществами, которые в данных условиях данным осадителем не осаждаются. Соосаждение может быть вызвано поверхностной адсорбцией (соосажденная примесь находится на поверхности частиц) и окклюзией (соосажденная примесь захвачена внутрь частиц осадка).

Для уменьшения загрязнения осадка за счет поверхностной адсорбции желательно получать кристаллические осадки (приемами, указанными выше), а не аморфные осадки с сильно развитой поверхностью. Снизить загрязнение удастся путем повышения температуры при осаждении и при промывании осадка.

Наиболее надежным способом уменьшения загрязнения за счет захвата внутрь осадка (окклюзии) примесей является переосаждение или повторное осаждение. Для этого осадок фильтруют, промывают на фильтре, растворяют в кислоте и снова осаждают. Содержание примесей во вновь полученном осадке резко снижается.



Целью операции осаждения является количественный перевод определяемого компонента в химическое соединение. Полученный осадок должен быть практически нерастворим. Это значит, что после осаждения и промывания осадка его потери не должны превышать погрешности взвешивания на аналитических весах ($\pm 0,0002$ г). Расчеты показывают, что такие осадки соответствуют $K_s \leq 10^{-12}$. Для уменьшения растворимости обычно добавляют избыток осадителя.

Осадок должен содержать минимальное количество загрязнений и образовываться в форме, удобной для его отделения от раствора фильтрованием и промыванием. Таким требованиям отвечают крупнокристаллические осадки. Они легко фильтруются, имеют меньшую общую поверхность, поэтому посторонние вещества на них адсорбируются мало, их легче отмыть при промывании. Если осадки получаются аморфными (скрытокристаллическими), то они должны быть однородными и скоагулированными, легко и полностью превращаться в гравиметрическую форму.

Зная массу выделенного осадка, можно рассчитать содержание определяемого компонента. Поэтому чем полнее будет выполнено осаждение, тем более точным получится результат анализа.

Созревание осадка

После осаждения осадку дают «созреть». Операция созревания осадка сводится к выдерживанию раствора с осадком при



повышенной температуре. Осевший осадок состоит из крупных тяжелых кристаллов. Во взвешенном состоянии над осадком находятся мелкие кристаллы, и они полностью не оседают. В процессе созревания осадка мелкие кристаллы растворяются, а более крупные – растут.

После того, как раствор над осадком станет совершенно прозрачным, его проверяют на полноту осаждения. К раствору с отстоявшимся осадком осторожно, по стенке стакана, приливают несколько капель осадителя и следят за местом, куда стекают капли. Если в месте падения капель осадителя в растворе не образуется мути, значит достигнуто полное осаждение.

Фильтрация и промывание осадка

После полного осаждения необходимо тщательно отделить осадок от сопутствующих веществ. Отделяют осадок от раствора декантацией в несколько приемов. *Декантация* – сливание раствора на приготовленный фильтр по стеклянной палочке. При выполнении этой операции, как и всех последующих, нужно обращать особое внимание на то, чтобы не потерять ни малейшей части осадка.

Перевод осадка в гравиметрическую форму

После всех описанных выше операций на фильтре остается практически чистый осадок. Фильтр с осадком подсушивают.



Затем в большинстве случаев осадок вместе с фильтром прокаливают.

Существует несколько способов прокаливания, но во всех случаях прокаливание продолжают до тех пор, пока масса тигля с осадком перестанет изменяться (по сравнению с предыдущим значением масса изменится не более, чем на 0,0002г). В таких случаях прокаливание считают законченным. Полученная гравиметрическая форма должна соответствовать определенной химической формуле и быть химически устойчивой на воздухе, т.е. мало гигроскопичной, не поглощать диоксид углерода и др. вещества. Чем больше молярная масса гравиметрической формы вещества, тем ниже погрешность взвешивания на аналитических весах.

Гравиметрический анализ – один из наиболее универсальных количественных химических методов анализа. Он применяется для определения очень многих металлов (катионов) и неметаллов (анионов), составных частей сплавов, руд, силикатов, органических соединений и т.д.

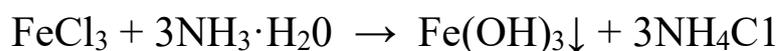
Несколько примеров использования гравиметрического метода.

Определение содержания железа в растворах солей железа(III)

При определении содержания железа в растворах солей ионы



Fe^{3+} осаждают в виде гидроксида $\text{Fe}(\text{OH})_3$ действием раствора аммиака NH_4OH :



При прокаливании гидроксид $\text{Fe}(\text{OH})_3$ превращается в безводный оксид железа(III):

t°



последний является гравиметрической формой. Длительного прокалывания избегают, так как это приводит к частичному восстановлению до Fe_3O_4 .

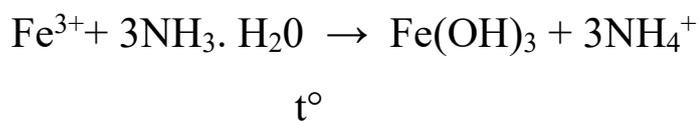
Полученный гидроксид железа(III) представляет собой типичный аморфный осадок, легко образующий коллоидные растворы. Для быстрой коагуляции образующегося аморфного осадка в раствор предварительно добавляют коагулянт — нитрат аммония. Следует иметь в виду, что при нагревании растворов соли железа(III) сильно гидролизуются с образованием осадка: сначала — $\text{Fe}(\text{OH})_2$, затем — $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Осадок слизистой консистенции плотно прилипает ко дну и стенкам химического стакана, очень плохо отфильтровывается и промывается. Предотвращают выпадение таких осадков подкислением раствора перед нагреванием. Повышение концентрации ионов водорода в растворе смещает равновесие и препятствует выпадению гидроксидов железа. В дальнейшем кислоту нейтрализуют раствором аммиака. Образующаяся в результате соль играет при осаждении роль электролита-коагулятора.



Аморфные осадки, подобные $\text{Fe}(\text{OH})_3$, лучше осаждают из концентрированных растворов. При этом они получаются менее объемными, хуже адсорбируют посторонние примеси и легче отмываются от них. Особенно тщательно нужно удалять при промывании ионы хлора, так как они могут образовать при прокаливании летучий хлорид железа(III), вследствие чего возможны потери железа.

Пример. Масса навески хлорида железа(III) равна 2,5024 г. Гравиметрически установлена масса оксида железа(III) — 1,1576 г. Необходимо вычислить массовую долю (%) железа в хлориде железа(III).

Решение. Из уравнений реакций:



получим



Следовательно,

$$[\frac{1}{2}\text{Fe}_2\text{O}_3] = [\text{Fe}^{3+}],$$

тогда

$$F = \frac{M(\text{Fe}^{3+})}{M(\frac{1}{2}\text{Fe}_2\text{O}_3)} \quad W(\text{Fe}) = F \frac{m(\text{Fe}_2\text{O}_3)}{m(\text{FeCl}_3)}$$

Используя данные:

$$M(\text{Fe}_2\text{O}_3) = 159,67 \text{ г/моль}, \quad M(\text{Fe}^{3+}) = 55,85 \text{ г/моль},$$



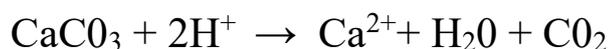
находим

$$F = \frac{55,85}{79,84} = 0,6995,$$

$$W(\text{Fe}) = \frac{0,6995 \cdot 1,1576\text{г}}{2,5024\text{г}} 100\% = 32,36\%$$

Определение содержания кальция в карбонате кальция

Объект анализа — карбонат кальция, соединение практически нерастворимое в воде. Прежде чем приступить к анализу, необходимо навеску CaCO_3 растворить в кислоте:



Для количественного определения ионов кальция их осаждают в виде оксалата кальция. Соединение $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ выпадает в виде мелкокристаллического осадка, способного проходить сквозь фильтр, что очень усложняет работу. Поэтому осаждение ведут из пересыщенного раствора в кислой среде.

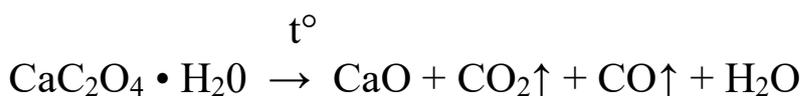
Рассмотрим подробнее происходящие при этом процессы. Если к малорастворимой соли CaC_2O_4 (это соль слабой кислоты) прибавить сильную кислоту, то анионы $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ будут связываться с протонами H^+ , образуя слабую щавелевую кислоту $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$. При достаточно сильном подкислении раствора концентрация ионов $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ понизится настолько, что произведение растворимости CaC_2O_4 не будет достигаться и осадок выпадать не будет.



Если, однако, к такому сильнокислому раствору прибавлять по каплям раствор аммиака, то концентрация ионов H^+ будет постепенно понижаться, а концентрация ионов $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ будет возрастать. Как только произведение концентраций $[\text{Ca}^{2+}] \cdot [\text{C}_2\text{O}_4^{2-}]$ превысит произведение растворимости, осадок начнет выпадать. Но поскольку аммиак прибавляют по каплям, концентрация ионов $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ в растворе повышается постепенно и очень медленно. В результате осаждение происходит из очень слабо пересыщенного относительно CaC_2O_4 раствора, и кристаллы успевают в достаточной степени вырасти. По мере понижения концентрации ионов H^+ в растворе осаждение ионов Ca^{2+} будет становиться все более и более полным.

Расчеты показывают, что практически полным осаждение становится уже при $\text{pH} > 3,3$. Дальнейшее добавление водного раствора аммиака бесполезно. Используя индикатор метиловый оранжевый (показатель титрования 3,8), можно определить момент, когда pH раствора становится равным 4, и прекратить осаждение.

В рассматриваемом примере гравиметрической формой является оксид кальция, образующийся из оксалата $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ при прокаливании до $900 - 1\ 200\ ^\circ\text{C}$:



Существенным недостатком оксида кальция CaO как грави-



метрической формы является его способность поглощать из воздуха углекислый газ и воду, что требует соблюдения соответствующих предосторожностей при взвешивании. Кроме того, процентное содержание кальция в оксиде CaO (и, следовательно, фактор пересчета) велико. Вследствие этих недостатков оксиду кальция предпочитают карбонат кальция, который получают, уменьшив температуру до 500 °С.

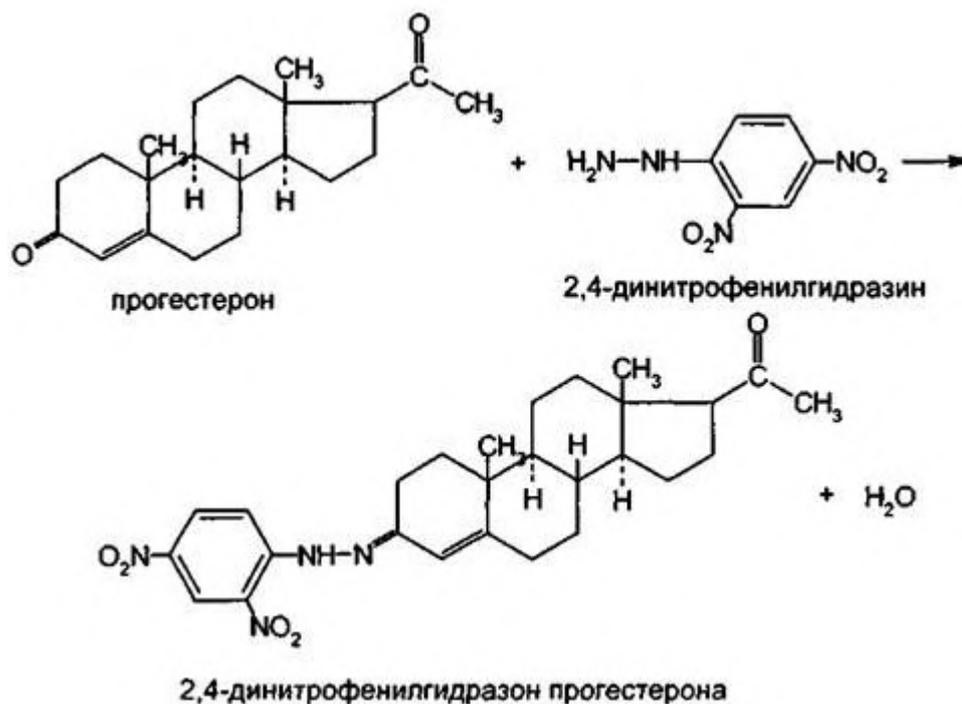
Возможно получение еще одной гравиметрической формы — сульфата кальция при обработке оксида кальция раствором серной кислоты. Избыток кислоты удаляют осторожным выпариванием и прокаливанием сухого остатка. Результаты анализа рассчитывают аналогично примеру 2.1.

Гравиметрическое определение лекарственных веществ

Гравиметрический метод нашел широкое применение в количественном анализе лекарственных веществ. Так, содержание лекарственных средств, относящихся к классу кетонов, может количественно определяться с использованием реакций образования оксимов и гидразонов. В реакцию с определяемым веществом вводят избыток гидроксилamina или гидразина для обеспечения полноты протекания реакции. Выделившиеся в виде осадка оксим или гидразон являются весовой формой лекарственного вещества и позволяют осуществить его количественный анализ гравиметрическим методом.



Например, реакцию осаждения 2,4-динитрофенилгидразон прогестерона можно использовать для количественного определения прогестерона:



Методика количественного определения заключается в добавлении к навеске прогестерона, помещенной в колбу с обратным холодильником, спиртового раствора 2,4-динитрофенилгидразина и концентрированной HCl с последующим нагреванием на водяной бане. Содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через взвешенный стеклянный фильтр. Осадок промывают раствором HCl, затем водой и спиртом до отрицательной реакции на хлориды. После этого осадок высушивают до постоянной массы и взвешивают.

Гравиметрический анализ относится к весьма точным методам и превосходит по точности титриметрические методы анализа. Относительная погрешность анализа обычно не превышает нескольких десятых процента. Существенными недостатками метода являются большая продолжительность определений и их трудоемкость, намного превосходящие продолжительность и трудоемкость других методов анализа. В настоящее время гравиметрию применяют лишь в тех случаях, когда требуется с высокой точностью определить содержание основного компонента, например, при определении концентрации стандартных растворов.

Эталоны решения задач

1. Какой должна быть навеска чугуна с массовой долей 2% для ее гравиметрического определения в виде сульфата бария, чтобы при анализе можно было получить 0,5 г осадка?

Решение. Находим фактор пересчета:

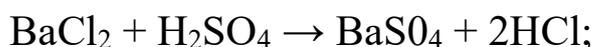
$$F = M(S) / M(\text{BaSO}_4) = 32 / 233,4 = 0,1373.$$

Умножив фактор пересчета на массу весовой формы (масса осадка), получим массу серы; $0,5 \cdot 0,1337 = 0,0687$ г. Затем вычисляем необходимую массу чугуна для анализа, учитывая массовую долю серы: $(0,0687 \cdot 100) / 2 = 3,435$ г.

2. Вычислить объем раствора серной кислоты с массовой долей 4 %, необходимой для осаждения бария из навески 0,3025 г $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.



Решение. Записываем уравнение реакции осаждения сульфат бария:



Определяем массу кислоты, необходимую для осаждения 0,3021г. $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

по пропорции:

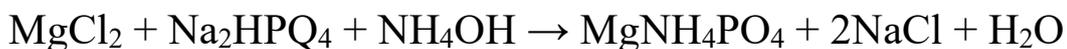


$$x = (0,3025 \cdot 98) / 244 = 0,1215 \text{ (г)};$$

Учитывая массовую концентрацию раствора кислоты, получаем: $(0,1225 \cdot 100) / 4 = 3,04$ г или $3,04 \text{ см}^3$ раствора, т.к. плотность раствора с малой концентрацией кислоты близка к 1 г/см^3 . На практике берут 50% избытка осадителя, т.е. в 1,5 раза больше.

3. Рассчитать объем осадителя в виде 0,05 М раствора Na_2HPO_4 для осаждения магния в виде MgNH_4PO_4 из 100 см^3 0,02М раствора MgCl_2 с использованием избытка осадителя до 120%.

Решение. Записываем уравнение реакции осаждения:



Из уравнения видно, на 1 моль MgCl_2 расходуется 1 моль Na_2HPO_4 . Вычисляем количество MgCl_2 в растворе: $0,02 \cdot 100 = 0,002$ моль. Находим объем раствора Na_2HPO_4 , в котором содержится 0,002 моль этой соли:



$V = 0,002 / 0,05 = 0,04 \text{ дм}^3 = 40 \text{ см}^3$. С учетом 120% избытка получаем окончательный результат:

$$V = 40 \cdot 120 / 100 = 48 \text{ см}^3.$$

4. Для промывания осадка сульфата бария массой 0,5 использовали 250 мл воды. Вычислить массовую долю потерь осадка за счет промывания.

Решение. Допустим, что при промывании образуется насыщенный раствор BaSO_4 . Вычисляем растворимость осадка, исходя из ПР. Принимаем, что $[\text{Ba}^{2+}] = [\text{SO}_4^{2-}] = \sqrt{1,1 \cdot 10^{-10}} = 1,05 \cdot 10^{-5}$ моль/л, тогда масса осадка, растворившегося в 250 см^3 (0,25 дм^3) промывной воды, составит: $m = 1,05 \cdot 10^{-5} \cdot 0,25 \cdot 233,4 = 0,0006 \text{ г}$ (здесь 233,4 - молярная масса BaSO_4 , г/моль).

Массовая доля потерь осадка составит:

$$W = (m_{\text{потери}} / m_{\text{осадка}}) \cdot 100\% = 0,006 \cdot 100 / 0,5 = 0,12\%.$$

5. Рассчитать фактор пересчета «F» весовой формы Al_2O_3 на Al.

Решение. Находим отношение молярных (атомных) масс определяемого компонента в весовой форме, получаемой в результате анализа. Оно равно:

$F = 2M(\text{Al}) / M(\text{Al}_2\text{O}_3) = (2 \cdot 27) / 102 = 0,5197$, где $M(\text{Al})$ и $M(\text{Al}_2\text{O}_3)$ - соответствующие молярные массы.

6. При гравиметрическом определении свинца из 2,0 г олова получено 0,6048 г PbSQ_4 . Вычислить массовую долю свинца в сплаве.



Решение. Рассчитаем фактор пересчета $F(\text{PbSO}_4)$ на Pb :

$$F = 208 / 304 = 0,6842.$$

Определим содержание свинца в 0,6048 г PbSO_4 :

$$m(\text{Pb}) = 0,6048 \cdot 0,6842 = 0,4138 \text{ г.}$$

Определим массовую долю свинца в навеске:

$$W = 0,4138 \cdot 100 / 2,00 = 20,69\%.$$

7. Рассчитать массовую долю карбонатов кальция и магния в известняке, если навеска его 0,9866 г. В результате анализа получено 0,3755 г CaO и 0,4105 г $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

Решение. Вычислим фактор пересчета CaO на CaCO_3 :

$$F = M(\text{CaCO}_3) / M(\text{CaO}) = 100/56 = 1,7847.$$

Находим массу CaCO_3 , умножая F на CaO :

$$1,7847 \cdot 0,3755 = 0,6701 \text{ Г.}$$

Определяем массовую долю CaCO_3 в известняке:

$$W(\text{CaCO}_3) = 0,6701 \cdot 100 / 0,9866 = 67,94\%.$$

Аналогично вычисляем массовую долю MgCO_3 , используя фактор пересчета $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ на MgCO_3 , массу осадка дифосфата (пирофосфата) магния и навеску известняка, взятую для анализа:

$$W(\text{MgCO}_3) = (2 \cdot 84,03 \cdot 0,4105 \cdot 100) / (224,06 \cdot 0,9866) = 31,48\%$$

где: 84, 03 и 224,06 - молярные массы MgCO_3 и $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ - соответственно г/моль; коэффициент, 2- уравнивающий соотношение по магнию для этих двух веществ.



8. Вычислить число молекул воды в кристаллогидрате ацетата свинца при гравиметрическом анализе, если из его навески 0,3243 г получено 0,2593 г сульфата свинца.

Решение. Обозначим молярную массу кристаллогидрата $Pb(CH_3COO)_2 \cdot xH_2O$ через $M(x)$. Запишем значения молекулярных масс ацетата свинца, сульфата свинца и воды:

$$M[Pb(CH_3COO)_2] = 325 \text{ г/моль}; \quad M(PbSO_4) = 303,2 \text{ г/моль};$$

$$M(H_2O) = 18 \text{ г/моль}.$$

Составим пропорцию и вычислим $M(x)$:

$$0,2593 \text{ г} - 0,3243 \text{ г} \quad 303,2 \text{ г}$$

$$303,2 \text{ г} - M(x)$$

$$M(x) = (303,2 - 0,3243) / 0,2593 = 379 \text{ г/моль}.$$

Так как $M(x) = M[Pb(CH_3COO)_2] + x \cdot M(H_2O)$, находим « x »:

$$x = (379 - 325) / 18 = 3.$$

Таким образом, формула кристаллогидрата - $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$.

9. Для гравиметрического определения хлорида в каменной соли пробу в 100 мг растворили в 100 см³ раствора. Рассчитать, какое количество 0,1 М раствора $AgNO_3$ следует добавить к раствору, чтобы потери вследствие неполноты осаждения хлорида серебра не превысили 0,001%. Солевой эффект не учитывать.

Решение. Допустим, что соль состоит полностью из $NaCl$. Определим, сколько миллимолей хлорида натрия содержится в пробе:



$n(\text{NaCl}) = m(\text{NaCl})/M(\text{NaCl}) = 100 \text{ мг}/(58,44 \text{ мг/моль}) = 1,7$
ММОЛЬ.

Потери хлорида не должны превышать 0,001 %, т.е.: $n(\text{NaCl})$
 $= 1,7 \text{ ммоль} \cdot 10^{-3} \% / 100\% = 1,7 \cdot 10^{-5} \text{ ммоль}$.

Определим эквивалентное количество осадителя AgNO_3 :

$n(\text{NaCl}) = n(\text{AgNO}_3) = C(\text{AgNO}_3) \cdot V(\text{AgNO}_3)$, отсюда

$V(\text{AgNO}_3) = n(\text{NaCl})/C(\text{AgNO}_3) = 1,7 \text{ ммоль}/(0,1$
 $\text{ ммоль/см}^3) = 17 \text{ см}^3$.

Таким образом, после добавления эквивалентного количества осадителя *общий* объем составил: $V = 100 \text{ см}^3 + 17 \text{ см}^3 = 117 \text{ см}^3$.

Допустим, что при добавлении избыточного количества осадителя объем раствора практически не изменится. Тогда максимальное значение концентрации хлорид-иона в растворе не превысит значения:

$C(\text{Cl}^-) = n(\text{NaCl})_{\text{потери}} / V = 1,7 \cdot 10^{-5} \text{ ммоль}/117 \text{ см}^3 =$
 $= 1,410^{-5} \text{ ммоль/см}^3$.

Исходя из значения ПР (AgCl) $= 1,78 \cdot 10^{-10}$, находим концентрацию иона серебра в растворе:

$C(\text{Ag}^+) = \text{ПР}(\text{AgCl}) / [\text{Cl}^-] = 1,78 \cdot 10^{-10} / 1,4 \cdot 10^{-7} = 1,3 \cdot 10^{-3} \text{ ммоль/см}^3$.

Находим избыточное количество раствора нитрата серебра из соотношения:

$C(\text{AgNO}_3) \cdot V(\text{AgNO}_3) = C(\text{Ag}^+) \cdot V$,

Отсюда



$$V(\text{AgNO}_3)_{\text{изб}} = (1,3 \cdot 10^3 \text{ ммоль/см}^3 \cdot 117 \text{ см}^3) / (0,1 \text{ ммоль/см}^3) = 1,5 \text{ см}^3$$

Находим общее количество осадителя:

$$V = 17 \text{ см}^3 + 1,5 \text{ см}^3 = 18,5 \text{ см}^3.$$

Задачи для самостоятельного решения

1. Вычислите растворимость PbC_2O_4 в воде.
2. Вычислите произведение растворимости хромата серебра Ag_2CrO_4 , если в 100 мл воды растворяется $1,85 \cdot 10^{-3}$ г этой соли.
3. При каком pH достигается практически полное осаждение ионов Ca^{2+} в виде CaC_2O_4 из раствора, содержащего 0,005 моль/л ионов кальция, при 50% избытке осадителя и общем объеме раствора 100 мл?
 4. Рассчитайте растворимость CaC_2O_4
 - 1) в воде,
 - 2) в 2М растворе HCl .
5. Вычислите растворимость карбоната кальция CaCO_3 в воде, в 0,01 М растворе нитрата калия KNO_3 и в 0,01 М растворе нитрата магния $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, если $\text{PP}_{\text{CaCO}_3} = 3,8 \cdot 10^{-9}$
6. В каком порядке будет происходить осаждение оксалатов, если к смеси, содержащей 1 моль/л ионов Ba^{2+} и 0,005 моль/л ионов Ca^{2+} , приливать раствор оксалата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$?
7. Выпадет ли осадок при смешении равных объемов 0,05 М раствора ацетата свинца $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ и 0,5 М раствора хлорида калия KCl ?
8. Вычислите число молекул воды в молекуле кристаллогидрата хлорида магния, если из навески его 0,5000 г получили 0,2738 г $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.



9. При определении железа в препарате сульфата железа(III) взвешивают BaSO_4 . Запишите выражение для гравиметрического фактора.

10. Образец содержит приблизительно 2% K_2SO_4 и 5% KNO_3 . Рассчитайте массу навески образца, необходимую для получения 0,3 г. KClO_4 .

11. Вычислите потери (г, %) при промывании 0,5000 г осадка тетрафенилбората калия $\text{K}(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B}$ ($M=358,33$ г/моль) 250,0 мл воды.

12. Какой объем раствора AgNO_3 с массовой долей 2% потребуется для осаждения хлорида из навески $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ массой 0,4382 г?

Контрольные вопросы

1. Определите сущность гравиметрического анализа.
2. Какие операции включают в себя гравиметрический анализ?
3. В чем различие осаждаемой формы и гравиметрической формы?
4. Какие требования предъявляют к гравиметрической форме?
5. Что является аналитическим сигналом в гравиметрическом методе?
6. Опишите конкурирующие равновесия при растворении твердого вещества в воде.
7. Какая величина описывает равновесие в гетерогенной системе осадок-раствор?
8. Каким образом можно обосновать условия осаждения осадков и вычислить их растворимость?
9. Исходя из того, что процесс растворения вещества в воде является эндотермическим, сделайте вывод о необходимости увеличения или уменьшения температуры, чтобы равновесие сместилось в сторону образования осадка.



10. Почему в большинстве гравиметрических определений осаждение проводят из разбавленных, подкисленных и нагретых до определенной температуры растворов?

11. В чем сущность солевого эффекта?

12. При каком соотношении скорости образования центров кристаллизации и скорости роста кристаллов получают крупнокристаллические и мелкокристаллические осадки?

13. В чем сущность явления соосаждения?

Глава 2. Физико-химические методы анализа

2.0. Электрохимические методы анализа

Электрохимические методы анализа основаны на явлениях, происходящих на электродах или в межэлектродном пространстве. В качестве аналитического сигнала в этих методах используют параметры, которые связаны с концентрацией (активностью) или массой определяемого компонента: разность потенциалов электродов, сила тока, количество электричества, электропроводность, омическое сопротивление, ёмкость и др.

Электрохимические методы анализа широко используют для аналитического контроля различных технологических процессов получения неорганических и органических веществ, а также в физико-химических исследованиях кинетики реакций, строения органических соединений, комплексообразования и др.

Современные варианты электрохимических методов анализа



характеризуются широким интервалом определяемых содержаний исследуемых компонентов, избирательностью и экспрессностью в сочетании с относительно невысокой стоимостью аппаратуры и простотой выполнения определений. Многие из этих методов легко автоматизируются и компьютеризируются.

Данные методы основаны на использовании электрохимических процессов, происходящих в электролитической ячейке (гальваническом элементе, цепи). Электролитическая ячейка представляет собой электрохимическую систему, состоящую из электродов и электролитов, контактирующих между собой. На границе раздела фаз может происходить электродная реакция между компонентами этих фаз, в результате которой электрический заряд переходит из одной фазы в другую, и на межфазной границе устанавливается потенциал. В состав электролитической ячейки входят два или три электрода, один из которых - индикаторный или рабочий, второй - электрод сравнения и третий - вспомогательный. Электрод, действующий как датчик, реагируя на фактор возбуждения и на состав раствора (не оказывая влияния на состав раствора за время измерения), является индикаторным. Электрод сравнения служит для создания измерительной цепи и поддержания постоянного значения потенциала индикаторного (рабочего) электрода.

Электрохимические методы анализа основаны на использовании зависимости электрических параметров от концентрации, природы и структуры вещества, участвующего в электродной



(электрохимической) реакции или электрохимическом процессе переноса зарядов между электродами. Электрохимические методы анализа подразделяются на:

1) методы без протекания электродной реакции, в которых строение двойного электрического слоя в расчёт не принимается (кондуктометрия);

2) методы, основанные на электродных реакциях в отсутствие тока (потенциометрия) или под током (вольтамперометрия, кулонометрия, электрогравиметрия).

Электрические параметры (сила тока, напряжение, сопротивление) могут служить аналитическими сигналами, если они измерены с достаточной точностью. Электрохимические методы анализа используют либо для прямых измерений, основанных на зависимости “аналитический сигнал-состав”, либо для индикации конечной точки титрования в титриметрии.

2.1. Потенциометрия

Измерение ЭДС гальванического элемента можно использовать для определения активности (концентрации) ионов в растворе. На практике широко применяется метод анализа, основанный на измерении ЭДС, который называется *потенциометрией*.



Потенциометрия - физико-химический метод анализа, основанный на измерении ЭДС гальванического элемента, состоящего из электрода сравнения и электрода определения, погруженных в исследуемый раствор.

Электродом сравнения называется электрод, потенциал которого практически постоянен, легко воспроизводим и не зависит от протекания побочных реакций. В качестве электрода сравнения можно использовать стандартный водородный электрод, потенциал которого принят за ноль при любой температуре. Однако этот электрод неудобен в работе, поэтому чаще используют хлорсеребряный и каломельный электроды (рис.2.1.1).

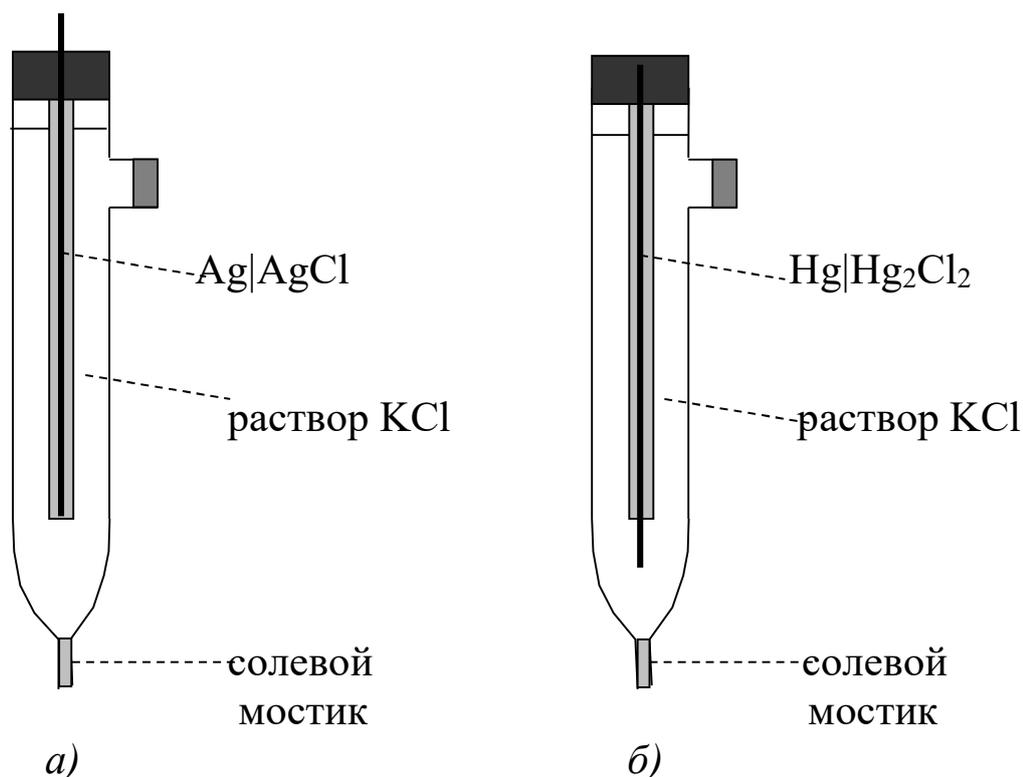
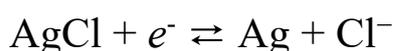


Рис.2.1.1. Электроды сравнения:
а) хлорсеребряный; б) каломельный.

Хлорсеребряный электрод представляет собой серебряную проволоку, покрытую слоем малорастворимого хлорида серебра AgCl и опущенную в насыщенный раствор хлорида калия KCl. Контакт внутреннего раствора с исследуемым обеспечивается солевым мостиком. На межфазной границе устанавливается равновесие:



Согласно уравнению Нернста, равновесный потенциал зависит от активностей участников этой реакции. Однако, поскольку активность твердых веществ Ag и AgCl постоянна, потенциал определяется только активностью хлорид-ионов:

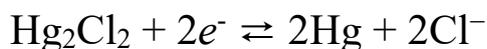
$$\varphi = \varphi^\circ + \frac{2,3RT}{F} \lg \frac{a(\text{AgCl})}{a(\text{Ag}) \cdot a(\text{Cl}^-)} = \varphi^\circ - \frac{2,3RT}{F} \lg a(\text{Cl}^-)$$

При неизменной концентрации хлорид-анионов (например, при использовании насыщенного раствора KCl) равновесный потенциал хлорсеребряного электрода имеет постоянное значение. При температуре 25°C равновесный потенциал насыщенного хлорсеребряного электрода сравнения составляет +0,197 В.

Нередко в качестве электрода сравнения применяют конструктивно схожий с хлорсеребряным каломельный электрод, в котором паста из металлической ртути и малорастворимой кало-



мели (Hg_2Cl_2) контактирует с раствором хлорида калия. В основе работы каломельного электрода лежит реакция



Равновесный потенциал каломельного электрода зависит только от концентрации Cl^- -ионов. Потенциал насыщенного каломельного электрода сравнения при температуре 25°C составляет $+0,241$ В.

В гальваническом элементе хлорсеребряный и каломельный электроды могут служить как катодом, так и анодом в зависимости от потенциала электрода определения.

Электродом определения называется электрод, потенциал которого зависит только от активности (концентрации) анализируемых ионов.

Например, водородный электрод можно использовать для измерения рН. Равновесный потенциал водородного электрода, на котором протекает реакция $\text{H}^+ + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{H}_2$, согласно уравнению Нернста-Петерса, составляет:

$$\varphi_{\text{вэ}} = \frac{2,3RT}{F} \lg \frac{a(\text{H}^+)}{p^{1/2}(\text{H}_2)} = 2 \cdot 10^{-4} T \lg \frac{a(\text{H}^+)}{p^{1/2}(\text{H}_2)}$$

При постоянном давлении водорода (1 атм) потенциал водородного электрода зависит только от температуры и активности (концентрации) ионов водорода:

$$\varphi_{\text{вэ}} = 2 \cdot 10^{-4} T \lg a(\text{H}^+) = 2 \cdot 10^{-4} T \lg C(\text{H}^+) = -2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}$$



Электроды определения, как правило, служат ионоселективные электроды, действие которых основано на возникновении мембранного потенциала на мембране, обладающей избирательной селективностью к определяемому иону. Такие электроды содержат раствор с постоянной активностью определяемого иона и внутренний электрод сравнения (обычно хлорсеребряный электрод). Контакт этого раствора с исследуемым раствором осуществляется через ионоселективную мембрану. Возникающие на обеих сторонах мембраны потенциалы, согласно уравнению Нернста, прямо пропорциональны логарифму активности анализируемого иона во внутреннем и исследуемом растворах. Наиболее часто используемым ионоселективным электродом является *стеклянный электрод* (рис.2.1.2.). Он представляет собой трубку, заканчивающуюся тонкостенной стеклянной мембраной в виде шарика. Мембрана чувствительна к определенному виду ионов. Внутри трубки находится раствор, содержащий данный вид ионов, в который погружен внутренний электрод сравнения.

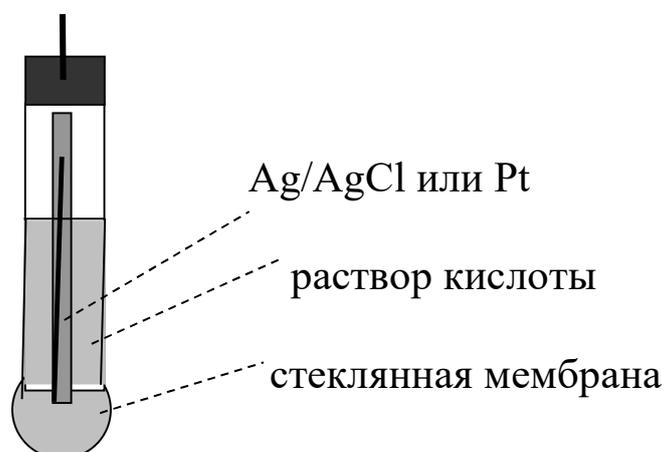


Рис.2.1.2. *Стеклянный электрод для измерения pH*



Чаще всего используется стеклянный электрод, селективный по отношению к ионам H^+ ; с его помощью определяют рН раствора. На каждой границе стекло - раствор происходит обмен катионами щелочного металла и водорода:



Разность потенциалов на поверхностях мембраны зависит от активности ионов H^+ в исследуемом растворе, поскольку внутренний раствор имеет постоянную активность этих ионов. ЭДС гальванического элемента, составленного из стеклянного электрода и электрода сравнения, также является функцией рН:

$$E = \varphi_{\text{эл.сравн.}} - \varphi_{\text{стекл.эл.}} = \text{const} + 2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}$$

Поскольку постоянная величина, входящая в это уравнение, неизвестна, перед использованием стеклянного электрода его необходимо откалибровать по стандартным буферным растворам с известными значениями рН. Прибор для измерения рН (иономер, рН-метр), с высокой точностью измеряет ЭДС полученной гальванической цепи и преобразует ее значение в шкалу рН.

В настоящее время разработаны электроды, селективные к различным катионам и анионам. С их помощью определение активности соответствующих ионов в растворе производится быстро и точно.



Прямая потенциометрия

Методы прямой потенциометрии основаны на непосредственном применении уравнения Нернста для нахождения активности или концентрации участника электродной реакции по экспериментально измеренной э.д.с. цепи или потенциалу электрода. Наибольшее распространение среди прямых потенциометрических методов получил метод определения рН, хотя создание в последнее время надежно работающих ионоселективных электродов значительно расширило практические возможности прямых методов. Прямые потенциометрические методы часто стали называть ионометрическими методами анализа или ионометрией. Эта группа методов интенсивно развивается в связи с успехами в конструировании и улучшении качества ионоселективных электродов, позволяющих проводить быстро и точно определение концентрации или активности ионов и обладающих рядом других достоинств.

Водородный показатель и потенциометрический метод определения рН

Понятие о водородном показателе введено в 1909 г. Зеренсеном, который под водородным показателем понимал отрицательный десятичный логарифм молярной концентрации ионов водорода: $\text{pH} = -\lg[\text{H}^+]$.

В настоящее время величина рН считается характеристикой активности ионов водорода:

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



Надо помнить, что рН является логарифмической функцией концентрации ионов водорода и изменение рН на единицу соответствует десятикратному изменению концентрации ионов H^+ .

Величины рН лежат в пределах от 0 до 14. Величины рН ниже нуля (отрицательная величина) и выше 14 возможны для растворов, с концентрацией более 1 моль/л, соответственно, сильной кислоты и сильного основания. Однако наиболее часто встречающиеся значения рН лежат в пределах от 0 до 14. В настоящее время трудно найти отрасль науки или производства, в которой не использовались величины рН. Величина рН характеризует процессы жизнедеятельности животных и растений, кислотность почв. Величиной рН пользуются в гидрохимии и гидрологии.

Потенциометрический метод определения рН основан на применении гальванических элементов, в которых индикаторный электрод обратим по отношению к ионам водорода.

Для экспериментального определения рН могут быть использованы различные индикаторные электроды: водородный, хингидронный, стеклянный и др. Наибольшее практическое применение в последнее время нашел стеклянный электрод, используемый в широком интервале рН и в присутствии окислителей.



Потенциометрическое титрование

Потенциометрическое титрование - метод объемного анализа, в котором точка эквивалентности определяется по изменению в ходе титрования ЭДС гальванической цепи, включающей анализируемый раствор.

Потенциометрическое титрование как метод количественного объемного анализа представляет собой особую ценность в тех случаях, когда по ряду причин (например, при титровании мутных и окрашенных растворов) для фиксирования точки эквивалентности не могут быть применены обычные индикаторы.

Сущность его состоит в том, что точка эквивалентности находится не по переходу окраски индикатора, а по резкому изменению (скачку) потенциала индикаторного электрода.

Потенциометрическое титрование применяют для реакций нейтрализации, осаждения, комплексообразования и окислительно-восстановительных. Во всех случаях индикаторный электрод должен быть обратим либо по отношению к ионам водорода в растворе, либо по отношению к ионам, образующим комплексное или труднорастворимое соединение, выпадающее в осадок.

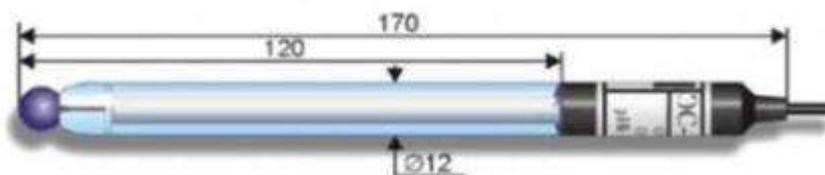
Для потенциометрического титрования собирают гальванический элемент из индикаторного электрода в анализируемом растворе и электрода сравнения.



Индикаторный электрод - электрод, который служит для определения точки эквивалентности при титровании.

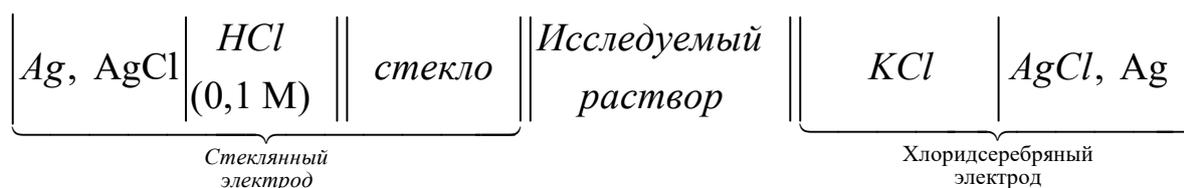
В кислотно-основном титровании в качестве индикаторного электрода обычно используют стеклянный электрод.

Стеклянные электроды. Это несколько условное название системы, представляющей собой небольшой сосуд из изолирующего стекла, к нижней части которого припаян шарик из стекла специального состава, обладающего заметной электропроводностью. Внутрь сосуда заливают стандартный раствор. Такой электрод снабжен токоотводом. В качестве внутреннего стандартного раствора в стеклянном электроде используют 0,1 М раствор хлороводородной кислоты обычно с добавкой хлорида натрия или калия. Можно использовать также какой-либо буферный раствор с добавкой хлоридов или бромидов. Токоотводом служит хлоридсеребряный электрод, представляющий собой серебряную проволоку, покрытую хлоридом серебра. К токоотводу припаивают изолированный, экранированный провод.



Стеклянный электрод обычно используют в паре с хлоридсеребряным электродом сравнения. Электрохимическую цепь такой системы можно записать следующим образом:





Стекло́нная поверхность электрода (его шарик) выполняет роль мембраны, обеспечивая обмен катионами между стеклом и раствором, в результате чего возникает потенциал стеклянной мембраны.

При длительном контакте мембраны с раствором в нее начинают проникать молекулы воды, образуя гидратированный поверхностный слой толщиной 5-10 нм. Существование такого гидратированного слоя фактически является условием функционирования стеклянного электрода. Основные структурные характеристики стекла в гидратированном слое не меняются, но подвижность катионов значительно увеличивается по сравнению с их подвижностью в плотной внутренней части мембраны. Транспорт катионов в гидратированном слое стекла регулируется вакансионным механизмом, согласно которому вакансиями являются катионы в междуузельных положениях. Разность электрических потенциалов на границе раздела раствор — стеклянная мембрана является функцией отношения активностей катиона (например, иона водорода) в растворе и в мембране. Для изготовления мембран чаще всего используют стекло, содержащее 22% Na₂O, 6% CaO, 72% SiO₂.

В лабораторной практике стеклянные электроды применяют,



как правило, для измерения рН. Выпускаемые стеклянные электроды пригодны для работы в интервале рН от - 1 до 14.

Помимо стеклянных электродов, предназначенных для измерения рН, выпускаются стеклянные электроды для измерения активности ионов щелочных металлов, в частности Na^+ в интервале от 1 до 10^{-6} М, K^+ в интервале от 1 до 10^{-5} М и др.

Перед началом работы стеклянные электроды следует выдерживать некоторое время в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты. Ни в коем случае нельзя вытирать стеклянный шарик, так как это может разрушить гелевую поверхность электрода. Категорически запрещается царапать поверхность стеклянного электрода острыми предметами, так как толщина стеклянного шарика составляет десятые доли миллиметра и это выведет из строя чувствительный элемент.

В качестве электродов сравнения чаще всего применяют хлорсеребряный или каломельный.

Электроды сравнения

При измерении ЭДС обратимых гальванических элементов необходим полуэлемент, потенциал которого постоянен и не зависит от состава изучаемого раствора — *электрод сравнения*.

Постоянство потенциала электрода сравнения достигается поддержанием в контактирующем внутреннем растворе постоянной концентрации веществ, на которые реагирует электрод. В качестве электрода сравнения наиболее распространен хлоридсе-

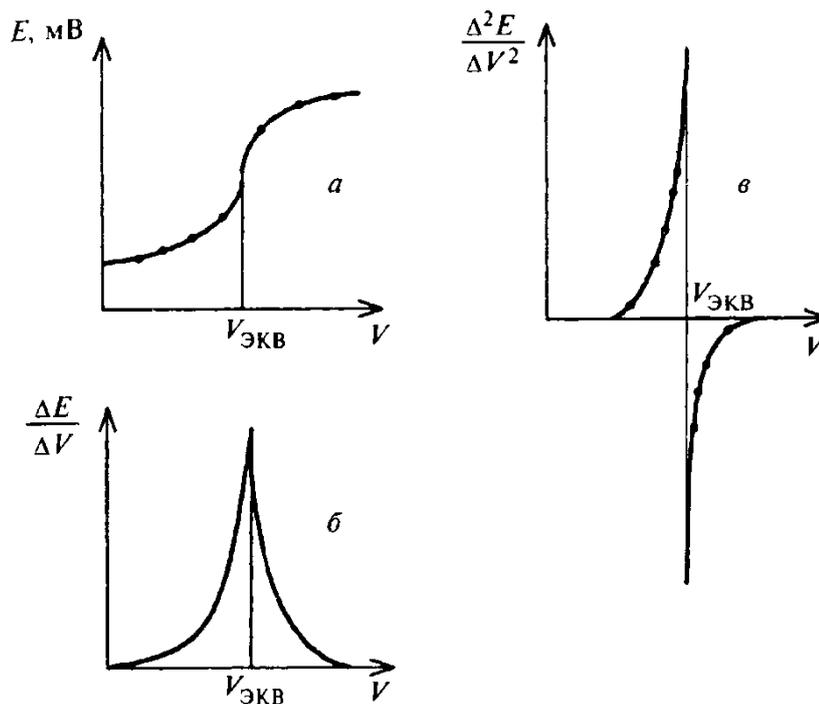


ребряный электрод. Его изготавливают путем электролитического нанесения хлорида серебра на серебряную проволочку. Электрод погружают в раствор хлорида калия, который находится в сосудах, связанных солевым мостиком с анализируемым раствором. Так как в концентрированных хлоридных растворах хлорид серебра растворяется с образованием комплексов серебра, растворы хлорида калия перед погружением в них электродов насыщают хлоридом серебра. При работе с хлоридсеребряным электродом необходимо следить за тем, чтобы внутренний сосуд был заполнен насыщенным раствором KCl.

В качестве электрода сравнения применяют также каломельный электрод.

В известный объем титруемого раствора прибавляют небольшими порциями при постоянном перемешивании титрант и каждый раз измеряют э.д.с. элемента. Титрующий раствор (титрант) должен быть примерно в 10 раз более концентрированный, чем титруемый. Для нахождения точки эквивалентности строят кривую титрования, нанося по оси ординат изменение потенциала индикаторного электрода, а по оси абсцисс - количество миллилитров титранта (рис 2.1.3.).





Способы графического определения точки эквивалентности

Как видно, в точке эквивалентности происходит резкий скачок э.с.д., вызванный резким изменением потенциала индикаторного электрода. По этому скачку можно определить точку эквивалентности: строят касательные к трем участкам кривой титрования; находят середину отрезка, соответствующего скачку потенциала; опускают перпендикуляр на ось абсцисс и определяют число миллилитров прибавляемого титранта. Зная объем титранта, израсходованного на титрование до точки эквивалентности, концентрацию титранта, можно рассчитать содержание анализируемого вещества во взятой пробе.



Потенциометрическое титрование может применяться не только для определения одного компонента, но и для дифференцированного титрования смеси кислот и оснований.

Потенциометрический метод позволяет провести количественное определение компонентов в смеси кислот, если константы диссоциации в воде различаются не менее чем на четыре порядка. Если константы двух кислот в воде отличаются на 2-3 порядка, то они не могут быть отдельно оттитрованы в водной среде. На кривой титрования имеет место один скачок потенциала, когда обе кислоты оттитрованы совместно.

Существует группа растворителей (неводные), которые обладают дифференцирующим действием. Так, если константы двух кислот в водном растворе близки, то в среде дифференцирующего растворителя различие в величинах констант диссоциации увеличивается: константа диссоциации слабой кислоты уменьшается в большей степени. Например, определение содержания соляной и монохлоруксусной кислот в смеси титрованием водного раствора является сложной задачей в связи с трудностью обнаружения двух скачков титрования. При титровании в ацетоне оба скачка выражены достаточно четко и содержание каждой кислоты в смеси может быть рассчитано. Некоторые двухосновные кислоты не удается ступенчато оттитровать в воде, тогда как в среде кетонов на кривых титрования наблюдается два скачка.



В общем случае дифференцирующее действие является результатом комплексного влияния свойств растворителя на константы диссоциации и отношение констант диссоциации электролитов. В каждом отдельном случае может преобладать то или иное действие растворителя на электролит: величина диэлектрической проницаемости (ϵ), сольватирующая способность, кислотно-основные свойства. Например, дифференцирующее действие ацетона объясняется очень низкими кислотно-основными свойствами.

Растворители с противоположными действиями, сближающие константы диссоциации, называются нивелирующими. Примером нивелирующих растворителей является вода.

Практическое применение и общая характеристика метода

Большое практическое значение имеют потенциометрические методы определения рН раствора со стеклянным и другими электродами, а также прямые потенциометрические определения концентрации (активности) других ионов с помощью ионоселективных электродов (ионометрия). Ионоселективные электроды на ионы Cu^{2+} , Ag^{2+} , Ag^+ , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^- , F^- , S^{2-} , NO_3^- и др. успешно применяют в анализе различных растворов, объектов окружающей среды и т.д.



Во многих областях находит практическое применение кальциевый ионоселективный электрод. Помимо традиционного анализа воды, различных растворов большое практическое значение кальциевый электрод имеет в медико-биологических исследованиях, клинической медицине и т.п., поскольку концентрация (активность) ионов кальция влияет на многие процессы жизнедеятельности и физиологические процессы (нервная деятельность, функция ферментов и т.д.). Известен мембранный ионоселективный электрод, позволяющий определять жесткость воды, так как он имеет примерно одинаковую чувствительность на оба иона (кальций и магний).

Ферментные электроды

Это датчики, в которых ионоселективный электрод покрыт пленкой, содержащей фермент, способный вызвать реакцию органического или неорганического вещества (субстрата) с образованием веществ (ионов, молекул), на которые реагирует электрод. В основе работы электрода лежит ферментативная реакция

Определяемое вещество (субстрат) – Фермент – Ион (молекула)

в результате которой образуется частица, обуславливающая отклик электрода. Поэтому за изменением ее концентрации можно проследить с помощью ионоселективного электрода. Селективность ферментных электродов очень высока, поскольку каждый фермент катализирует только какую-то определенную реакцию.



Основные характеристики наиболее распространенных ионоселективных электродов и области их применения

Определяемый ион (газ)	Концентрация, моль/л	Мешающие ионы	Область применения
NH_3	$10^{-6} \div 0,1$	Низкомолекулярные амины	Биологические жидкости (кровь, плазма, сыворотка, моча), почвы, морская вода, сточные воды, азот в органических соединениях (после разложения по методу Кьельдаля)
Br^-	$5 \cdot 10^{-6} \div 1$	$\text{S}^{2-} > 10^{-7} \text{ М}$ $\text{I}^- > 2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$	Атмосферные осадки, биологические жидкости, природные воды, почвы, вина, фотоэмульсии
H_3O^+	$10^{-14} \div 1$	Большие количества металлов	Различные растворы
SO_2	$10^{-4} \div 10^{-2}$	Летучие кислоты	Вина, карбонат в подземных водах, морской воде, концентрированном гидроксиде аммония
I^-	$5 \cdot 10^{-7} \div 1$	$\text{S}^{2-} > 10^{-7} \text{ М}$	Иодометрическое титрование, лекарственные препараты, продукты питания
Cd^{2+}	$10^{-7} \div 0,1$	Ag^+ , $\text{Hg}(\text{II}, \text{I})$, $\text{Cu}^{2+} > 10^{-7} \text{ М}$; Pb^{2+} , Fe^{3+} (высокие концентрации)	Гальванические ванны, индикаторный электрод для комплексонометрического титрования, цинковые отбеливающие растворы
K^+	$10^{-6} \div 1$	Катионные ПАВ, Rb^+ (при соотношении $\text{Rb}^+ : \text{K}^+ > 5 \cdot 10^{-3}$)	Биологические жидкости, физиологические растворы, вина, почвы, удобрения



Ca^{2+}	$10^{-6} \div 1$	Катионные ПАВ, Sr^{2+} (при соотношении $\text{Sr}^{2+} : \text{Ca}^{2+} > 1$)	Биологические жидкости, вина, продукты питания, поверхностные воды почвы, горные породы
$\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$	$6 \cdot 10^{-6} \div 10$		Определение жесткости воды
Cu^{2+}	$10^{-8} \div 1$	$\text{S}^{2-}, \text{Ag}^+, \text{Hg (II)} > 10^{-7} \text{ M}; \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^-, \text{Fe}^{3+}, \text{Cd}^{2+}$ (высокие концентрации)	Гальванические ванны, индикаторный электрод для комплексонометрического титрования, сточные воды
Na^+	$10^{-6} \div 10$	$\text{K}^+, \text{Li}^+, \text{H}^+$	Вода, морская вода, почвы, продукты питания, удобрения, физиологические растворы
NO_3^-	$10^{-5} \div 1$	Анионные ПАВ, Cl^- (при соотношении $\text{Cl}^- : \text{NO}_3^- > 1$)	Вода, морская вода, лекарства, почвы, продукты питания, стекла, растения, удобрения, сточные воды
ClO_4^-	$10^{-5} \div 10^{-1}$		Взрывчатые вещества, твердые топлива
Pb^{2+}	$10^{-6} \div 1$	$\text{Ag}^+, \text{Hg (II)}, \text{Cu}^{2+} > 10^{-7} \text{ M}; \text{Fe}^{3+}, \text{Cd}^{2+}$ (высокие концентрации)	Гальванические ванны, индикаторный электрод для титрования сульфат-ионов
$\text{Ag}^+, \text{S}^{2-}$	$10^{-7} \div 1$	$\text{Hg (II)} > 10^{-7} \text{ M}$	Гальванические ванны, сточные воды, фиксажные ванны, вода
BF_4^-	$10^{-6} \div 1$		Гальванические ванны, бор в почвах и растениях
F^-	$10^{-6} \div 1$	$\text{OH}^- > 0,1 \text{ F}^-$	Биологические жидкости, гальванические ванны, зубная паста, кости, питьевая вода, пищевые продукты, рыбный



			белок, сточные воды, цемент, фосфатные камни
Cl ⁻	10 ⁻⁵ ÷1	S ²⁻ > 10 ⁻⁷ M; Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ (мешают в следовых количествах)	Гальванические ванны, геологические пробы, биологические жидкости, пищевые продукты, растения
CN ⁻	10 ⁻⁶ ÷10 ⁻²	S ²⁻ > 10 ⁻⁷ M; I ⁻ > 0,003 CN ⁻ Br ⁻ > 50 CN ⁻ Cl ⁻ > 500 CN ⁻	Гальванические ванны, сточные воды

Основными достоинствами потенциометрического метода являются его высокая точность, высокая чувствительность и возможность проводить титрования в более разбавленных растворах, чем это позволяют визуальные индикаторные методы. Необходимо отметить также возможности определения этим методом нескольких веществ в одном растворе без предварительного разделения и титрования в мутных и окрашенных средах. Значительно расширяется область практического применения потенциометрического титрования при использовании неводных растворителей. Они позволяют, например, найти содержание компонентов, которые в водном растворе отдельно не титруются, провести анализ веществ, нерастворимых или разлагающихся в воде и т.д.



К недостаткам потенциометрического титрования можно отнести не всегда быстрое установление потенциала после добавления титранта и необходимость во многих случаях делать при титровании большое число отчетов.

Вопросы для самоконтроля

1. Что такое электрод?
2. Как формируется двойной электрический слой: а) при погружении кадмиевой пластинки в раствор сульфата кадмия: б) при погружении серебряной пластинки в раствор нитрата серебра?
3. Что такое электродный потенциал, от чего зависит его величина? Напишите уравнение Нернста для реакции, протекающей на цинковой пластинке в растворе хлорида цинка.
4. Как можно измерить электродный потенциал?
5. Исходя из значений стандартных электродных потенциалов, сравните восстановительную способность железа и никеля, олова и меди, свинца и золота.
6. Какой электрод будет служить катодом при электролизе раствора сульфата меди? Какой электрод будет служить катодом, если погрузить медную и цинковую пластинки в раствор кислоты? Напишите уравнения реакций, протекающих на этих электродах.



7. Окислительно-восстановительный потенциал. Уравнение Нернста - Петерса. Сравните окислительную способность разбавленной и концентрированной азотной кислоты и восстановительную способность хлорид- и иодид-анионов.

8. ЭДС окислительно-восстановительной реакции. Условие самопроизвольного протекания окислительно-восстановительной реакции.

9. Электроды сравнения и электроды определения. Приведите примеры электродов сравнения. Могут ли эти электроды служить электродами определения?

10. Гальванический элемент. Приведите примеры биметаллического, окислительно-восстановительного, изометаллического концентрационного и газового концентрационного элементов. Изобразите их схемы.

11. Прямая потенциометрия. Сущность, область применения, достоинства и недостатки метода.

12. Как можно использовать прямую потенциометрию для измерения рН растворов?

13. Потенциометрическое титрование. Сущность, область применения, достоинства и недостатки метода.



Решение типовых задач

1. Рассчитать равновесный потенциал серебряной пластинки, опущенной в раствор сульфата серебра с концентрацией 0,001 моль/л при температуре 27 °С.

Решение. Уравнение Нернста для равновесного потенциала серебряного электрода принимает вид:

$$\varphi(\text{Ag}^+/\text{Ag}) = \varphi^\circ(\text{Ag}^+/\text{Ag}) + \frac{2 \cdot 10^{-4} T}{z} \lg C(\text{Ag}^+)$$

Найдем значения φ° , T , z и C .

На серебряном электроде, опущенном в раствор соли серебра, устанавливается равновесие:



В таблице 1 для указанной реакции находим значение стандартного электродного потенциала, равное +0,799 В. Заряд потенциалопределяющих ионов $z = 1$, абсолютная температура $27 + 273 = 300$ К.

В соответствии с уравнением диссоциации сульфата серебра



определяем, что концентрация катионов серебра вдвое больше концентрации сульфата серебра:

$$C(\text{Ag}^+) = 2C(\text{Ag}_2\text{SO}_4) = 2 \cdot 0,001 = 0,002 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л}$$

Подставляем найденные величины в уравнение Нернста:

$$\varphi = 0,799 + 2 \cdot 10^{-4} \cdot 300 \lg 2 \cdot 10^{-3} = 0,799 - 0,162 = 0,637 \text{ В}$$

2. Рассчитать равновесный потенциал платиновой проволоки, которая опущена в раствор, содержащий сульфат натрия с концентрацией 0,002 моль/л и сульфид натрия с концентрацией 0,001 моль/л, при $\text{pH} = 3$ и температуре 17 °С.

Решение. На платиновом электроде в растворе, содержащем SO_4^{2-} -ионы (окисленная форма) и S^{2-} -ионы (восстановленная



форма), протекает окислительно-восстановительная реакция:



Равновесное значение окислительно-восстановительного потенциала можно рассчитать по уравнению Нернста-Петерса:

$$\varphi(\text{SO}_4^{2-}/\text{S}^{2-}) = \varphi^\circ(\text{SO}_4^{2-}/\text{S}^{2-}) + \frac{2 \cdot 10^{-4} T}{8} \lg \frac{C(\text{SO}_4^{2-}) \cdot C^8(\text{H}^+)}{C(\text{S}^{2-})}$$

Здесь 8 - число электронов, принимающих участие в окислительно-восстановительном процессе. В таблице 3 для указанной реакции находим значение стандартного окислительно-восстановительного потенциала, равное +0,149 В. Абсолютная температура $17+273 = 290$ К.

Для разбавленного раствора можно принять:

$$C(\text{SO}_4^{2-}) = C(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,002 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л}$$

$$C(\text{S}^{2-}) = C(\text{Na}_2\text{S}) = 0,001 = 10^{-3} \text{ моль/л}$$

Концентрация ионов H^+ определяется значением рН раствора:

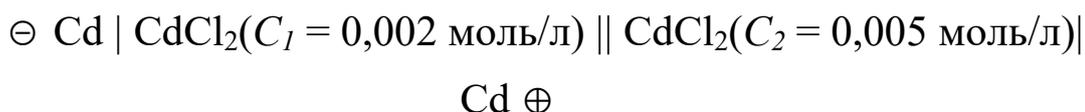
$$C(\text{H}^+) = 10^{-\text{pH}} = 10^{-3} \text{ моль/л}$$

Подставляем найденные величины в уравнение Нернста:

$$\begin{aligned} \varphi(\text{SO}_4^{2-}/\text{S}^{2-}) &= 0,149 + \frac{2 \cdot 10^{-4} \cdot 290}{8} \lg \frac{2 \cdot 10^{-3} \cdot (10^{-3})^8}{10^{-3}} = \\ &= 0,149 + 0,00725 \lg 2 \cdot 10^{-24} = 0,149 - 0,172 = -0,023 \text{ В} \end{aligned}$$

3. Рассчитать ЭДС концентрационной цепи, составленной из двух кадмиевых электродов, опущенных в растворы хлорида кадмия с концентрациями 0,005 и 0,002 моль/л, при температуре 22 °С.

Решение. Схему полученного гальванического элемента можно представить следующим образом:



ЭДС концентрационного гальванического элемента рассчитывается по формуле:



$$E = 2 \cdot 10^{-4} T \lg \frac{C_2(\text{Cd}^{2+})}{C_1(\text{Cd}^{2+})}$$

Для разбавленных растворов можно принять:

$$a(\text{Cd}^{2+}) = C(\text{Cd}^{2+})$$

Поскольку $C(\text{Cd}^{2+}) = C(\text{CdCl}_2)$, при абсолютной температуре $T = 22 + 273 = 295\text{K}$ ЭДС элемента составит:

$$E = 2 \cdot 10^{-4} \cdot 295 \lg 0,005/0,002 = 0,0236 \text{ В}$$

4. Рассчитать ЭДС элемента, который составлен из цинкового электрода, опущенного в раствор хлорида цинка с концентрацией 0,002 моль/л, и медного электрода, опущенного в раствор сульфата меди с концентрацией 0,001 моль/л. Температура 32 °С.

Решение. На цинковом электроде протекает реакция



которая характеризуется величиной стандартного электродного потенциала $-0,763 \text{ В}$.

На медном электроде протекает реакция



для которой значение стандартного электродного потенциала составляет $+0,337 \text{ В}$.

Поэтому схему элемента можно записать следующим образом:



ЭДС такого элемента рассчитывается как разность потенциалов более положительного электрода (катода) и более отрицательного электрода (анода):

$$E = \varphi_{\text{катода}} - \varphi_{\text{анода}}$$

Вычислим их значения по уравнению Нернста, принимая для разбавленных растворов активности равными концентрациям:

$$\begin{aligned} \varphi_{\text{катода}} &= \varphi^{\circ}(\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}) + 2 \cdot 10^{-4} T/z \lg C(\text{Zn}^{2+}) = \\ &= -0,763 + 2 \cdot 10^{-4} \cdot 305/2 \lg 0,002 = -0,763 - 0,082 = -0,845 \text{ В} \end{aligned}$$

$$\varphi_{\text{анода}} = \varphi^{\circ}(\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}) + 2 \cdot 10^{-4} T/z \lg C(\text{Cu}^{2+}) =$$



$$= +0,337 + 2 \cdot 10^{-4} \cdot 305/2 \lg 0,001 = +0,337 - 0,092 = 0,245 \text{ В}$$

Таким образом, ЭДС элемента составляет:

$$E = \varphi_{\text{катода}} - \varphi_{\text{анода}} = 0,245 - (-0,845) = 1,09 \text{ В}$$

5. Рассчитать ЭДС гальванического элемента, составленного из двух водородных электродов. В электроде, служащем катодом, в качестве электролита использован раствор хлорида аммония с концентрацией 0,01 моль/л. В электроде, служащем анодом, электролитом является раствор аммиака с концентрацией 0,01 моль/л. Температура 27 °С. $K_b(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 1,85 \cdot 10^{-5}$.

Решение. Схему элемента можно записать следующим образом:



Электродный потенциал водородного электрода определяется рН раствора:

$$\varphi_{\text{вэ}} = - 2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}$$

ЭДС элемента, составленного из двух водородных электродов, равен разности величин катода (более положительного электрода) и анода (более отрицательного электрода):

$$\begin{aligned} E = \varphi_{\text{катода}} - \varphi_{\text{анода}} &= - 2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}_k - (- 2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}_a) = \\ &= 2 \cdot 10^{-4} T \cdot (\text{pH}_{\text{анода}} - \text{pH}_{\text{катода}}) \end{aligned}$$

Вычислим рН используемых электролитов.

В растворе хлорида аммония протекает гидролиз по катиону слабого основания, вследствие чего устанавливается концентрация ионов водорода, которую можно рассчитать по формуле:

$$[\text{H}^+] = \frac{\sqrt{K_w \cdot C}}{\sqrt{K_b}} = \frac{\sqrt{10^{-14} \cdot 10^{-2}}}{\sqrt{1,85 \cdot 10^{-5}}} = \sqrt{5,41 \cdot 10^{-12}} = 2,32 \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$$

$$\text{pH} = -\lg [\text{H}^+] = -\lg 2,32 \cdot 10^{-6} = 5,63$$

Концентрацию ионов OH^- в растворе аммиака считаем по формуле для растворов слабых оснований:

$$[\text{OH}^-] = \sqrt{K_b \cdot C} = \sqrt{1,85 \cdot 10^{-5} \cdot 0,01} = \sqrt{1,85 \cdot 10^{-7}} = 4,3 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$$

$$\text{pOH} = -\lg [\text{OH}^-] = -\lg 4,3 \cdot 10^{-4} = 3,37$$

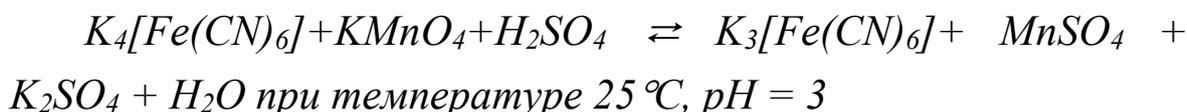
$$\text{pH} = 14 - \text{pOH} = 14 - 3,37 = 10,63$$



Таким образом, ЭДС элемента составит:

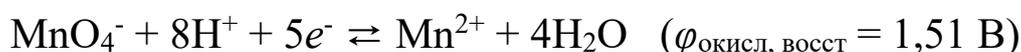
$$E = 2 \cdot 10^{-4} \cdot 300 (10,63 - 5,63) = 0,3 \text{ В}$$

6. Определить направление самопроизвольного протекания окислительно-восстановительной реакции



и концентрациях $C(K_4[Fe(CN)_6]) = C(KMnO_4) = 0,005 \text{ моль/л}$ и $C(K_3[Fe(CN)_6]) = C(MnSO_4) = 0,001 \text{ моль/л}$; методом ионных полуреакций подобрать коэффициенты.

Решение. Данная окислительно-восстановительная реакция состоит из двух процессов:



На основании уравнения Нернста-Петерса рассчитаем окислительно-восстановительные потенциалы этих реакций, принимая активности ионов равными их молярным концентрациям:

$$\begin{aligned} \varphi(MnO_4^-/Mn^{2+}) &= \varphi^\circ(MnO_4^-/Mn^{2+}) + \frac{2 \cdot 10^{-4} T}{5} \lg \frac{C(MnO_4^-) \cdot C^8(H^+)}{C(Mn^{2+})} = \\ &= 1,51 + \frac{2 \cdot 10^{-4} \cdot 298}{5} \lg \frac{0,005 \cdot (10^{-3})^8}{0,001} = 1,51 - 0,278 = 1,232 \text{ В} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \varphi([Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}) &= \\ &= \varphi^\circ([Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}) + \frac{2 \cdot 10^{-4} T}{1} \lg \frac{C([Fe(CN)_6]^{3-})}{C([Fe(CN)_6]^{4-})} = \\ &= 0,543 + 2 \cdot 10^{-4} \cdot 298 \lg \frac{0,001}{0,005} = 0,543 - 0,042 = 0,501 \text{ В} \end{aligned}$$

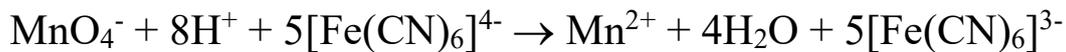
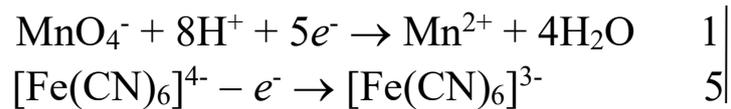
Условием самопроизвольного протекания процесса является положительная величина ЭДС ($E = \varphi_{\text{окисл}} - \varphi_{\text{восст}}$). Это возможно, если



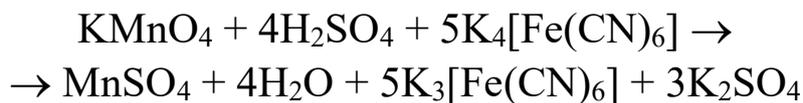
$$E = 1,232 - 0,501 = 0,731 \text{ В}$$

Значит, в данных условиях окислителем служит MnO_4^- , а восстановителем - $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, т.е. реакция возможна только в прямом направлении.

Чтобы подобрать коэффициенты в уравнении реакции, уравняем количество электронов, которое восстановитель отдает окислителю, и просуммируем ионные полуреакции:



Добавляя к полученному ионному уравнению недостающие ионы (K^+ и SO_4^{2-}), получаем молекулярное уравнение окислительно-восстановительной реакции:



7. Гальванический элемент составлен из насыщенного хлорсеребряного электрода и водородного электрода, в котором в качестве электролита использован исследуемый желудочный сок. Определить pH желудочного сока, если ЭДС элемента при температуре 25 °C составила 256,6 мВ.

Решение. Схема гальванического элемента:



ЭДС этого элемента представляет собой разность потенциалов положительного и отрицательного электродов:

$$E = \varphi_{\text{катода}} - \varphi_{\text{анода}} = \varphi_{\text{нас.кал.эл}} - (-2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}) = \varphi_{\text{нас.кал.эл.}} + 2 \cdot 10^{-4} T \cdot \text{pH}$$

Отсюда

$$\text{pH} = \frac{E - \varphi_{\text{нас.кал.эл.}}}{2 \cdot 10^{-4} T} = \frac{0,2566 - 0,197}{2 \cdot 10^{-4} \cdot 298} = 1$$



Задачи для самостоятельного решения

(При решении задач принимать значение кажущейся степени диссоциации сильных электролитов равной 1, если в условии не указаны другие величины).

1. Рассчитать равновесный потенциал кадмиевого электрода, опущенного в раствор сульфата кадмия с концентрацией 0,01 моль/л при температуре 35°C.

2. Рассчитать равновесный потенциал цинкового электрода, опущенного в раствор хлорида цинка с концентрацией 0,001 моль/л при температуре 25°C.

3. Рассчитать равновесный потенциал серебряного электрода, опущенного в раствор сульфата серебра с концентрацией 0,005 моль/л при температуре 17°C.

4. Рассчитать равновесный потенциал медного электрода, опущенного в раствор сульфата меди с концентрацией 0,01 моль/л при температуре 15°C.

5. Рассчитайте ЭДС концентрационной цепи, составленной из цинковых электродов, опущенных в растворы сульфата цинка с концентрациями 0,001 моль/л и 0,005 моль/л, при температуре 17°C.



6. Гальванический элемент составлен из двух водородных электродов; в одном из них электролитом служит раствор уксусной кислоты с концентрацией 0,1 моль/л, в другом - раствор соляной кислоты с концентрацией 0,01 моль/л. Рассчитайте ЭДС этого элемента при температуре 25°C. Степень диссоциации уксусной кислоты принять равной 3%, кажущаяся степень диссоциации соляной кислоты 90%.

7. Вычислить ЭДС цепи, составленной из двух платиновых электродов, один из которых опущен в раствор, содержащий 0,01 моль/л хлорида олова (IV) и 0,001 моль/л хлорида олова (II), а другой - в раствор, содержащий 0,05 моль/л сульфата железа (III) и 0,005 моль/л сульфата железа (II). Температура 27°C.

8. Вычислить ЭДС цепи, составленной из двух платиновых электродов, один из которых опущен в раствор, содержащий 0,05 моль/л сульфата олова (IV) и 0,005 моль/л сульфата олова (II), а другой - в раствор, содержащий 0,01 моль/л перманганата калия и 0,001 моль/л манганата калия. Температура 27°C.

9. Гальванический элемент составлен из насыщенного каломельного электрода и водородного электрода, в котором в качестве электролита использован исследуемый желудочный сок. Определите pH желудочного сока, если значение ЭДС элемента составило 294,6 мВ при температуре 25°C.

10. Гальванический элемент составлен из цинкового электрода, опущенного в раствор хлорида цинка, и насыщенного

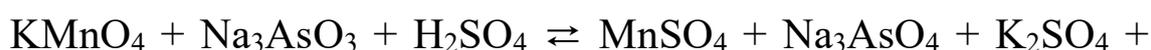


хлорсеребряного электрода. Величина ЭДС этого элемента при температуре 25°C составляет 1028,5 мВ. Какова концентрация хлорида цинка в растворе?

11. Гальванический элемент составлен из двух водородных электродов; в одном из них электролитом служит раствор масляной кислоты с концентрацией 0,005 моль/л, в другом - раствор соляной кислоты с концентрацией 0,001 моль/л. Рассчитайте константу диссоциации масляной кислоты при температуре 25°C, если ЭДС этого элемента составила 34 мВ.

12. Гальванический элемент составлен из двух водородных электродов; в одном из них электролитом служит раствор серной кислоты с концентрацией 0,002 моль/л, в другом - исследуемый желудочный сок. Определите рН желудочного сока, если ЭДС этого элемента при температуре 17°C составила 81,2 мВ.

13. Определить направление самопроизвольного протекания окислительно-восстановительной реакции



H_2O при температуре 25°C, рН = 1 и концентрациях

$$C(\text{KMnO}_4) = C(\text{Na}_3\text{AsO}_4) = 0,01 \text{ моль/л и}$$

$$C(\text{Na}_3\text{AsO}_3) = C(\text{MnSO}_4) = 0,005 \text{ моль/л;}$$

методом ионных полуреакций подобрать коэффициенты.

14. Определить направление самопроизвольного протекания окислительно-восстановительной реакции



при температуре 25°C, pH = 3 и концентрациях

$$C(\text{KMnO}_4) = C(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,01 \text{ моль/л и}$$

$$C(\text{Na}_2\text{SO}_3) = C(\text{MnSO}_4) = 0,005 \text{ моль/л;}$$

методом ионных полуреакций подобрать коэффициенты.

15. Определить направление самопроизвольного протекания окислительно-восстановительной реакции



H_2O при температуре 25°C, pH = 2 и концентрациях

$$C(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = C(\text{SnSO}_4) = 0,01 \text{ моль/л и}$$

$$C(\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3) = C(\text{Sn}(\text{SO}_4)_2) = 0,02 \text{ моль/л;}$$

методом ионных полуреакций подобрать коэффициенты.

16. Определить направление самопроизвольного протекания окислительно-восстановительной реакции



при температуре 25°C, pH = 10 и концентрациях

$$C(\text{KMnO}_4) = C(\text{KNO}_2) = 0,001 \text{ моль/л и}$$

$$C(\text{KNO}_3) = C(\text{K}_2\text{MnO}_4) = 0,005 \text{ моль/л;}$$

методом ионных полуреакций подобрать коэффициенты.

2.2. Кулонометрия

Общие сведения

Кулонометрические методы анализа основаны на измерении



количества электричества, израсходованного на электропревращение определяемого вещества. Связь между массой вещества, подвергнутого электропревращению (электролизу), и затраченным при этом количеством электричества определяется *законом Фарадея*:

$$m = \frac{M \cdot Q}{z \cdot F}, \quad (2.2.1)$$

где m — масса вещества, г; M — молярная масса вещества, г/моль;
 Q — количество электричества, Кл;
 z — число электронов, участвующих в электродной реакции;
 F — постоянная Фарадея (96 500 Кл/моль).

Кулонометрические методы анализа обладают существенным преимуществом перед большинством других методов анализа. Это связано с тем, что в соответствии с уравнением (2.2.1) коэффициент пропорциональности между аналитическим сигналом (Q) и массой определяемого вещества (m) включает только физические константы (табулированные величины). В отличие от большинства современных физических и физико-химических методов анализа кулонометрия является безэталонным методом.

Кроме того, кулонометрические методы анализа обеспечивают получение результатов с лучшей воспроизводимостью, чем



большинство других методов анализа при определении как малых, так и сравнительно больших концентраций; они более экспрессны и легко автоматизируются.

В зависимости от происходящих электродных процессов кулонометрические методы подразделяют на прямую кулонометрию и косвенную кулонометрию (кулонометрическое титрование).

В случае *прямой кулонометрии* определяемое вещество непосредственно подвергается электролизу (электрохимическому превращению). При *косвенной кулонометрии (кулонометрическом титровании)* при электролизе вспомогательного реагента получают (генерируют) титрант, вступающий в химическую реакцию с определяемым веществом. Зная количество электричества, израсходованное на получение титранта, рассчитывают массу определяемого компонента. При этом не имеет значения, является ли определяемое вещество электрохимически активным.

Кулонометрические определения можно осуществлять, задавая (контролируя) либо потенциал рабочего электрода, либо силу тока электролиза. В соответствии с контролируемым параметром кулонометрические методы разделяют на две группы:

1) *потенциостатические*, в которых потенциал рабочего электрода остается неизменным в течение всего времени электролиза;

2) *гальваностатические (амперостатические)*, в которых сила тока в течение всего времени электролиза поддерживается постоянной.



Закон Фарадея позволяет оценить, сколь низкие содержания веществ можно определить кулонометрическим методом анализа. Так, если провести электролиз вещества с молярной массой эквивалента

100 г/моль в течение 20 мин при силе тока 10^{-6} А, т.е. затратить около 10^{-3} Кл электричества, то можно определить 1 мкг (10^{-6} г) этого вещества. Современная аппаратура позволяет надежно измерять и более слабые токи, например 10^{-8} А и ниже, а также значительно меньшие количества электричества (10^{-6} — 10^{-4} Кл). В связи с этим кулонометрические методы можно использовать для определения нанограммовых (10^{-9} г) масс вещества.

При использовании кулонометрического метода анализа необходимо выполнение определенных условий. Прежде всего электролиз должен осуществляться со 100%-м выходом по току. Следовательно, количество электричества должно полностью расходоваться на основную электродную реакцию. Выход по току менее 100 % может быть обусловлен затратами электричества на такие побочные электродные процессы, как электролиз растворителя, восстановление или окисление примесей или реакции с участием материала электрода, а также на протекание вторичных электродных реакций окисления или восстановления первоначально полученных продуктов электролиза.

Выбор условий (материал и потенциал рабочего электрода, значение рН раствора) кулонометрических определений проводят



в соответствии с вольт- амперными кривыми компонентов. Условия, обеспечивающие 100%-й выход по току, выбирают с учетом диапазонов потенциалов предельных токов на этих кривых.

При потенциометрической индикации конечной точки титрования в кулонометрическую ячейку помещают соответствующий индикаторный электрод и электрод сравнения.

В качестве индикаторного электрода используют, например, платиновый электрод, если проводят окислительно-восстановительную реакцию, стеклянный электрод, если происходит реакция с изменением рН раствора. Следят за изменением потенциала индикаторного электрода в процессе кулонометрического титрования. По скачку потенциала находят конечную точку титрования.

В случае амперометрической индикации в ячейку также помещают индикаторный электрод и электрод сравнения. Предварительно по вольтамперным кривым выбирают потенциал индикаторного электрода в области диффузионного тока электрохимически активного компонента.

В ходе титрования фиксируют изменение диффузионного тока в индикаторной цепи в зависимости от времени электролиза. Если ток в индикаторной цепи обусловлен электродной реакцией титранта, то получают кривую, аналогичную по форме кривой амперометрического титрования по току титранта



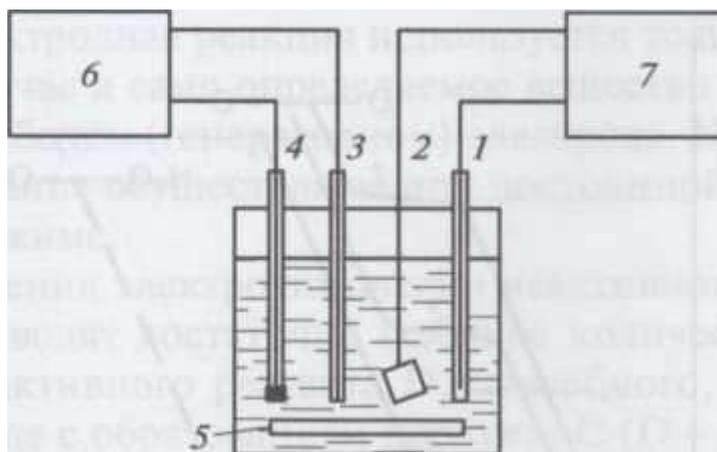


Рис. 2.2.1. Схема установки для кулонометрического титрования с электрохимической индикацией конечной точки титрования:

1 — вспомогательный электрод (должен быть отделен пористой перегородкой от рабочего электрода; на рисунке перегородка не показана); 2 — рабочий (генераторный) электрод; 3 — индикаторный электрод; 4 — электрод сравнения; 5 — мешалка; 6 — контур индикаторной системы; 7 — контур генераторной системы

При образовании в ходе кулонометрического титрования окрашенных соединений можно использовать индикацию конечной точки титрования, измеряя оптическую плотность раствора в зависимости от времени электролиза.

Чувствительность кулонометрического титрования зависит от способа определения конечной точки титрования. Наиболее чувствительными, т.е. позволяющими определять более низкие содержания, являются амперометрические и спектрофотометрические методы индикации.

Методы кулонометрического титрования разработаны для всех типов химических реакций: кислотно-основных, осаждения,



комплексобразования и окисления-восстановления

Определяемое вещество	Генераторная электродная реакция	Химическая реакция
Кислоты сильные (H_3O^+) и слабые (НА)	$\text{H}_2\text{O} + e^- = 1/2\text{H}_2 + \text{OH}^-$	$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{HA} + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{A}^- + \text{H}_2\text{O}$
Основания сильные (OH^-) и слабые (МОН)	$3\text{H}_2\text{O} - 2e^- = 1/2\text{O}_2 + 2\text{H}_3\text{O}^+$	$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{МОН} + \text{H}_3\text{O}^+ \leftrightarrow$ $\leftrightarrow \text{M}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$
Ионы $\text{X}^- = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^-$; меркаптаны RSH	$\text{Ag}(\text{тв.}) - e^- = \text{Ag}^+$	$\text{X}^- + \text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{AgX} \downarrow$ $\text{RSH} + \text{Ag}^+ \leftrightarrow \text{AgSR} \downarrow + \text{H}^+$
Ионы $\text{Ca}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Pb}^{2+}$ и др.	$\text{HgNH}_3\text{Y}^{2-} + \text{NH}^+ + 2e^- =$ $= \text{Hg}(\text{ж.}) + 2 \text{NH}^+ +$ $\text{HY}^{3-} \quad (\text{Y}^{4-} - \text{ион}$ $\text{ЭДТА})$	$\text{HY}^{3-} + \text{Ca}^{2+} \leftrightarrow \text{CaY}^{2-} + \text{H}^+$

Табл.2 .2.1. Примеры кулонометрического титрования.

Наибольшее распространение получили кулонометрические методы титрования генерированными окислителями и восстановителями (см. табл. 2.2.2.). Одним из примеров является кулонометрическое определение воды генерированным иодом. Преимущество кулонометрического метода перед обычным классическим заключается в определении малых концентраций (10^{-5} — 10^{-4} мас. %) с высокой точностью (относительная погрешность 0,01 — 0,02).

Кулонометрическое титрование во многих случаях позволяет осуществить определения, которые нельзя выполнить обычными



классическими методами. В качестве примера можно указать методики, в которых используют неустойчивые или с большим трудом получаемые титранты, такие как хлор, бром, ионы Cr(II) , Ag(II) , Cu(I) и др. Кроме того, при выполнении кулонометрического титрования не требуется приготовления стандартных растворов, в процессе анализа раствор не разбавляется, процесс может быть легко автоматизирован.

Титрант	Генераторная электродная реакция	Определяемое вещество
Cl_2	$2\text{Cl}^- - 2e^- = \text{Cl}_2$	Ионы As(III) , I^-
Br_2	$2\text{Br}^- - 2e^- = \text{Br}_2$	Фенол, анилин, 8-гидроксихинолин, гидразин, ионы As(III) , Sb(III) , U(IV) и др.
I_2	$2\text{I}^- - 2e^- = \text{I}_2$	H_2S , ионы $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, As(III) , Sb(III) , H_2O и др.
Ce(IV)	$\text{Ce}^{3+} - e^- = \text{Ce}^{4+}$	Ионы Sn(II) , Fe(II) , Ti(III) и др.
Ag(II)	$\text{Ag}^+ - e^- = \text{Ag}^{2+}$	Ионы Ce(III) , U(IV) и др.
Fe(II)	$\text{Fe}^{3+} + e^- = \text{Fe}^{2+}$	Ионы Cr(VI) , Mn(VII) , U(V) и др.
Ti(III)	$\text{TiO}^{2+} + 2\text{H}^+ + e^- = \text{Ti}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	Ионы Fe(II) , U(VI) и др.

Табл.2.2.2. Примеры кулонометрического титрования электрогенерированными окислителями и восстановителями.

2.3. Кондуктометрия

Кондуктометрия – это метод определения различных физико-химических величин, основанный на измерении электрической проводимости (электропроводности).



Электропроводность растворов электролитов

Электропроводностью называют способность растворов электролитов проводить электрический ток под действием внешнего электрического поля.

Количественно электропроводность представляет собой величину, обратную электрическому сопротивлению ($1/R$). Единицей электропроводности является сименс (См). Таким образом, $1 \text{ См} = 1 \text{ Ом}^{-1}$.

Для определения электропроводности используют кондуктометрическую ячейку – стеклянный сосуд без дна с двумя платиновыми электродами известной площади (S), укрепленными на фиксированном расстоянии друг от друга (L). Ячейку погружают в раствор электролита, как показано на рис. 7.

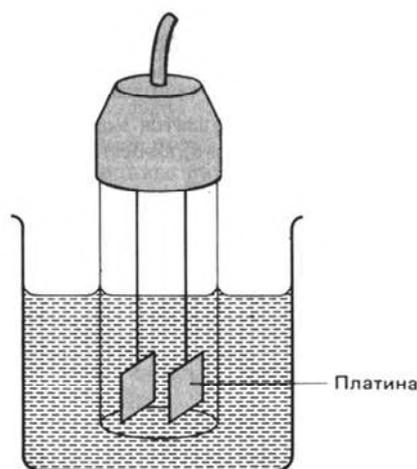


Рис. 7. Кондуктометрическая ячейка

Сопротивление кондуктометрической ячейки измеряют при помощи специального устройства – мостика Уитстона (рис. 7). Скользящий контакт перемещается по проволочному сопротив-

лению до тех пор, пока осциллограф не зарегистрирует минимальный сигнал. В этом положении контакта (точка X) сопротивление ячейки определяется соотношением:

$$R_{\text{я}} = \frac{BX \cdot R_p}{AX}$$

где R_p – сопротивление реостата.

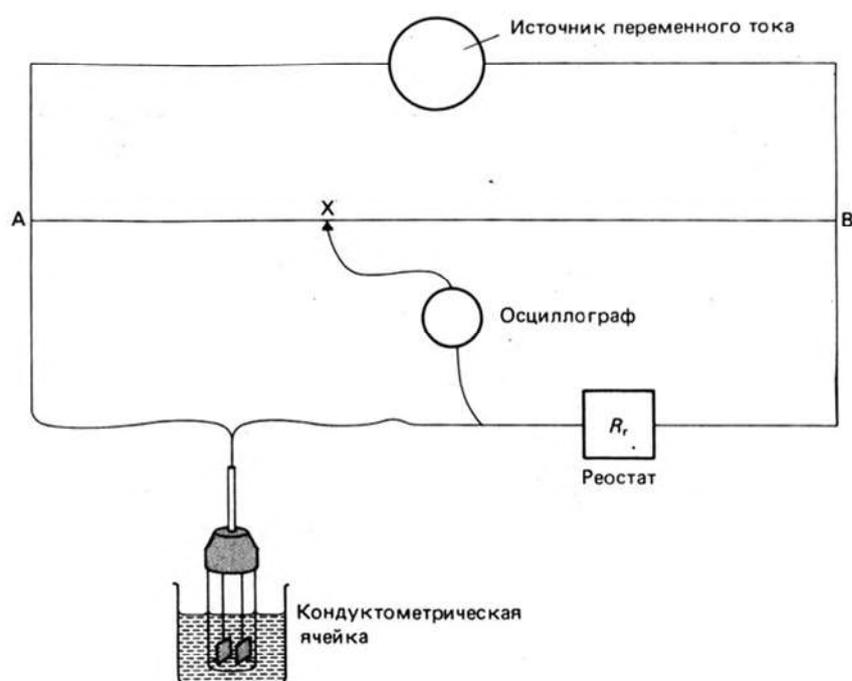


Рис. 8. Мостик Уитстона

После того, как найдено сопротивление ячейки, вычисляют электропроводность раствора. Для измерения электропроводности необходимо использовать высокочастотный источник переменного тока. Использование источника постоянного тока невозможно из-за того, что это вызовет электролиз раствора.

Отношение $\frac{L}{S}$ представляет собой постоянную величину, характерную для данной ячейки. Она называется постоянной или константой ячейки. Её можно определить, измеряя с помощью данной ячейки сопротивление какого-либо раствора с известной электролитической проводимостью.

Различают удельную и молярную электропроводность.

Удельная электропроводность

Удельная является величиной, обратной удельному сопротивлению, и обозначается символом χ (каппа):

$$\chi = \frac{1}{\rho},$$

где ρ - удельное сопротивление (измеряется в единицах Ом·см).

Молярная электропроводность - это электрическая проводимость плоского слоя раствора электролита толщиной 1 см, содержащего 1 моль растворённого вещества (эта величина обозначается греческой буквой λ). Зная удельную электропроводность, можно рассчитать молярную электропроводность по формуле:

$$\lambda = \frac{1000 \cdot \chi}{C}$$

где C – молярная концентрация раствора, моль·л⁻¹; χ - удельная электропроводность Ом⁻¹·см⁻¹.



Молярная электропроводность как сильных, так и слабых электролитов возрастает с увеличением разведения, т.е. с уменьшением концентрации, и достигает некоторого предельного значения. Это объясняется тем, что у слабых электролитов по мере разбавления растет степень диссоциации, т.е. увеличивается число ионов; у сильных электролитов увеличивается расстояние между ионами, ослабляются силы взаимного притяжения между ними и, следовательно, увеличиваются скорости движения ионов.

Электропроводность бесконечно разбавленных растворов, для которых достигается максимальное значение молярной электропроводности, называется молярной электропроводностью при бесконечном разведении (Λ_{∞}).

Удельная и молярная электропроводность растворов электролитов повышается с увеличением температуры за счет понижения вязкости раствора и уменьшения степени гидратации ионов. В водных растворах повышение составляет 2-2,5% на градус.

Значения предельных молярных проводимостей различных ионов в водных растворах находятся в интервале 30÷160 $\text{См}\cdot\text{см}^2/\text{моль}$. Лишь ионы H^+ и OH^- обладают более высокими значениями предельной проводимости: 349,8 и 199,2 $\text{См}\cdot\text{см}^2/\text{моль}$ соответственно.



Закон Кольрауша:

Предельная молярная электрическая проводимость данного электролита равна сумме предельных молярных проводимостей ионов, входящих в его состав.

Если электролит $K_t A_n$ диссоциирует по уравнению:



то согласно закону Кольрауша:

$$\lambda^{\circ}(K_t A_n) = n \cdot \lambda^{\circ}(K_t^{m+}) + m \cdot \lambda^{\circ}(A_n^{n-})$$

Экспериментальное определение величины молярной проводимости раствора позволяет рассчитать отношение λ/λ° , которое для сильных электролитов представляет собой коэффициент активности, а для слабых электролитов – степень диссоциации. По степени диссоциации можно затем рассчитать константу диссоциации:

– для сильных электролитов коэффициент электрической проводимости: $f_{эл} = \lambda/\lambda^{\circ}$;

– для слабых электролитов степень диссоциации $\alpha = \lambda/\lambda^{\circ}$ и константу диссоциации:

$$K = \frac{\alpha^2 \cdot C}{1 - \alpha} = \frac{(\lambda/\lambda^{\circ})^2 \cdot C}{1 - \lambda/\lambda^{\circ}}$$

Скорость перемещения иона v под действием электрического поля в направлении соответствующего электрода зависит от действующей на него силы, т.е. напряжённости электрического поля



E , и от способности иона преодолевать сопротивление среды, которая характеризуется его подвижностью u :

$$v = u \cdot E$$

где v – скорость движения иона, м/с; E – напряжённость электрического поля, В/м; u – подвижность иона, м²/(В·с).

Скорость направленного перемещения ионов зависит от различных факторов, в частности, от природы ионов и растворителя, температуры раствора, концентрации ионов данного вида и посторонних ионов.

В очень разбавленных растворах подвижность любого вида ионов достигает максимального значения, которое называется предельной подвижностью.

Предельной подвижностью иона u^0 называется средняя скорость его направленного движения в бесконечно разбавленном растворе в однородном электрическом поле напряжённостью 1 В/м. Она измеряется в м²/(В·с).

Её величина используется для сравнительной оценки скорости перемещения различных ионов.



Таблица 2. Предельная подвижность некоторых ионов и предельная молярная проводимость в водных растворах при 25°C.

Катион	$u_{+}^{\circ} \cdot 10^8,$ м ² /(В·с)	$\lambda_{+}^{\circ},$ См·см ² /моль	Анион	$u_{-}^{\circ} \cdot 10^8,$ м ² /(В·с)	$\lambda_{-}^{\circ},$ См·см ² /моль
H ⁺ (H ₃ O ⁺)	36,3	349,8	ОН ⁻	20,6	199,2
Li ⁺	4,0	38,7	F ⁻	5,7	55,4
Na ⁺	5,2	50,3	Cl ⁻	7,9	76,3
K ⁺	7,6	73,5	I ⁻	8,0	76,9
Rb ⁺	8,0	77,5	NO ₃ ⁻	7,4	71,5
Cs ⁺	8,0	77,2	CH ₃ COO ⁻	4,2	40,9
NH ₄ ⁺	7,6	73,7	HCO ₃ ⁻	4,6	44,5
Mg ²⁺	5,5	106,1	CO ₃ ²⁻	7,2	138,6
Ca ²⁺	6,2	119,0	H ₂ PO ₄ ⁻	3,7	36,0
Fe ²⁺	5,5	107,0	HPO ₄ ²⁻	6,8	114,0
Fe ³⁺	7,0	204,0	SO ₄ ²⁻	8,3	159,6

Кондуктометрические методы анализа применяются для аналитического контроля растворов на фармацевтических производствах, для оценки содержания солей в поверхностных и подземных водах, для контроля очистки и качества воды, определения загрязнённости сточных вод.



В медицине кондуктометрия применяется, например, при диагностике нарушений водно-солевого обмена.

Кондуктометрические методы имеют определённые преимущества перед другими методами анализа. Они позволяют:

- 1) проводить определения в мутных и окрашенных растворах, а также в присутствии окислителей и восстановителей, ограничивающих применение органических индикаторов;
- 2) анализировать не только концентрированные растворы, но и разбавленные до 10^{-4} моль/л;
- 3) проводить исследование не только водных, но и неводных, а также смешанных водно-органических растворов;
- 4) широко использовать разнообразные типы реакций: нейтрализации, осаждения, комплексообразования, окисления-восстановления, присоединения, замещения, омыления и т.д., сопровождающиеся изменением электропроводности исследуемых растворов;
- 5) во многих случаях избегать предварительного отделения примесей, обычно мешающих определению другими методами.

Кондуктометрическое титрование

Электропроводность раствора может служить индикаторным свойством при проведении объёмного анализа. Так, например, содержание вещества в растворе может быть определено по



изменению электропроводности в процессе добавления к раствору соответствующего реагента.

Об эквивалентной точке титрования судят по изменению характера зависимости электропроводности раствора от объёма добавляемого титранта. Точку эквивалентности определяют по резкому излому кривой титрования (пересечению двух прямых), отражающему изменение электропроводности исследуемого раствора по мере прибавления титранта в процессе титрования. Такой метод анализа называется кондуктометрическим титрованием. Метод особенно удобен при анализе мутных или окрашенных растворов, когда нельзя использовать обычные индикаторы.

Факторами, влияющими на электропроводность исследуемого раствора при титровании, являются изменение концентрации ионов и их подвижности.

Рассмотрим вид этих кривых применительно к кислотно-основному титрованию.

Титрование сильной кислоты сильным основанием

При титровании сильной кислоты, например HCl, сильным основанием, например раствором NaOH, в растворе в любой момент находятся ионы H^+ , Cl^- , Na^+ и OH^- , а электрическая проводимость будет определяться их концентрациями и подвижностями.



Изменение электропроводности до точки эквивалентности (рис. 9) будет определяться действием двух взаимно противоположных тенденций: понижающей за счет уменьшения концентрации ионов водорода и возрастающей за счет увеличения концентрации ионов натрия.

Результирующая этих вкладов приводит к резкому уменьшению электропроводности до точки эквивалентности. Таким образом, падение проводимости вызывается уменьшением концентрации иона H^+ , имеющего намного большую подвижность, по сравнению с ионом Na^+ . В момент полной нейтрализации в растворе остаются только ионы Na^+ и Cl^- .

После точки эквивалентности начинается резкий подъем электропроводности, так как в растворе нарастает, в частности, концентрация ионов OH^- , с более высокой подвижностью по сравнению с ионом Na^+ , хотя и не такой высокой, как у H^+ .

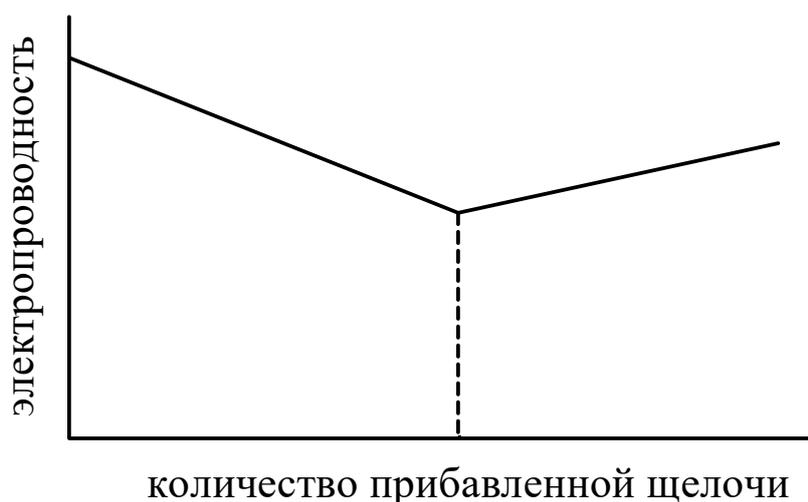


Рис. 9. Кривая кондуктометрического титрования сильной кислоты сильным основанием



Титрование слабой кислоты сильным основанием

Если кислота слабая, то электропроводность исходного раствора мала, так как ионов H^+ мало. По мере добавления раствора сильного основания (рис. 10) электропроводность, в отличие от предыдущего случая, сразу же увеличивается из-за накопления ионов соли, так как соль диссоциирует полностью. После достижения точки эквивалентности электропроводность растет за счет увеличения концентрации ионов Na^+ и ионов OH^- с высокой подвижностью.

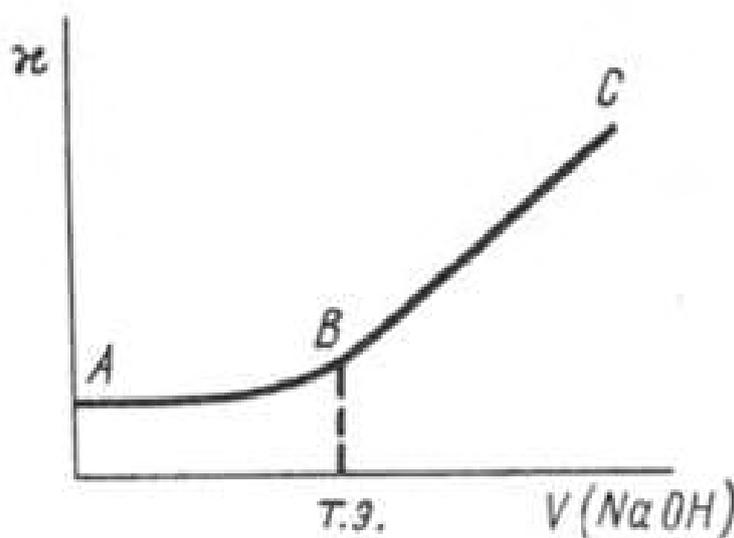


Рис.10. Кривая кондуктометрического титрования слабой кислоты сильным основанием

Вопросы для самоконтроля

1. Что такое электрическая проводимость? Ее связь с электрическим сопротивлением раствора.

2. Удельная и молярная электрические проводимости, их взаимосвязь. Какие факторы влияют на их величину?
3. Зависимость удельной и молярной проводимостей от концентрации раствора.
4. Приготовлены растворы азотной кислоты и азотистой кислоты с одинаковой молярной концентрацией. У какого раствора молярная проводимость больше?
5. Сформулируйте закон Кольрауша. Сравните значения предельных проводимостей растворов сульфата калия и нитрата кальция.
6. Какие величины, характеризующие диссоциацию молекул электролита в растворе, можно рассчитать, сравнивая значения молярной и предельной молярной проводимостей электролита?
7. Как можно использовать знания об электрической проводимости биологических объектов для диагностики заболеваний?
8. Сущность кондуктометрического метода анализа. Какое применение находят прямая кондуктометрия и кондуктометрическое титрование? В чем их достоинства и недостатки?
9. Как изменяется электрическая проводимость раствора в процессе титрования гидроксида калия соляной кислотой? смеси гидроксида калия и аммиака соляной кислотой?



Эталонные решения задач

1. В кондуктометрическую ячейку с электродами площадью $2,25 \text{ см}^2$, расположенными на расстоянии 4 см друг от друга, помещен раствор хлорида калия с концентрацией 0,01 моль/л. Измеренное при температуре 25°C сопротивление раствора составило 1259,56 Ом. Рассчитать удельную и молярную электрические проводимости раствора и коэффициент электрической проводимости хлорида калия.

Решение. Согласно закону Ома

$$R = \frac{\rho l}{S}$$

Следовательно, удельное сопротивление раствора составляет:

$$\rho = \frac{R S}{l} = \frac{1259,56 \text{ Ом} \cdot 2,25 \text{ см}^2}{4 \text{ см}} = 708,5 \text{ Ом} \cdot \text{см}$$

Удельная проводимость раствора - величина, обратная удельному сопротивлению:

$$\chi = \frac{1}{\rho} = \frac{1}{708,5 \text{ Ом} \cdot \text{см}} = 0,001411 \text{ См/см}$$

Рассчитаем молярную проводимость раствора:

$$\lambda = \frac{1000 \chi}{C} = \frac{1000 \cdot 0,001411 \text{ См/см}}{0,01 \text{ моль/л}} = 141,1 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}$$

По таблице 1 определяем предельные молярные проводимости ионов. Они составляют: для K^+ 73,5 $\text{См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}$ и для Cl^-



76,3 См·см²/моль. Согласно закону Кольрауша, предельная молярная проводимость хлорида калия представляет собой сумму этих величин:

$$\lambda^{\circ}(\text{KCl}) = \lambda^{\circ}(\text{K}^{+}) + \lambda^{\circ}(\text{Cl}^{-}) = 73,5 + 76,3 = 149,8 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}$$

Отношение молярной проводимости к ее предельному значению - коэффициент электрической проводимости:

$$f_{\text{эл}} = \lambda/\lambda^{\circ} = 141,1 : 149,8 = 0,94$$

2. Удельная электрическая проводимость раствора уксусной кислоты с концентрацией 10 % (плотность 1,06 г/мл) при температуре 25 °С составляет 1,1707 См/м. Вычислить молярную электрическую проводимость раствора и степень диссоциации уксусной кислоты.

Решение. Рассчитаем молярную концентрацию уксусной кислоты в растворе.

$$\omega = \frac{m \cdot 100}{V \cdot \rho} \qquad C = \frac{m \cdot 1000}{V \cdot M}$$

откуда

$$m = \frac{\omega \cdot V \cdot \rho}{100} = \frac{C \cdot V \cdot M}{1000}$$

Поэтому молярная концентрация связана с массовой долей выражением:

$$C = \frac{10 \omega \cdot \rho}{M} = \frac{10 \cdot 10\% \cdot 1,06 \text{ г/мл}}{60 \text{ г/моль}} = 1,77 \text{ моль/л}$$

Вычислим молярную проводимость раствора:

$$\lambda = \frac{\chi}{1000C} = \frac{1,1707 \text{ См/см}}{1000 \cdot 1,77 \text{ моль/л}} = 141,1 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}$$



Предельные молярные проводимости ионов составляют: для H^+ 349,8 $\text{См}\cdot\text{см}^2/\text{моль}$ и для $\text{СН}_3\text{СОО}^-$ 40,9 $\text{См}\cdot\text{см}^2/\text{моль}$ (справочные величины). Согласно закону Кольрауша, предельная молярная проводимость хлорида калия представляет собой сумму этих величин:

$$\lambda^\circ(\text{СН}_3\text{СООН}) = \lambda^\circ(\text{H}^+) + \lambda^\circ(\text{СН}_3\text{СОО}^-) = 349,8 + 40,9 = 390,7 \text{ См}\cdot\text{см}^2/\text{моль}$$

Определяем степень диссоциации уксусной кислоты в растворе:

$$\alpha = \lambda/\lambda^\circ = 6,61 : 390,7 = 0,017 = 1,7\%$$

3. Как изменится степень диссоциации аммиака в растворе с удельной электрической проводимостью 0,0066 $\text{См}/\text{м}$ при разбавлении этого раствора в 5 раз, если его удельная проводимость снизилась до 0,0028 $\text{См}/\text{м}$?

Решение. Степени диссоциации аммиака в каждом растворе определяются соотношением молярных проводимостей растворов и их предельных значений при бесконечном разведении:

$$\alpha_1 = \lambda_1/\lambda^\circ \qquad \alpha_2 = \lambda_2/\lambda^\circ$$

Отношение степеней диссоциации старого и нового растворов:

$$\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = \frac{\lambda_1 \cdot \lambda^\circ}{\lambda_2 \cdot \lambda^\circ} = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} = \frac{\chi_1 \cdot 1000 \cdot C_2}{1000 \cdot C_1 \cdot \chi_2} = \frac{\chi_1 \cdot C_2}{\chi_2 \cdot C_1}$$

Поскольку $C_1 = 5C_2$, получаем:

$$\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = \frac{\chi_1}{\chi_2 \cdot 5} = \frac{0,0066 \text{ См}/\text{м}}{0,0028 \text{ См}/\text{м} \cdot 5} = \frac{1}{2,12}$$

Степень диссоциации аммиака уменьшится в 2,12 раза.

4. Рассчитать pH раствора уксусной кислоты, в котором удельная электрическая проводимость при температуре 25 $^\circ\text{C}$ составляет 0,1526 $\text{См}/\text{м}$.



Решение. Молярная проводимость раствора уксусной кислоты связана с его удельной проводимостью уравнением:

$$\lambda = \frac{\chi}{1000C}$$

Степень диссоциации определяется как соотношение молярной проводимости раствора слабого электролита и предельной молярной проводимости его бесконечно разбавленного раствора:

$$\alpha = \frac{\lambda}{\lambda^{\circ}} = \frac{\chi}{1000C \cdot \lambda^{\circ}}$$

Концентрация ионов водорода может быть рассчитана с учетом степени диссоциации кислоты:

$$[\text{H}^+] = \alpha \cdot C = \frac{\chi \cdot C}{1000C \cdot \lambda^{\circ}} = \frac{\chi}{1000 \lambda^{\circ}}$$

Вычислим концентрацию ионов водорода в растворе, принимая предельную электрическую проводимость уксусной кислоты равной $390,7 \text{ См} \cdot \text{м}^2/\text{моль}$.

$$[\text{H}^+] = \frac{0,1526 \text{ См/м}}{1000 \cdot 390,7 \text{ См} \cdot \text{м}^2/\text{моль}} = 3,9 \cdot 10^{-7} \text{ моль/л}$$

Таким образом, pH раствора уксусной кислоты:

$$\text{pH} = -\lg [\text{H}^+] = -\lg 3,9 \cdot 10^{-7} = 6,41$$

5. Вычислить константу диссоциации пропионовой кислоты и ее степень диссоциации в растворе с концентрацией 0,1 моль/л, если удельная электрическая проводимость этого раствора при температуре 25 °C составляет 0,0463 См/м. Предельная молярная проводимость пропионат-анионов 35,8 См·см²/моль.

Решение. Рассчитаем молярную проводимость раствора:

$$\lambda = \frac{\chi}{1000C} = \frac{0,0463 \text{ См/м}}{1000 \cdot 0,1 \text{ моль/л}} = 0,000463 \text{ См} \cdot \text{м}^2/\text{моль} =$$



$$= 4,63 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}.$$

Предельную молярную электрическую проводимость пропионовой кислоты рассчитываем по закону Кольрауша с учетом предельной молярной проводимости иона $\text{H}^+ = 349,8 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}$:

$$\begin{aligned} \lambda^o (\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}) &= \lambda^o(\text{H}^+) + \lambda^o(\text{C}_2\text{H}_5\text{COO}^-) = 349,8 + 35,8 = \\ &= 385,6 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль} \end{aligned}$$

Определяем степень диссоциации пропионовой кислоты:

$$\alpha = \lambda/\lambda^o = 4,63 : 385,6 = 0,012 = 1,2\%$$

Вычисляем константу диссоциации пропионовой кислоты по закону разведения Оствальда:

$$K_a = \frac{\alpha^2 C}{1 - \alpha} = \frac{(0,012)^2 \cdot 0,1}{1 - 0,012} = 1,46 \cdot 10^{-5}$$

Задачи для самостоятельного решения

1. Вычислить удельную электрическую проводимость раствора, помещенного в кондуктометрическую ячейку с электродами площадью 2 см^2 , расположенными на расстоянии 4 см друг от друга, если сопротивление раствора составило 120 Ом

2. Вычислить удельную электрическую проводимость раствора гидроксида натрия с концентрацией $0,05 \text{ моль/л}$, если его коэффициент электрической проводимости составляет $0,818$.

3. Вычислить удельную электрическую проводимость $0,6\%$ раствора уксусной кислоты при температуре 25°C . Плотность раствора принять равной 1 г/мл ; степень диссоциации $1,3\%$.

4. Вычислить молярную электрическую проводимость раствора азотной кислоты с концентрацией $0,05 \text{ моль/л}$, если его удельная проводимость составляет $1,785 \text{ См/м}$.



5. Вычислить удельную электрическую проводимость раствора гидроксида кальция с концентрацией 0,0075 моль/л при температуре 25°C. Коэффициент электрической проводимости 0,9.

6. Вычислить рН раствора уксусной кислоты с удельной электрической проводимостью 0,1619 См/м.

7. Вычислить рН раствора гидроксида аммония с концентрацией 0,1 моль/л, если его удельная электрическая проводимость при температуре 25°C составляет 0,033 См/м.

8. Рассчитать рН раствора аммиака с удельной электрической проводимостью при температуре 25°C 0,0675 См/м.

9. У некоторой слабой кислоты с $pK_a = 4,73$ предельная молярная электрическая проводимость составляет 390,7 См·см²/моль при 25°C. Определить удельную проводимость раствора этого электролита с концентрацией 0,1 моль/л.

10. Предельная молярная проводимость формиат-анионов составляет 47 См·см²/моль. Вычислить константу диссоциации муравьиной кислоты и ее степень диссоциации в растворе с массовой долей 4,94% (плотность 1,012 г/мл), если удельная проводимость этого раствора 0,55 См/м.

11. Предельная молярная проводимость пропионат-анионов составляет 35,8 См·см²/моль. Вычислить константу диссоциации пропионовой кислоты и ее степень диссоциации в 1% растворе, если удельная проводимость этого раствора 0,0479 См/м. Плотность раствора принять равной 1 г/мл.

12. В одномолярном растворе уксусной кислоты степень диссоциации составляет 0,4%. Какова удельная проводимость этого раствора?



13. Вычислить степень диссоциации фтороводородной кислоты в растворе с молярной проводимостью $0,00277 \text{ См} \cdot \text{м}^2/\text{моль}$.

14. Вычислить константу диссоциации слабого основания, если удельная проводимость его раствора с концентрацией $0,0156 \text{ моль/л}$ составляет при температуре 25°C $0,0839 \text{ См/м}$. Предельная молярная проводимость этого основания $251,1 \text{ См} \cdot \text{см}^2/\text{моль}$.

15. Вычислить степень диссоциации фтороводородной кислоты в растворе с концентрацией $0,06 \text{ моль/л}$, если его удельная проводимость составляет $0,21 \text{ См/м}$.

16. Вычислить степень диссоциации уксусной кислоты в 1% растворе, если при температуре 25°C его удельная электрическая проводимость составила $0,06494 \text{ См/м}$. Плотность раствора принять равной 1 г/мл .

17. Вычислить степень диссоциации уксусной кислоты в растворе, молярная проводимость которого при температуре 25°C составляет $0,0001464 \text{ См} \cdot \text{м}^2/\text{моль}$.

18. Вычислить константу диссоциации угольной кислоты по первой ступени, если при температуре 25°C удельная электрическая проводимость ее раствора с молярной концентрацией $0,1 \text{ моль/л}$ составила $0,0067 \text{ См/м}$. Диссоциацией по второй ступени пренебречь.



2.4. ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

2.4.1. Общие принципы электрофореза

Электрофорез – есть движение заряженных коллоидных частиц в постоянном электрическом поле к противоположно заряженному электроду.

Частицы, в том числе и биологически значимые, находящиеся в растворе, которые имеют размер $10^{-9} - 10^{-7}$ м называют коллоидными частицами. Кроме того, белки и нуклеиновые кислоты содержат ионизирующиеся группы, поэтому в растворе они могут существовать в заряженной форме, в виде катионов или анионов. Молекулы, у которых близкие по величине заряды, но при этом различаются молекулярными массами, отличаются друг от друга отношением заряда к массе. На данных различиях основано разделение ионов при их движении в растворе в электрическом поле. В этом и состоит принцип электрофореза.

Суммарный электрический заряд белковой молекулы зависит от рН среды и соотношения радикалов аминокислот, облада-



ющих кислотными и основными свойствами. Кислотные свойства радикалов аминокислот обусловлены карбоксильными и сульфгидрильными группами, а также фенольными гидроксильными. Основные свойства возникают за счет наличия в радикалах аминокислот амина-, имино- и гуанидиновых групп. Таким образом, белки, являясь амфотерными электролитами, могут диссоциировать как кислоты или как основания. Преобладание одного из этих процессов зависит от аминокислотного состава данного белка, а также от окружения, в котором находятся его молекулы, главным образом от рН среды. В кислой среде основные группы радикалов аминокислот протонированы, тогда как диссоциация кислотных групп подавлена, поэтому белки оказываются заряженными положительно. В щелочной среде, наоборот, основные группы не имеют заряда, а кислотные легко диссоциируют, вследствие чего в молекуле белка образуется избыток отрицательно заряженных групп и белок в целом имеет суммарный отрицательный заряд.

Скорость движения молекул в электрическом поле (электрофоретическая подвижность) возрастает с увеличением суммарного электрического заряда. Так как величина заряда зависит от рН раствора, то подвижность белковых молекул тем выше, чем больше рН раствора отличается от изоэлектрической точки самого белка.

На электрофоретическую подвижность белковых молекул влияют следующие факторы:



1. Форма и величина белковой молекулы

Молекулы одного размера, но разной формы, например, фибриллярные и глобулярные белки, обладают различной подвижностью в электрическом поле. Это обусловлено различиями в силе трения и электростатическом взаимодействии с окружающей средой. Чем крупнее молекула, тем меньше ее подвижность, так как при этом возрастает сила трения и электростатического взаимодействия крупных молекул по сравнению с молекулами меньших размеров. Кроме того, молекулы с близкими по величине зарядами, но различающимися молекулярными массами отличаются друг от друга отношением заряда к массе. Это также способствует разделению ионов при движении их в растворе под действием электрического поля.

2. Электрическое поле.

По закону Ома сила тока I (в амперах, А), напряжение V (в вольтах, В) и сопротивление R (в омах, Ом) связаны следующим соотношением: $I=V/R$. На разделение ионов в электрическом поле влияют все три фактора.

Сила тока. Так как ток в растворе между электролитами объясняется переносом ионов буферного раствора и образца, скорость их перемещения прямо пропорциональна силе тока. Длина пути, пройденного ионами, пропорциональна времени



пропускания тока. Следовательно, для максимальной воспроизводимости результатов сила тока в процессе электрофореза не должна меняться.

Напряжение. Электрофоретическая подвижность белковых молекул пропорциональна падению напряжения в поддерживающей (опорной) среде или градиенту потенциалов (приложенное напряжение, деленное на длину слоя носителя). Используются как низкие (100 – 600 В), так и высокие (600- 1000 В) напряжения. Высокие напряжения применяют в основном для разделения низкомолекулярных веществ.

Сопротивление. Подвижность молекул белка обратно пропорциональна сопротивлению, которое в свою очередь зависит от типа и размеров носителя и ионной силы буферного раствора. Сопротивление возрастает с увеличением слоя носителя и уменьшается при увеличении его ширины, а также с возрастанием концентрации ионов буферного раствора. В ходе электрофореза выделяется тепло, и сопротивление при этом уменьшается. Таким образом, при постоянном напряжении такое нагревание приводит к увеличению силы тока и испарению растворителя. Для обеспечения максимальной воспроизводимости результатов применяют стабилизированные источники питания, которые автоматически поддерживают на постоянном уровне либо силу тока, либо напряжение, несмотря на неизбежные из-



менения сопротивления. Испарение сводят до минимума, накрывая прибор для электрофореза крышкой и проводя разделение веществ при температуре + 4 °С.

3. Характер буферного раствора и его ионная сила

Буфер создает и стабилизирует рН раствора, а также самым различным образом влияет на скорость движения разделяемых веществ. В качестве буферных растворов для электрофоретического разделения белковых молекул используют практически все буферные системы, применяемые для экстракции белков. Так, например, широко применяют трисглициновый, трис-цитратный буферы и др. Они обеспечивают широкий выбор диапазонов рН, ионной силы и подвижности катионов и анионов буферной системы, что обуславливает разделение белков без изменения их растворимости, химических свойств и биологической активности.

С увеличением ионной силы буферного раствора скорость движения образца уменьшается. При высокой ионной силе буфера суммарный ток, обусловленный переносом ионов буферного раствора и образца, увеличивается, и, следовательно, возрастает количество выделяемого тепла.

При низкой ионной силе ток, обусловленный переносом ионов буферного раствора, уменьшается, а доля, приходящаяся на ток за счет ионов образца, возрастает. При этом подвижность образца увеличивается. В буферном растворе с низкой ионной



силой общая сила тока и выделение тепла уменьшаются, но диффузия возрастает, поэтому разрешающая способность становится меньше, чем при высокой ионной силе. Таким образом, при выборе ионной силы приходится рассматривать различные факторы в данном конкретном случае. Применяющиеся обычно буферные растворы имеют ионные силы в интервале концентраций от 0,005 до 0,10 моль/л.

4. Природа носителя

Чаще всего в качестве носителей используют относительно инертные вещества, но их состав все же оказывает некоторое влияние на подвижность разделяемых веществ, поэтому выбор носителя зависит от природы образца.

Существует три основных типа электрофоретических систем:

- 1) электрофорез с подвижной границей (метод подвижной границы) без каких-либо опорных сред;
- 2) зональный (в основном с использованием опорных сред);
- 3) стационарный (или вытесняющий) электрофорез.

В системах первого типа электрическое поле прикладывается к исходно резкой границе между раствором макромолекул и буферным раствором. Скорость движения заряженных частиц определяется наблюдением за перемещением этой границы. Если раствор содержит гетерогенную смесь ионизированных макромолекул, то можно увидеть множество движущихся ча-



стиц. В такой системе индивидуальные компоненты нельзя разделить на отдельные зоны, так как наслоенный сверху буферный раствор имеет более низкую плотность по сравнению с находящимся под ним раствором молекул. Если бы и удалось достигнуть разделения зон, то все равно произошло бы их перемешивание, так как плотность раствора внутри этих зон была бы выше, чем между ними. Электрофорез по методу подвижной границы нашел применение преимущественно при исследовании белков, в частности, свойств отдельных белков, анализе белковых смесей, оценке гетерогенности препаратов различных белков, изучению взаимодействий между белками и низкомолекулярными веществами, а также белков между собой. В настоящее время метод подвижной границы редко применяют в повседневной лабораторной практике, поскольку существуют более удобные методики, не требующие такой сложной и дорогостоящей аппаратуры, как данный метод.

В случае зонального электрофореза смешивание разделенных зон предотвращено. В основном это достигается путем применения опорных, поддерживающих сред, таких как фильтровальная или хроматографическая бумага, пленки из ацетата целлюлозы или различные гели (например, крахмальный, агаровый, полиакриламидный). Все перечисленные вещества образуют капиллярную структуру. Выбор опорной среды определяется конкретными условиями анализа. При использовании зонального



электрофореза общая особенность состоит в том, что разделяемые вещества движутся в виде отчетливых зон, которые легко обнаружить соответствующим аналитическим методом.

Оборудование, необходимое для зонального электрофореза, состоит из двух частей: источника питания и собственно электрофоретического блока. Источник питания генерирует стабилизированный постоянный ток и имеет системы контроля напряжения и силы тока на выходе. Для работы с низким напряжением применяют источники питания с выходным напряжением до 600 В и силой тока до 150 мА. В электрофоретический блок входят электроды (угольные или платиновые), буферные камеры, опора для носителя и прозрачная изолирующая крышка.

Таким образом, преимущество зонального электрофореза в сравнении с методом подвижной границы заключается в следующем:

- 1) приборы для зонального электрофореза имеют простое устройство;
- 2) необходимое количество исследуемого материала весьма мало;
- 3) разделяемые вещества движутся в виде отчетливых зон, которые можно фиксировать в поддерживающей среде и выявлять с помощью специфического окрашивания;
- 4) разделение белковых фракций происходит довольно быстро;



5) зональный электрофорез применяется как в аналитических, так и в препаративных целях.

Стационарный (или вытесняющий) электрофорез характеризуется тем, что через некоторое время после начала разделения зон устанавливается состояние равновесия, при котором ширина зон в дальнейшем не изменяется. К электрофорезу такого типа относятся два метода: изоэлектрическое фокусирование и изотахофорез.

2.4.2. Электрофорез на бумаге и ацетате целлюлозы

Данный метод стал широко применяться для разделения смесей макромолекул с 1950 года. Он фактически открыл путь для обширных аналитических исследований во многих отраслях биологии. К настоящему времени значение его снизилось в связи с использованием других сред, более подходящих для зонального электрофореза.

Электрофорез на бумаге – самый простой из электрофоретических методов. Носителем служит, как правило, специальная хроматографическая бумага, которая не требует никакой подготовки: ее просто нужно разрезать на куски требуемого размера. В зависимости от типа прибора и условий опыта электрофорез на бумаге длится от 4 до 16 часов. После электрофореза белки фиксируют высушиванием, а затем красят красителями, специфичными для данного белка. Окрашенные полосы белковых



фракций можно хранить или, разрезав на участки, элюировать для фотометрического определения каждой фракции. При электрофорезе на бумаге белков сыворотки крови удастся получить до 5 фракций.

Бумага не является абсолютно инертным носителем и может адсорбировать некоторые вещества (это нежелательное ее свойство удастся устранить при использовании ацетата целлюлозы). Кроме того, при электрофорезе на бумаге вследствие особенностей ее химического состава в той или иной степени проявляется электроэндоосмос (то есть возникновение заряда между молекулами буферного раствора и поверхностью носителя), что резко снижает разрешающую способность метода.

Электроэндоосмос менее заметен в носителе из ацетата целлюлозы, к тому же ацетат целлюлозы менее гидрофилен, чем бумага, поэтому он удерживает меньшее количество буферного раствора. Пленки из ацетата целлюлозы в качестве поддерживающей среды для электрофореза были предложены в 1957 году и с тех пор нашли широкое применение. Они несколько дороже хроматографической бумаги. Во многих случаях это препятствует их применению вместо бумаги при электрофорезе. Данный метод целесообразно применять для разделения малых количеств веществ. Электрофорез на ацетате целлюлозы обладает более высокой разрешающей способностью по сравнению с электрофорезом на бумаге.



В 60-е годы предложена модифицированная поддерживающая среда - желатинизированный ацетат целлюлозы, получивший название целлогеля.

2.4.3. Электрофорез в гелях

В этом методе в качестве опорной среды используют крахмальный, агаровый, полиакриламидный гели.

Характерной особенностью данной разновидности зонального электрофореза является высокая разрешающая способность. Гели являются не только поддерживающей средой, они функционируют как молекулярные сита. Принцип действия молекулярного сита состоит в том, что крупные молекулы двигаются через него тем медленнее, чем меньше размер пор в геле. Гель-электрофорез подходит для разделения смесей веществ, имеющих одинаковые заряды, но немного различающихся по массе.

Электрофорез в крахмальном геле был первым электрофоретическим методом, в котором для улучшения разделения веществ была использована среда, обладающая свойствами молекулярного сита. Этот метод был предложен в 1955 году. Крахмал - это нерастворимый в воде полисахарид. В нативном состоянии он связывает некоторое количество воды и набухает, но не способен превратиться в жидкость при повышении температуры. Путем частичного кислотного гидролиза крахмал может быть превращен в форму, представляющую собой жидкий золь при



температуре выше 70°C и твердый гидрогель при комнатной температуре. Для электрофореза вполне подходит картофельный крахмал. Размер пор в геле определяется концентрацией крахмала и степенью его гидролиза. Наибольшее применение крахмальные гели нашли при разделении сложных смесей структурных и физиологически активных белков. Так, при разделении белков сыворотки крови удается получить 20 – 30 полос.

Агар, используемый в качестве носителя при электрофорезе, выделяют из клеточных мембран различных водорослей. Чистота и химический состав отдельных препаратов значительно различаются в зависимости от источника получения и способа очистки. Точная структура агара неизвестна. Вероятно, он содержит, по крайней мере, два полисахарида, а именно агарозу и агаропектин. Агар растворяется в водных растворах при нагревании на кипящей водяной бане, при 38°C он застывает. Агаровый гель механически прочен. После высушивания он превращается в прозрачную пленку, которую удобно фотометрировать оптическими методами и легко хранить. Кроме того, агар является и нетоксичным материалом. Агар, и особенно агароза широко используются в биохимии в качестве поддерживающей среды при электрофорезе, в основном для исследования макромолекул. Агаровый гель содержит большое количество воды (концентрация агарозы и агаропектина в геле всего 1%), вследствие чего



ионы в процессе электрофореза движутся очень быстро. Благодаря этому свойству агар очень удобен для разделения и обнаружения антигенов методом иммуноэлектрофореза.

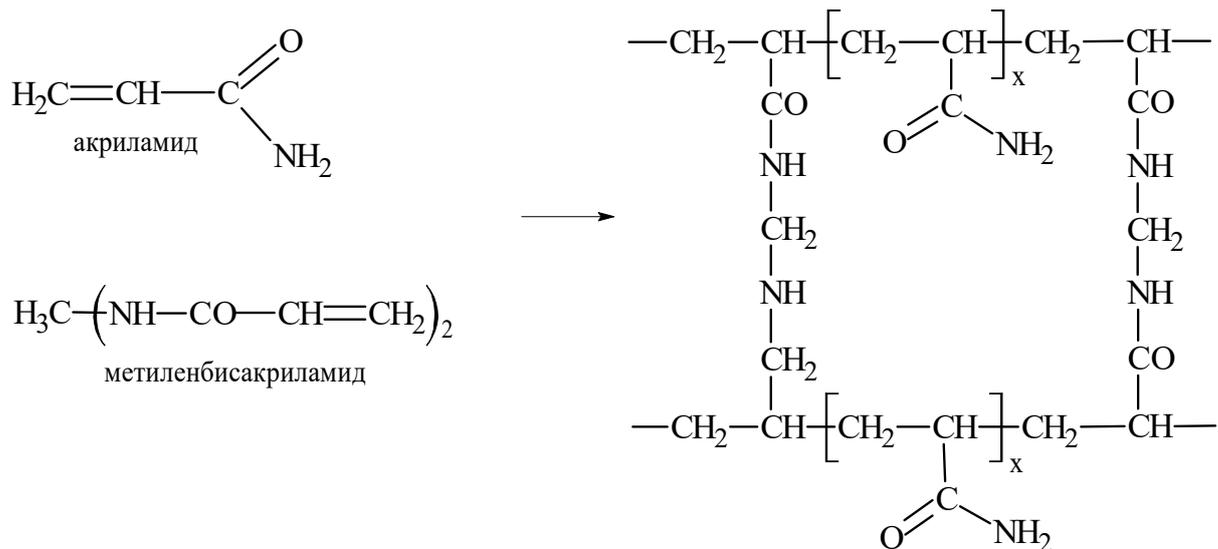
Общими недостатками рассмотренных вариантов гельэлектрофореза являются наличие электроэндоосмоса (хотя и меньшего, чем на бумаге) и нестандартность материалов, используемых для приготовления гелей.

Самым перспективным из перечисленных выше гелей является полиакриламидный гель (ПААГ). Полиакриламидные гели введены в биологическую практику в 1959 году Раймондом. Они лишены недостатков, характерных для крахмального и агарового гелей.

Электрофорез в ПААГе в настоящее время является самым эффективным из существующих методов и широко используется в различных областях биологии. Этот метод обладает большей разрешающей способностью по сравнению с методами, где используются другие гели. Полиакриламидный гель прозрачен, обладает значительной механической прочностью, однороден по составу, химически инертен. Размер пор у ПААГа можно варьировать в широких пределах, его можно применять с самыми различными буферами, удобно использовать для количественного определения разделяемых веществ.

Полиакриламидный гель получают непосредственно перед работой полимеризацией акриламида и метиленбисакриламида.





При этом возникает полимер сетчатой структуры, в котором линейные участки из акриламида “сшиваются” поперечными мостиками из метиленбисакриламида. Чем больше концентрация метиленбисакриламида, тем более плотной получается сетчатая структура геля. Полимеризацию проводят в присутствии тетраметилэтилендиамина (ТЕМЭДа) в качестве инициатора и персульфата аммония или калия как катализатора. Изменяя соотношение мономеров, можно регулировать величину ячеек получаемого полимера трехмерной структуры. Концентрация мономера от двух до 30% дает возможность получать гели пористостью от 40 до 0,1 нм. Полиакриламидный гель дает возможность исследовать растворы разной концентрации и в небольших объемах (до 0,001 мл), использовать охлаждение и проводить разделение очень быстро – в течение 60 – 70 минут.



При разделении макромолекул на полиакриламидном геле адсорбция и электроосмос малы. Полиакриламидный гель не поглощает ультрафиолетовый свет при 270 нм, и, следовательно, местоположение белков после разделения можно определить по поглощению при этой длине волны. После разделения молекул их можно окрашивать и определять количество вещества с помощью денситометра – прибора, измеряющего оптическую плотность.

Вариантов проведения электрофореза в полиакриламидном геле много (вертикальный и горизонтальный, в трубках и на пластинах). Чаще других используют метод вертикального электрофореза. В нем сочетаются две системы полиакриламидных гелей: крупнопористая (верхний гель) и мелкопористая (нижний гель). В верхнем геле происходит отделение клеточного материала и уплотнение белков. В нижнем геле происходит разделение белков.

2.4.4. Диск-электрофорез

Электрофорез в ПААГе часто называют диск-электрофорезом. Это название происходит от двух английских слов – discontinuity, обозначающего в данном случае неоднородность электрофоретической среды, и discoid – дискообразный. Связано это с тем, что при стандартных условиях проведения опыта разделенные зоны имеют форму дисков.



Для диск-электрофореза характерны скачкообразные изменения рН, концентрации геля и градиента напряжения. Как известно, нижняя часть трубки заполнена разделяющим гелем с порами, которые действуют как молекулярное сито по отношению к разделяемым молекулам. Над разделяющим гелем имеется концентрирующий гель, имеющий крупные поры и поэтому не обладающий свойствами молекулярного сита, а еще выше располагается стартовый гель, содержащий пробу и краситель, использующийся в качестве свидетеля. Смысл диск-электрофореза состоит в создании очень узкой стартовой зоны, которая обеспечивает высокую разрешающую способность. Достигается это тем, что в состав как электродного буфера, так и буфера концентрирующего геля входит слабое аминное основание - трис, но в электродный буфер к трису прибавлена слабая кислота глицин (трисглициновый буфер, рН = 8,3), а концентрирующий гель содержит соляную кислоту, что дает буферную систему трис-НСl, рН = 6,7 (рис. 6.1.).

Глицин при рН = 8,3 находится в виде биполярного иона, и только 5% приходится на долю глицинатного аниона. В электрическом поле глицинатные ионы, движущиеся из верхнего резервуара в концентрирующий гель, имеют гораздо меньшую подвижность, чем ионы хлора, и, следовательно, «тянутся» позади них. В среде верхнего геля при рН=6,7 подвижность глицинатных ионов становится еще меньше, так как в результате допол-



нительного протонирования увеличивается количество биполярных ионов (изоэлектрическая точка глицина). Ионы хлора, наоборот, продвигаются очень быстро, и между этими двумя разновидностями ионов возникает граница раздела. Так как и ионы хлора, и глицинатные ионы представляют собой часть одной и той же электрической системы, то в области локализации менее подвижных глицинатных ионов напряжение увеличивается, а в области более подвижных ионов хлора – уменьшается. Следовательно, замыкающие ионы будут стремиться догнать ведущие, а белковые анионы, промежуточные по подвижности, будут располагаться между первыми и вторыми ионами. В итоге происходит концентрирование белковых анионов позади ведущих ионов. Образуется чрезвычайно узкая белковая полоса, которая подходит к разделяющему гелю вслед за ионами хлора.

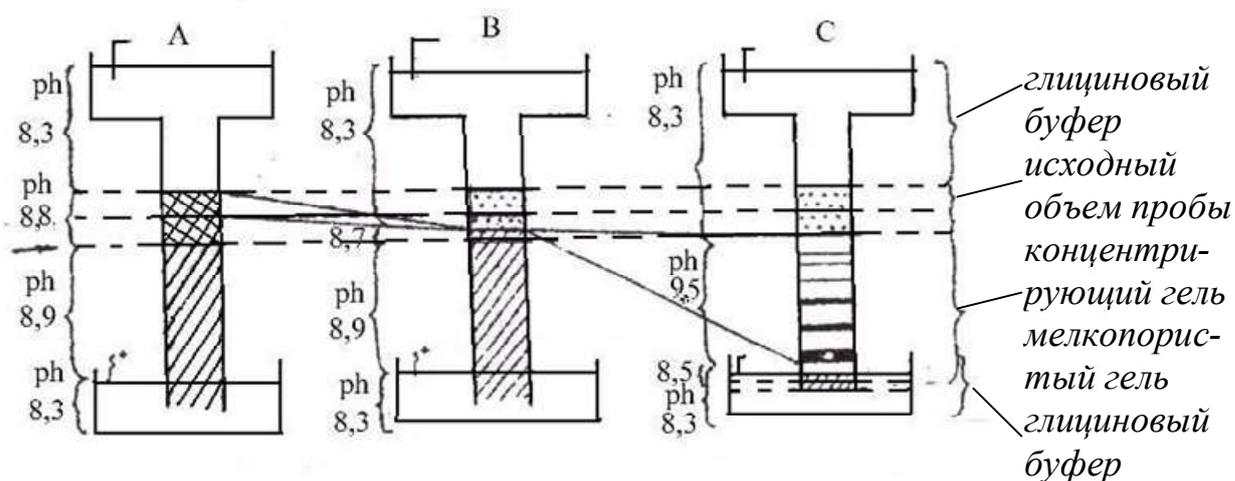


Рис. 6.1. Разделение белков с помощью диск-электрофореза

Когда замыкающие глицинатные ионы доходят до нижнего геля, их число и подвижность увеличиваются, поскольку значение $pH = 9,5$ приближается к pK_a глицина. Теперь подвижность глицинатных ионов становится выше, чем у белковых анионов, подвижность которых замедляется в разделительном геле вследствие эффекта молекулярного сита. Глицинатные ионы перегоняют все белковые молекулы и догоняют анионы хлора. Как только последний ион хлора уходит из нижнего геля, pH повышается, так как ионы хлора заменяются более основными глицинатными, и вместо исходной буферной системы трис- HCl образуется трис-глициновый буфер. Вследствие этого возрастает отрицательный заряд белковых анионов, и их движение происходит в соответствии с величинами отношения заряд/масса.

2.4.5. Применение метода диск-электрофореза

Метод электрофореза в полиакриламидном геле широко используется в различных отраслях биологических, экологических и медицинских исследований. Примеры его применения:

- 1) в медицине (диагностика заболеваний - изучение белков и ферментов различных органов и тканей в норме и патологии);
- 2) в серологии (разделение белков сыворотки крови для определения родов и видов и их идентификации);
- 3) в генетике (выявление мутаций путем изучения белковых спектров);



- 4) в гистологии и цитологии (анализ компонентов клеточных фрагментов и тканей);
- 5) в ботанике (исследование белков семян растений);
- 6) в микробиологии (изучение белков бактерий, вирусов и фагов, определение принадлежности микроорганизмов к определенному штамму);
- 7) в биохимии (изучение белковых спектров, множественных молекулярных форм ферментов, разделение смесей нуклеиновых кислот в различных органах и тканях организмов);
- 8) в экологии (изучение влияния абиотических и биотических факторов окружающей среды на биохимические показатели обитающих в ней организмов).

Практические работы

Работа 1. Фракционирование белков методом электрофореза в полиакриламидном геле

Разделение белков осуществляют в слабощелочной среде (рН 8,3-8,9)

Оборудование и реактивы. Прибор для электрофореза фирмы “Реанал”, универсальный источник питания, рефрактометр, лейкопластырь, ножницы, парафин, набор пипеток и мик-



ропипеток, соляная кислота: $C(HCl) = 1$ моль/л, триоксиметиламинометан (трис), ТЕМЭД, акриламид, N,N - метиленбисакриламид, персульфат аммония, сахароза (40%-ный раствор), глицин, амидовый черный 10 В (1%-ный раствор в смеси этанола, ледяной уксусной кислоты и воды в соотношении 10:1:30), уксусная кислота (7%-ный раствор), рибофлавин, свежeproкипяченная дистиллированная вода.

Материалы

Сыворотка крови. Цельную кровь в широких пробирках оставляют на сутки в холодильнике. Для лучшего отделения сгустка содержимое пробирок обводят вязальной спицей. Через сутки сыворотку отбирают пипеткой с резиновой грушей. Чистая сыворотка имеет соломенножелтый цвет. Если есть в сыворотке крови примесь форменных элементов (красный оттенок), то ее центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин.

Экстракт белков хирономид, моллюсков. 1 г хирономид, моллюсков замораживают в морозильной камере холодильника, а затем растирают в фарфоровой ступке с 2 мл трис-глицинового буфера (pH = 8,6). Экстракт центрифугируют в течение 10 мин при 10 000 - 12 000 об/мин. Отбирают надосадочную жидкость. Для нанесения на гель готовят раствор в 40%ной сахарозе.

Выполнение работы



Приготовление колонок полиакриламидного геля

Для приготовления нижнего и верхнего геля используют следующие исходные растворы (их можно хранить месяц в холодильнике):

Раствор А: раствор соляной кислоты: $C(\text{HCl}) = 1$ моль/л – 48 мл; трис – 36,6 г.; ТЕМЭД – 0,23 мл; вода – до 100 мл (рН = 8.6).

Раствор Б: раствор соляной кислоты $C(\text{HCl}) = 1$ моль/л - 48 мл; трис-5,98 г; ТЕМЭД – 0.46 мл; вода – до 100 мл (рН = 6.7).

Раствор В: акриламид - 30 г; бисакриламид – 0,735 г; вода – до 100 мл.

Раствор Г: акриламид –10 г; бисакриламид – 2,5 г; вода –до 100 мл.

Раствор Д: рибофлавин – 4,0 мг; вода – до 100 мл.

Раствор Е: сахароза – 40 г; вода – до 100 мл.

Раствор Ж: персульфат аммония – 0,14 г; вода –до 100 мл.

Процесс полимеризации геля ведут без доступа кислорода. С этой целью нижние концы сухих обезжиренных электрофоретических трубок (диаметр 0,6 см, длина 8 см) закрывают водонепроницаемыми донышками из лейкопластыря и закрепляют их парафином. Из запасных растворов, доведенных до комнатной температуры, готовят смесь для нижнего, разделительного геля. Для этого смешивают 1 часть раствора А, 2 части раствора В, 1 часть воды и 4 части раствора Ж. Эту смесь перемешивают и заливают в электрофоретические трубки (примерно 2 мл). На



смесь сразу наслаивают пипеткой по стенке колонки слой свежeproкипяченной дистиллированной воды высотой примерно 8 мм. Полимеризация нижнего геля при комнатной температуре продолжается около часа. Для ускорения процесса полимеризации трубки с гелем помещают в термостат при температуре +37⁰С. Полимеризация геля в термостате длится около 30 мин. Об окончании процесса полимеризации нижнего геля можно судить по появлению четкой границы между гелем и слоем воды над ним. После окончания процесса полимеризации геля с него удаляют воду и заливают в колонку смесь для верхнего геля. Для этого смешивают 1 часть раствора Б, 2 части раствора Г, 1 часть раствора Д и 4 части раствора Е. Смесь для верхнего геля наносят высотой 0,5 см, что составляет примерно 0,2 мл. На эту смесь снова наслаивают воду и ведут полимеризацию верхнего геля на солнечном свете или под УФ-лампой. Начало полимеризации определяют по переходу флуоресцирующего желто-зеленого цвета смеси в опаловый, а конец – по резкой границе между гелем и водой. Полимеризация верхнего геля длится 10-15 мин. После удаления воды колонки готовы для нанесения исследуемого раствора.



Подготовка материала для электрофоретического разделения

Оптимальное количество вносимого однородного белка на одну гелевую колонку - от 10 до 100 мкг. При выполнении данной работы следует вносить 200 мкг, так как белки сыворотки крови неоднородны. Следующий этап работы - определение содержания белка в исследуемом экстракте или сыворотке крови и разведение его до нужной концентрации. Для количественного определения содержания белка в биологическом материале чаще всего используют рефрактометрический метод или один из колориметрических методов. После определения содержания белка сыворотку крови разводят 40%-ным раствором сахарозы до концентрации 2000 мкг в мл (на одну гелевую колонку наносят по 0,1 мл раствора, содержащего 200 мкг белка). Так как в сыворотке крови содержится примерно 9% белка, то ее разводят раствором сахарозы в 45 раз. По 0,1 мл полученного раствора сыворотки крови наносят на приготовленный гель. Затем трубки доверху заполняют трисглициновым буфером, разбавленным в 10 раз, снимают водонепроницаемые доньшки и укрепляют колонки в приборе для электрофореза.

Для приготовления трис-глицинового буфера (рН = 8,6) берут 6 г триса и 28,8 г глицина, растворяют их в воде и доводят объем до 1 л дистиллированной водой в мерной колбе. Этот же раствор, разбавленный дистиллированной водой в 10 раз, ис-



пользуют для заправки электродных камер прибора для электрофореза. Такой разведенный буферный раствор называют электродным буфером. Его ионная сила равна 0,075.

Монтаж прибора для электрофореза в полиакриламидном геле. Основные части прибора представлены на рис. 6.2.

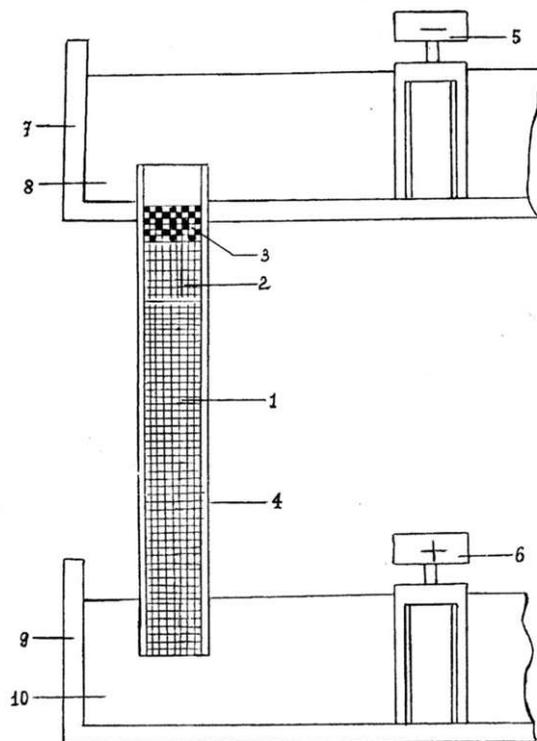


Рис. 6.2. Схема прибора для электрофореза в полиакриламидном геле: 1 - мелкопористый гель; 2 - крупнопористый гель; 3 - исследуемый раствор белка; 4 - стеклянная трубочка; 5, 6 - электроды; 7 - верхний резервуар для катодного буфера; 8, 10 - электродные буферы; 9 - нижний резервуар для анодного буфера.

Угольный электрод закрепляют в центре нижнего буферного резервуара и наливают в последний охлажденный электродный трисглициновый буфер ($\text{pH} = 8,6$). Затем стеклянные трубки с

нанесенными образцами ввинчивают в отверстия, просверленные в дне верхнего резервуара. Устанавливают электрод верхнего резервуара и собранную верхнюю часть прибора присоединяют к нижнему резервуару так, чтобы концы трубок были погружены в буферный раствор нижнего резервуара.

Удаляют воздушные пузырьки с концов трубок. Осторожно заполняют верхний резервуар трис-глициновым буфером, разбавленным в 10 раз, следя за тем, чтобы электрод был полностью погружен в раствор. В верхний резервуар добавляют 2 мл раствора бромфенолового синего, служащего индикатором окончания электрофореза.

Проведение электрофореза

Прибор для электрофореза подключают к универсальному источнику питания марки УИП-1. В качестве источника питания можно использовать также блок питания от аппаратов электрофореза на бумаге. На каждую колонку подают первые 10 - 15 минут силу тока 2 мА, а затем 5 мА, напряжение от 300 до 600 В, длительность электрофореза 60 – 70 мин, температура не выше +4⁰С (прибор для электрофореза помещают в холодильник). Электрофорез заканчивают, когда индикаторная краска окажется на расстоянии 5 – 6 мм от нижнего края трубки. По окончании электрофореза прибор разбирают, трубки вынимают и извлекают из них гель. Отслаивание геля от стенок стеклянных



трубок проводят тонкой металлической иглой. Хорошо использовать с этой целью мандрену от шприцевой иглы или шприц, наполненный водой. Колонку на время извлечения геля с помощью металлической иглы помещают в кристаллизатор с водой. После извлечения гелевую колонку помещают в пробирку и быстро дважды промывают дистиллированной водой. Затем ее заливают 7%-ным раствором уксусной кислоты на 15-20 минут для фиксации зон расположения белков и отмывают дистиллированной водой (10 – 15 минут). Замечено, что чем лучше произошла фиксация, тем быстрее и легче отмывается гель от красителя впоследствии.

Обнаружение белковых фракций

Расположение фиксированных уксусной кислотой белковых фракций на колонках полиакриламидного геля определяют, окрашивая их 1%-ным раствором амидового черного 10 В в смеси этанола, уксусной кислоты, воды (10:1:30). Для этого гелевые колонки опускают в раствор красителя на 1 мин. В результате вся колонка окрашивается в темный цвет, но только белковые фракции удерживают краситель прочно. От остальной части геля он отмывается смесью этанола, уксусной кислоты и воды в соотношении 10:1:30, заменяемой многократно.

Электрофореграмму (схему расположения белковых фракций на гелевой колонке) нужно зарисовать в тетради. Каждая



белковая фракция может быть охарактеризована по интенсивности окраски и по относительной электрофоретической подвижности (ОЭП). ОЭП белковых фракций рассчитывают, деля длину пути, пройденного фракцией, на длину пути, пройденного индикаторной краской. Тот и другой путь измеряют с точностью до десятых долей миллиметра, а ОЭП рассчитывают с точностью до сотых долей.

При сравнении электрофореграмм на основании статистической обработки данных разницу в 0,01 значения ОЭП у двух фракций с величинами ОЭП вдоль колонки в пределах от 0 до 0,3 считают несущественной. Аналогично этому разницу значения ОЭП 0,02 считают несущественной в пределах от 0,3 до 0,6, а разницу в 0,03 - в пределах от 0,6 до 1,0.

Гелевые колонки после окрашивания можно фотографировать в проходящем свете, используя для этого ультрахемоскоп (столик для просмотра хроматограмм), на пленку КН-1 при помощи открытой диафрагмы фотоаппарата (лучше зеркальная камера “Зенит” с удлиненными кольцами) при выдержке 1/30 с.

Для количественного определения белков гели фотометрируют.

Хранение и реставрация гелей

Гелевые колонки с окрашенными белковыми фракциями хранят много месяцев в отмывающем растворе в плотно закрытых пробирках. Высохшие электрофореграммы могут быть размочены и реставрированы в этом же отмывающем растворе.



Техника безопасности при работе методом электрофореза

1. Необходимо соблюдать осторожность при работе с прибором для электрофореза, составной частью которого является источник питания УИП-1, имеющий высокое напряжение (до 600 В). Он должен быть надежно заземлен. Кроме того, и другие части прибора находятся под напряжением, поэтому при эксплуатации прибора следует быть осторожным.
2. Изоляция соединительных проводов должна быть безупречной.
3. Необходимо помнить, что акриламид обладает определенной токсичностью, что вызывает раздражение кожи. В связи с этим при работе с акриламидом надо остерегаться его попадания на кожу.

2.4.6. Метод энзимэлектрофореза в полиакриламидном геле

Существует несколько способов обнаружения ферментов методом электрофореза в полиакриламидном геле, но основными являются два: окрашивание геля и электрофорез в гелях, содержащих субстрат.

Окрашивание геля заключается в следующем. Гель вынимают из трубки и выявляют ферментативную активность отдельных белковых фракций непосредственно на гелевых колонках с



помощью химических реакций, протекающих в специально подготовленных инкубационных средах. Инкубационные среды специфичны для каждого фермента. В местах локализации фермента обнаруживают окрашенные зоны. При втором способе субстрат вводят в гель, а затем инкубируют гель при нормальных условиях с соответствующими красителями.

Практические работы

Работа 1. Обнаружение амилазы в тканях животного происхождения методом электрофореза в полиакриламидном геле

Ферменты амилазного комплекса ускоряют гидролиз полисахаридов (крахмала, гликогена) с образованием разнообразных промежуточных и конечных продуктов.

Как известно, крахмал существует в двух формах: в виде амилозы и амилопектина. Амилоза состоит из длинных неразветвленных цепей, в которых все D-глюкозные остатки соединены α -1,4 связями. Цепи эти полидисперсны. Их молекулярная масса варьирует от нескольких тысяч до 500 000. В воде амилоза не дает истинного раствора, но образует гидратированные мицеллы, которые при добавлении йода окрашиваются в синий цвет. Цепи амилопектина сильно разветвлены. Остов молекулы амилопектина имеет α -1,4 гликозидные связи, а в точках ветвле-



ния α 1,6 связи. Амилопектин образует коллоидные растворы, которые при добавлении йода окрашиваются в красно-фиолетовый цвет. Молекулярная масса амилопектина может достигать 1 млн.

Основные компоненты крахмала гидролизуются ферментативным путем разными способами. Амилоза может быть гидролизована при участии α - и β -амилаз. α -амилаза или 1,4-глюкан-4-глюканогидролаза, ускоряет гидролиз α -1,4 связей без какого-либо определенного порядка, в результате чего сначала возникают олигосахариды, которые также подвержены действию α -амилазы, если они содержат три и более остатков D-глюкозы. В конечном счете получается смесь α -мальтозы и D-глюкозы. α -амилаза найдена у всех растений и животных.

Фермент β -амилаза (или α -1,4-глюканмальтогидролаза) ускоряет реакцию гидролиза амилозы по 1,4 связям, последовательно отщепляя остатки β -мальтозы с нередуцирующего конца. β -амилаза характерна только для высших растений.

В природе найдена также γ -амилаза, или α -1,4-глюканглюкогидролаза, ускоряющая гидролиз 1,4-связей в крахмале так, что последовательно отщепляются остатки глюкозы, начиная с нередуцирующего конца.

Амилопектин также гидролизует при участии α , β , γ , \square -амилаз, но так как все эти амилазы не способны расщеплять α -1,6-связи в точках ветвления амилопектина, то конечным продуктом при действии амилаз на амилопектин является крупная, сильно разветвленная "сердцевина" полисахарида, называемая



остаточным декстрином. α -1,4-связи в нем гидролизуются при участии особых ферментов (α -1,6-глюкозидаз).

В исследуемых препаратах в основном содержится α -амилаза. Выявление ферментативной активности амилазы проводят, используя реакцию взаимодействия крахмала и продуктов его гидролиза с йодом.

Оборудование и реактивы. Приборы и реактивы для определения белка по методу Лоури, приборы и реактивы для проведения электрофореза в ПААГе, трис-глициновый буфер, разбавленный в 5 раз, 1%-ный раствор растворимого крахмала, ацетатный буфер (pH = 5,6), раствор йода, тканевые экстракты, термостат на 37°C.

Выполнение работы

Колонки полиакриламидного геля готовят в соответствии с прописью, приведенной ранее (работа 1, стр. 105-106), только вместо 1 части воды при приготовлении нижнего геля берут 1 часть раствора крахмала. В исследуемом образце определяют содержание белка по методу Лоури и разбавляют его 40%-ным раствором сахарозы до содержания белка 4 000 - 6 000 мкг/мл. На каждую колонку полиакриламидного геля наносят по 0,1 мл белкового экстракта, содержащего 400 - 600 мкг белка, и проводят электрофоретическое разделение по методу, описанному ниже. По завершении электрофореза гелевую колонку извлекают из трубки и инкубируют в ацетатном буфере (pH = 5,6) при 37°C в



течение часа, затем буферный раствор сливают, гель промывают водой и заливают раствором йода.

ВНИМАНИЕ! Перед употреблением раствор йода разбавляют в 6 раз.

Окрашивание проводят в течение 1 – 3 минут. Далее раствор йода сливают и гелевые колонки заливают водой. Гелевая колонка окрашивается в синий цвет, а в отдельных зонах, где разрушен крахмал, введенный в состав геля, имеются неокрашенные участки. Эти участки показывают наличие α -амилазы.

Схему расположения форм α -амилазы на гелевой колонке нарисовать в тетради, посчитать ОЭП фракций.

Работа 2. Обнаружение арилэстеразы в тканях животного происхождения методом электрофореза в полиакриламидном геле

Оборудование и реактивы. Приборы и реактивы для определения белка по методу Лоури; приборы и реактивы для проведения электрофореза в ПААГе; трис-глициновый буфер, разбавленный в 5 раз; 1%-ный раствор 1-нафтилацетата в 50%-ном растворе ацетона; трис-НСl буфер: $C(\text{трис-НСl-буфера}) = 0,2$ моль/л ($\text{pH} = 7,1$); раствор прочного синего (2 мг в 1 мл); тканевые экстракты; термостат на 37°C .



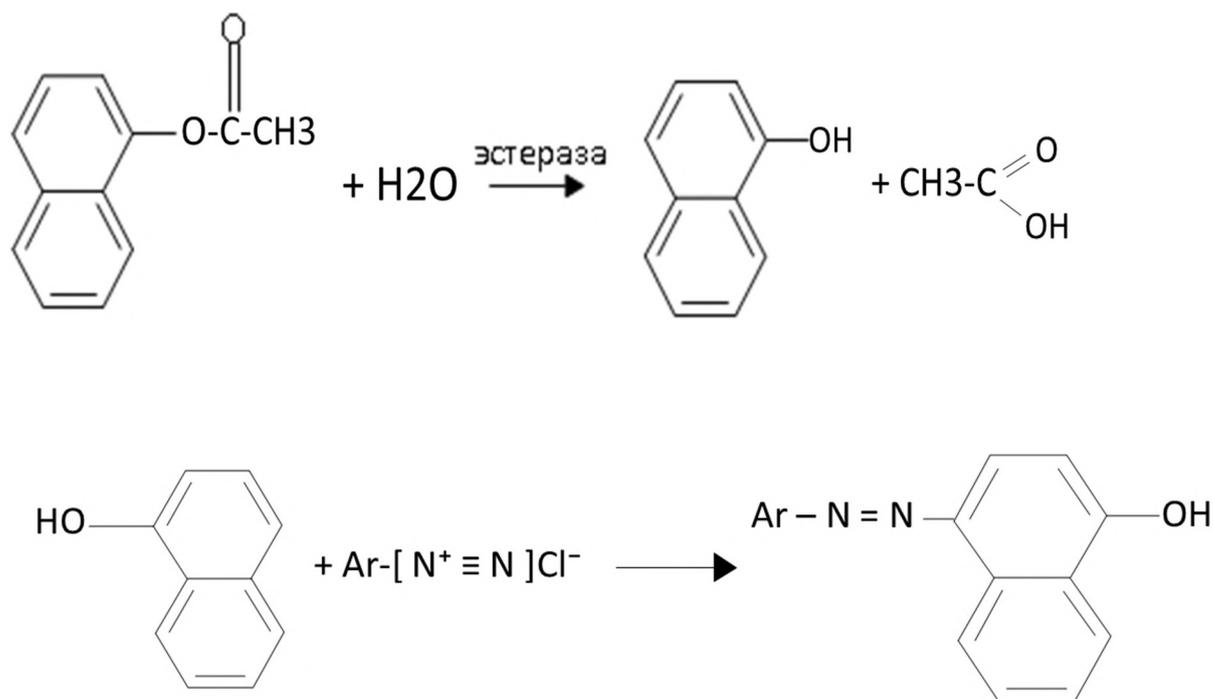
Выполнение работы

Колонки полиакриламидного геля готовят в соответствии с прописью, приведенной ранее (работа 1, стр. 105-106), только вместо 1 части воды при приготовлении нижнего геля берут 1 часть раствора крахмала. В исследуемом образце определяют содержание белка по методу Лоури и разбавляют его 40%-ным раствором сахарозы до содержания белка 4000 - 6000 мкг/мл. На каждую колонку полиакриламидного геля наносят по 0,1 белкового экстракта и проводят электрофоретическое разделение белков.

По завершении электрофореза гелевую колонку, извлеченную из стеклянной трубки, промывают дистиллированной водой и помещают в заранее подготовленную в пробирке инкубационную смесь, состоящую из 9 мл трис-НСl буфера С (трис-НСl буфера) = 0,2 моль/л (рН = 7,1) и 0,5 мл 1%-ного раствора 1-нафтилацетата в 50%-ном растворе ацетона. Содержимое пробирки (вместе с гелем) тщательно перемешивают и оставляют на 10 – 15 минут в термостате при 37°C. Затем приливают 1 мл раствора прочного синего Б, перемешивают и оставляют в термостате еще на 10 – 20 минут. Белковые фракции, обладающие эстеразной активностью, выявляются на колонке в виде зон, окрашенных в коричневый цвет (от 2 до 6 фракций). Окраска развивается в результате сочетания между 1-нафтолом, освобождающимся при гидролизе субстрата (1-нафтилацетата) в присутствии эстеразы, и



солью диазония (прочным синим Б) с образованием нерастворимого азосоединения.



Схему расположения белковых фракций, обладающих эстеразной активностью, зарисовать в тетради. Посчитать ОЭП полученных фракций.

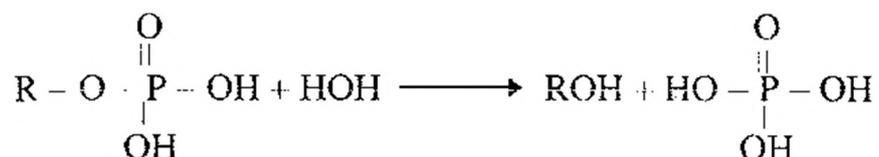
Работа 3. Обнаружение кислой фосфатазы методом электрофореза в полиакриламидном геле

Оборудование и реактивы. Приборы и реактивы для определения белка по методу Лоури; приборы и реактивы для проведения электрофореза в ПААГе; трис-глициновый буфер, разбавленный в 5 раз; ацетатный буфер: $C(\text{ацетатного буфера}) = 0,2$



моль/л (рН = 4,8); I-нафтилфосфат; прочный синий Б; тканевые экстракты; термостат на 37°C.

Кислая фосфатаза принадлежит к классу гидролаз. Фосфатазы расщепляют эфирную связь между фосфатом и остатком спирта (R):



Данный фермент имеет огромное значение в общем метаболизме клетки. Кислая фосфатаза принимает участие как в деструктивных процессах, так и в реакциях анаболизма, являясь ключевым ферментом благодаря широкой субстратной специфичности и многообразию изоформ, которыми представлен энзим в клетках большинства организмов.

Все это вызывает давний и заслуженный интерес как теоретического, так и прикладного характера к изучению кислой фосфатазы.

Кислая фосфатаза (фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты, 3.1.3.2).

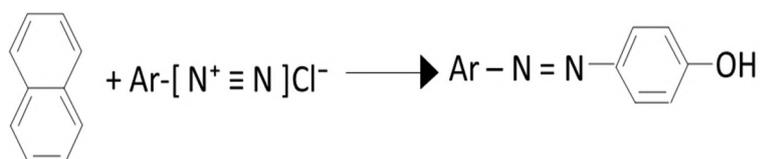
Колонки полиакриламидного геля готовят в соответствии с приведенной ранее прописью. В исследуемом образце определяют содержание белка по методу Лоури и разбавляют его 40%-ным раствором сахарозы до содержания белка 4000 - 6000 мкг/мл. На каждую колонку полиакриламидного геля наносят по



0,1 белкового экстракта и проводят электрофоретическое разделение белков.

Для обнаружения кислой фосфатазы гелевую колонку с электрофоретически фракционированными белками помещают сначала в инкубационную смесь, состоящую из 9 мл ацетатного буфера: $C(\text{ацетатного буфера}) = 0,2 \text{ моль/л}$ ($\text{pH} = 4,8$) и 3 мг 1-нафтилфосфата на 10 минут (выдерживают в термостате при 37°C). Затем в смесь добавляют 1 мл раствора прочного синего Б (2 мг в 1 мл воды) и выдерживают в термостате еще 20 минут. Зоны локализации кислой фосфатазы окрашиваются в малиново-красный цвет.

Окраска развивается в результате взаимодействия между 1нафтолом, образующимся при гидролизе субстрата (1-нафтилфосфата) в присутствии кислой фосфатазы, и солью диазония (прочным синим Б) с образованием нерастворимого азосоединения.



Схему расположения белковых фракций, обладающих эстеразной активностью, зарисовать в тетради. Подсчитать ОЭП полученных фракций.

Эталоны решения задач.

Задача 1.

Изоэлектрическая точка (ИЭТ) желатина соответствует $pH = 4,7$. К какому электроду при электрофорезе перемещается желатин в $0,05$ н растворе HCl ?

Решение:

В изоэлектрическом состоянии белок имеет нулевой заряд. В среде более кислой, чем ИЭТ, происходит протонирование нейтральных аминогрупп $-NH_2$ и белок приобретает положительный заряд ($-NH_3^+$). В среде менее кислой, чем ИЭТ, происходит диссоциация нейтральных карбоксильных групп ($COOH$) и они приобретают отрицательный заряд (COO^-).

Рассчитаем pH $0,05$ н раствора HCl :

$$[H^+] = 0,05 \text{ моль/л};$$

$$pH = -\lg[H^+] = -\lg(5 \cdot 10^{-2}) = 2 - \lg 5 = 2 - 0,7 = 1,3.$$

Так как желатин помещен в раствор, pH которого ($1,3$) меньше pH в ИЭТ ($4,7$), то белок будет проявлять основные свойства, и его молекула будет нести положительный заряд. Поэтому при электрофорезе желатин будет двигаться к катоду, который заряжен отрицательно.



Задача 2.

Электрокинетический потенциал частиц гидрозоля, найденный методом электрофореза, равен $5,5 \cdot 10^{-2}$ В. Напряженность внешнего электрического поля 7 В/см. Относительная диэлектрическая проницаемость среды $80,8$; ее вязкость $1 \cdot 10^{-3}$ Н·с/м². Вычислить электрофоретическую скорость частиц золя. Определить электрофоретическую подвижность этого золя.

Решение

Скорость электрофореза определяется по уравнению Гельмгольца-Смолуховского:

$$u = \frac{\zeta \varepsilon \varepsilon_0 H}{\eta}, \quad (1)$$

где u – линейная скорость движения дисперсных частиц, м/с;

ζ – электрокинетический потенциал, В;

ε – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – электрическая постоянная, Ф/м;

H – напряженность электрического поля (градиент потенциала), В/м;

η – вязкость среды, Н·с/м²

$$u = \frac{\zeta \varepsilon \varepsilon_0 H}{\eta} = \frac{5,5 \cdot 10^{-2} \cdot 80,8 \cdot 8,85 \cdot 10^{-12} \cdot 700}{1 \cdot 10^{-3}} = 2,75 \cdot 10^{-5} \text{ м/с}$$

Электрофоретическая подвижность частиц дисперсной фазы представляет собой отношение скорости движения дисперсной фазы при электрофорезе к напряженности электрического поля :



$$u_{эф} = \frac{u}{H} = \frac{2,75 \cdot 10^{-5}}{700} = 3,93 \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/\text{с} \cdot \text{В}$$

Задача 3.

Определить электрокинетический потенциал суспензии кварца в воде. При электрофорезе частицы перемещаются к аноду; смещение границы составило $8 \cdot 10^{-3}$ м за 250 с, $H = 1100$ В/м, $\varepsilon = 81$; $\eta = 1 \cdot 10^{-3}$ Па·с.

Решение.

Запишем формулу (1) как

$$u = \frac{h}{t} = \frac{\zeta \varepsilon \varepsilon_0 H}{\eta},$$

где h – смещение границы, м;

t – время электрофореза, с.

Из нее найдем электрокинетический потенциал

$$\zeta = \frac{h\eta}{t \varepsilon \varepsilon_0 H} = \frac{8 \cdot 10^{-3} \cdot 1 \cdot 10^{-3}}{250 \cdot 81 \cdot 8,85 \cdot 10^{-12} \cdot 1100} = 40,6 \text{ мВ}$$

Контрольные вопросы

1. Что такое электрофорез и какие биологические макромолекулы можно изучать с помощью метода электрофореза?
2. Чем обусловлен суммарный электрический заряд белков?
3. От чего зависит подвижность белков в электрическом поле?



4. Какие разновидности электрофореза Вы знаете? В чем преимущество методов зонального электрофореза?
5. В чем состоит отличие электрофореза в гелях от других видов электрофореза? Каковы преимущества полиакриламидного геля?
6. Применение метода электрофореза в биологических и экологических исследованиях.
7. В чем заключаются основные этапы разделения белков методом электрофореза в полиакриламидном геле?
8. В чем состоит метод энзимэлектрофореза? Каковы способы обнаружения ферментов методом энзимэлектрофореза?
9. Каков принцип действия амилаз?
10. Каков принцип выявления α -амилазы методом энзимэлектрофореза в полиакриламидном геле?
11. К какому классу и подклассу ферментов относится арилэстераза?
12. Каковы принципы выявления арилэстеразы методом электрофореза в полиакриламидном геле?
13. К какому классу и подклассу ферментов относится кислая фосфатаза?
14. Каковы принципы выявления кислой фосфатазы методом электрофореза в полиакриламидном геле?



3. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Хроматографический метод разделения и анализа веществ открыт в 1903 году русским ботаником М.С. Цветом при пропускании сложной смеси растительных пигментов (петролейно-эфирной вытяжки из листьев растений) через трубку с карбонатом кальция. В колонке образовался ряд окрашенных зон, что и дало название методу. Слово “хроматография” состоит из двух корней греческого происхождения, означающих “цвет” и “писать”. М.С. Цвет назвал метод хроматографией, то есть цветописью, указывая на возможность разделения и бесцветных веществ. Автор метода опубликовал ряд статей по хроматографии, однако метод не развивался вплоть до 1931 года, когда Куном, Винтерштейном и Ледераром были воспроизведены опыты М.С. Цвета. Более того, им удалось выделить в кристаллическом виде α - и β -каротины из сырого каротина и продемонстрировать препаративную ценность метода.

В 1938 году появился вариант тонкослойной хроматографии. Он был предложен отечественными учеными Н.А. Измайловым и М.С. Шрайбер. Однако широкие возможности этого метода были открыты позднее благодаря работам Ю. Кирхнера и Э. Шталя.

Началом современной хроматографии принято считать 1941 год, когда американские ученые Л. Мартин и Р. Синдж разработали метод распределительной хроматографии и дали



его теоретическое обоснование. Эти же авторы указали на возможность осуществления газожидкостной хроматографии. Середина 70-х годов 20 века ознаменована рождением высокоэффективной колоночной хроматографии (ВЭКХ). В это время появились первые жидкостные хроматографы. В настоящее время хроматография - один из самых распространенных методов в исследовательской работе, нашедший применение в медицине, биологии, экологии и на производстве.

Хроматография - физико-химический метод разделения, концентрирования и анализа смесей веществ, основанный на различиях в распределении разделяемых веществ между подвижной и неподвижной фазами.

Смесь веществ вводится в устройство (хроматографическую колонку), содержащее неподвижную фазу (твердый адсорбент). Через колонку пропускается подвижная фаза (жидкий растворитель или газ). При перемещении подвижной фазы по колонке на твердом носителе чередуются процессы адсорбции веществ и их десорбции под действием новых порций подвижной фазы. Каждый компонент смеси распределяется между подвижной и неподвижной фазами в соответствии с его сродством к этим фазам. Чем больше сродство вещества к неподвижной фазе и меньше к подвижной фазе, тем меньше скорость его перемещения по колонке вместе с подвижной фазой. Различия в адсорбционной способности компонентов приведут к появлению на неподвижной фазе отдельных зон, содержащих разделяемые компоненты



смеси. Из колонки каждая фракция, содержащая отдельный компонент смеси, будет выходить в свою очередь. Эти фракции можно собрать по отдельности и при необходимости с помощью других методов физико-химического анализа определить концентрацию каждого вещества.

Подбирая природу неподвижной и подвижной фаз и условия хроматографирования (скорость движения подвижной фазы, температуру, время разделения), можно добиться разделения веществ с очень близкими физико-химическими свойствами и определить их содержание в смеси.

Хроматографические методы очень разнообразны.

По цели проведения различают **аналитическую хроматографию**, призванную определить качественный и количественный состав смеси веществ, и **препаративную хроматографию**, предназначенную выделять из смеси отдельные компоненты или очищать вещество от примесей.

По агрегатному состоянию подвижной фазы хроматографию делят на **газовую** и **жидкостную**.

В газовой хроматографии подвижной фазой служит газ, а неподвижной фазой - твердый гранулированный адсорбент, которым заполняется хроматографическая колонка. Газовую хроматографию применяют для разделения летучих термически устойчивых веществ с относительно небольшой молекулярной массой.



Для проведения газовой хроматографии используют газовый хроматограф (рис. 11). Анализируемая смесь вводится в испаритель и с потоком газа-носителя попадает в колонку с неподвижной фазой, помещенную в термостат. Для увеличения эффективности разделения компонентов смеси используют колонки большой протяженности в виде спирали. На выходе из колонки помещают детектор, который измеряет какое-либо физическое свойство газового потока (теплопроводность, ионизацию вещества в пламени, захват веществом электронов и др.) и преобразует его в электрический сигнал, фиксируемый самописцем в виде *хроматограммы* (рис. 12). Поскольку каждый компонент смеси движется к выходу из колонки с определенной скоростью, хроматограмма представляет собой несколько пиков. Каждый пик соответствует выходу из колонки определенного компонента смеси, а площадь пика пропорциональна его содержанию.

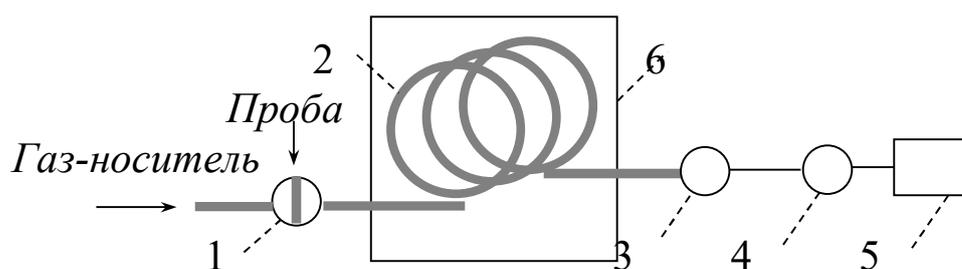


Рис. 11. Схема газового хроматографа:

1 – дозатор; 2 – колонка; 3 – детектор; 4 – электронный преобразователь сигнала; 5 – самописец; 6 - термостат.

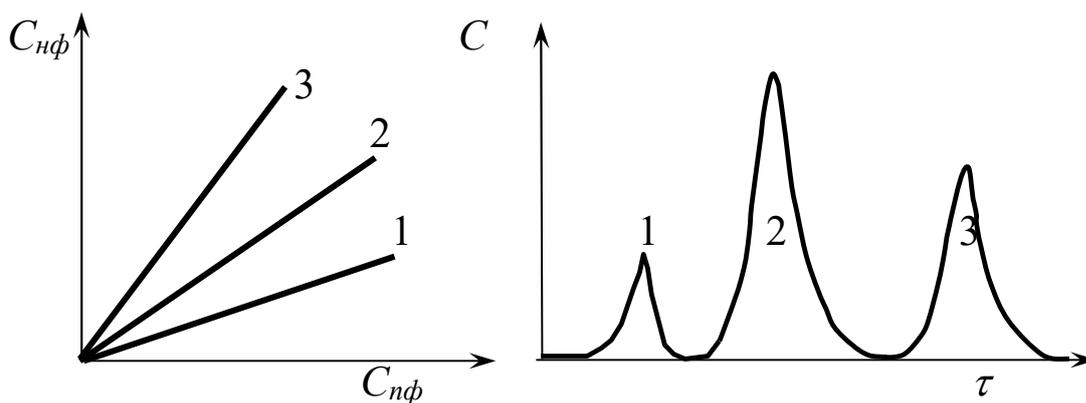


Рис. 12. Линейные изотермы сорбции трехкомпонентной смеси и соответствующие им пики на хроматограмме.

Идентификацию вещества проводят по времени удерживания, которое сравнивают со временем удерживания эталона при его хроматографировании в тех же условиях. Относительное содержание каждого компонента в смеси находят, сравнивая площадь его пика к сумме площадей всех пиков, присутствующих на хроматограмме.

Газовая хроматография находит применение в химической, фармацевтической, пищевой и других отраслях промышленности. С повышением экологических требований к среде обитания, продуктам, лекарствам резко возросла роль газовой хроматографии как метода анализа. Так, этот метод широко используется в настоящее время в анализе органических суперэкоотоксикантов. С помощью метода газовой хроматографии определяют хлор-, азот- и фосфорорганические пестициды, полихлорированные и полибромированные бифенилы, нитроароматические соединения и многие другие вещества.

Метод хроматомасс-спектрометрии позволяет определять полихлорированные дибензо-*p*-диоксины, полихлорированные дибензофураны и бифенилы, многие другие высокотоксичные ксенобиотики в природных объектах и биопробах. Кроме того, газовая хроматография используется во многих областях медицины, в гигиене и экологии для определения содержания вредных примесей в воздухе, воде и пищевых продуктах. Этот метод используют также в токсикологии и судебной медицине для диагностики отравлений техническими жидкостями (хлорпроизводными углеводородами, алкоголем и его суррогатами), в фармакологии и фармации для контроля качества препаратов, исследования метаболизма лекарственных средств.

Применение газовой хроматографии в биохимических целях сравнительно долго не получало должной оценки. Считалось, что биологические объекты недостаточно летучи и мало устойчивы к различным физико-химическим воздействиям, применяемым в газохроматографическом анализе. Успехи в разработке методов расщепления липидов, углеводов и белков до более простых компонентов и превращение их в летучие соединения открыли широкую дорогу для применения метода в биохимическом анализе. Особенно велики успехи в исследовании липидов, в особенности жирных кислот. Возможность определения индивидуального состава жирных кислот тех или иных липидов является мощным инструментом в познании



структуры и функции биологических мембран, процессов внутриклеточного метаболизма. Газохроматографическое определение спектра карбоновых кислот цикла Кребса внесло большой вклад в понимание процессов метаболизма при различных патологических состояниях. Газовая хроматография используется в медицинской микробиологии и диагностике врожденных нарушений метаболизма. Перспективой применения данного метода является концепция метаболических профилей – систем интегральной оценки метаболизма. С унификацией основных техник газовой хроматографии, ростом чувствительности детекторов станет возможно повседневное использование метаболических профилей в целях практической диагностики.

Разновидностью газовой хроматографии является *газо-жидкостная хроматография*, при которой подвижной фазой является газ, а неподвижной – нелетучая жидкость, нанесенная в виде тонкого слоя на твердый носитель.

В жидкостной хроматографии подвижной фазой служит жидкость, а неподвижной фазой – твердый гранулированный адсорбент. Жидкостную хроматографию применяют для разделения органических и неорганических веществ, в том числе и термически неустойчивых, а также веществ с большой молекулярной массой.

В классическом варианте жидкостной хроматографии, кото-



рый отличается простотой аппаратного оформления, жидкость (раствор) самотеком пропускают через колонку, собирая отдельные порции на ее выходе. Более современный вариант высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) использует прокачку жидкой фазы через колонку с помощью специального насоса; по своему оформлению ВЭЖХ похожа на газовую хроматографию.

Разновидностью жидкостной хроматографии является жидкостно-жидкостная хроматография, в которой подвижной фазой служит жидкость, а неподвижной – тонкий слой жидкого адсорбента, нанесённый на твёрдый носитель.

Адсорбент в общепринятом смысле представляет собой твёрдое вещество, способное удерживать на своей поверхности молекулы или ионы. Эта способность особенно ярко выражена в тех случаях, когда поверхность адсорбента содержит большое количество мелких пор.

Адсорбенты подразделяются на неполярные (гидрофобные) – активированный уголь – и полярные (гидрофильные) – силикагель, оксид алюминия, искусственные и природные силикаты. Адсорбционное сродство полярных веществ с полярными адсорбентами значительно выше неполярных. Это различие используется при выборе адсорбентов. Сорбция может быть специфической, что позволяет избирательно адсорбировать одно вещество из смеси.



По применяемой технике жидкостную хроматографию делят на *колоночную, тонкослойную и бумажную*.

В колоночной хроматографии собирают отдельные порции на выходе из колонки, заполненной твёрдым гранулированным носителем. Хроматограмму получают с помощью разнообразных детекторов, измеряющих различные физические свойства жидкой фазы (электропроводность, оптическую плотность и др.).

Колонка для адсорбционной хроматографии представляет собой стеклянную трубку, заполненную адсорбентом. На адсорбент в колонке наносят смесь веществ. Затем через них пропускают растворитель или смесь растворителей, служащих подвижной фазой. Разделение основано на том, что вещества с более высоким эффективным коэффициентом распределения продвигаются на колонке с большей скоростью, отделяясь таким образом от веществ более низким коэффициентом.

Если исследуемые вещества окрашены, то при разделении можно видеть движение по колонке окрашенных зон. Образующиеся в результате разделения зоны извлекают одним из двух способов. В первом случае столбик сорбента выталкивают из колонки, зоны разделяют шпателем. Затем элюируют из зон разделенный материал. Другой способ состоит в том, что растворитель (элюент) пропускают через колонку до тех пор, пока не соберут все фракции по мере их выхода. Этот способ применяется чаще.



Если разделяемые с помощью хроматографии на колонке вещества не окрашены, то весь выходящий из колонки раствор (элюент) собирают в виде фракций, а потом анализируют их. При этом часто элюат контролируют, освещая, например, ультрафиолетовыми лучами. При выходе чистого растворителя флуоресценция отсутствует, а возникает во время появления примесей компонентов.

Для получения адсорбционных хроматограмм применяют растворители, обладающие слабой адсорбируемостью на применяемых адсорбентах. При выборе растворителя руководствуются правилом, согласно которому неполярные адсорбенты адсорбируют из полярных растворителей, особенно из воды и спирта, значительно хуже, чем из неполярных; полярные же адсорбенты слабее адсорбируют из неполярных растворителей. В большинстве случаев вымывание осуществляется за счет увеличения полярности растворителя (градиентная элюция).

В настоящее время жидкостно-адсорбционная хроматография на колонке применяется при разделении и изучении состава углеводов, фенолов, углеводородов, липидов, стероидов, производных аминокислот, компонентов нуклеиновых кислот, алкалоидов, пестицидов, витаминов и других веществ.

В тонкослойной хроматографии в качестве твёрдого носителя выступает тонкий слой силикагеля, оксида алюминия или



различных полимеров, нанесённый на пластинку. Вблизи нижнего края пластинки на слой сорбента наносят пятно анализируемой смеси. После высыхания пятна пластинку погружают в ёмкость с подвижной фазой, которая начинает подниматься по пластинке под действием капиллярных сил. Вместе с подвижной фазой по пластинке перемещаются компоненты смеси, причем с разными скоростями, которые определяются их сорбционными свойствами. После того, как фронт подвижной фазы достигнет верхнего края пластинки, её вынимают, высушивают и при необходимости обнаруживают разделенные зоны по собственной окраске или обработкой окрашивающим реагентом. Хроматограмма имеет вид нескольких окрашенных пятен различного размера. Отношение пути, пройденного данным веществом, к пути, пройденному подвижной фазой, служит для идентификации вещества (путем сравнения с эталоном), а размер пятна и интенсивность его окрашивания пропорциональны содержанию данного компонента в смеси.



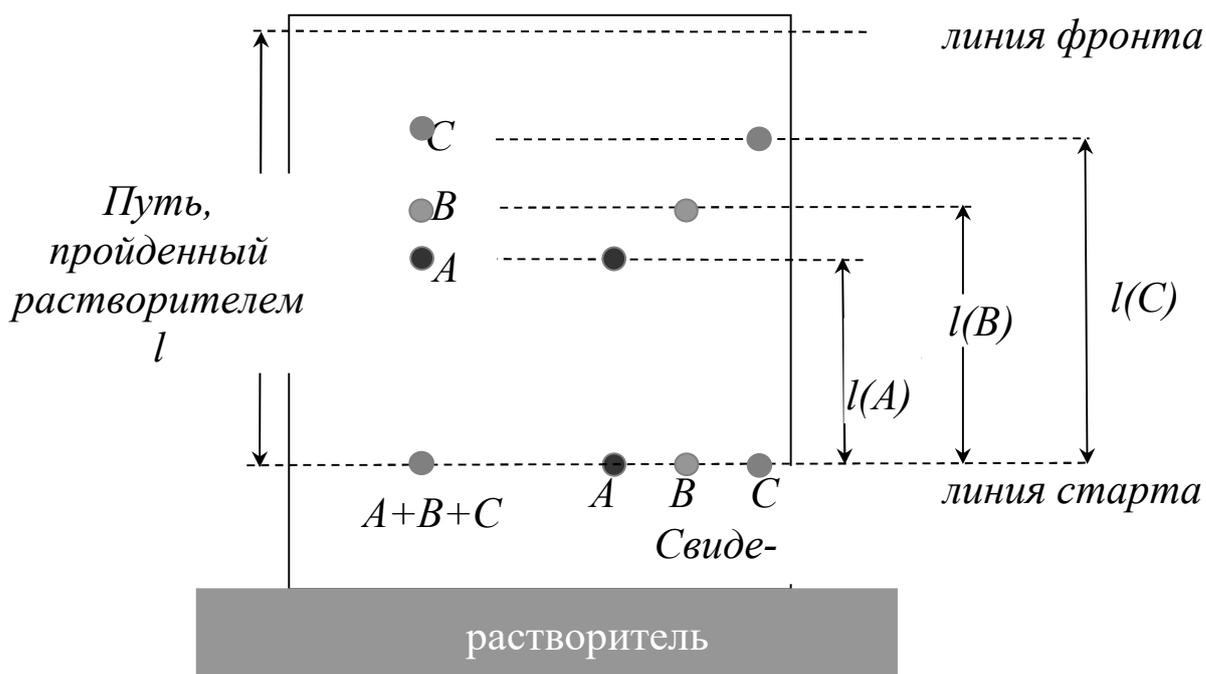


Рис. 13. Тонкослойная хроматография.

Тонкослойная хроматография, простая в исполнении, доступная и надёжная, включена в качестве стандартного метода анализа лекарственных препаратов в Государственную фармакопею России.

Наряду с тонкослойной хроматографией используется близкая к ней по технике исполнения **бумажная хроматография**. В бумажной хроматографии в качестве твёрдого носителя используется особая хроматографическая бумага, отличающаяся однородностью состава и ориентации целлюлозных волокон. Неподвижной фазой в этом случае служит или сама бумага, или адсорбированная ею вода.

По механизму разделения веществ различают адсорбционную, распределительную, ионообменную, молекулярно-ситовую и биоспецифическую хроматографию.

В адсорбционной хроматографии в основе разделения веществ лежат их различия в адсорбционной способности на твёрдом адсорбенте.

В распределительной хроматографии разделяемые вещества по-разному распределяются между подвижной (газовой или жидкой) фазой и неподвижной фазой, нанесенной на твёрдый носитель.

В ионообменной хроматографии разделяются ионы из-за их различной склонности к ионному обмену между раствором и ионитом. Методом ионной хроматографии определяют очень многие анионы в питьевой и технической воде, в пищевой, фармацевтической и других отраслях промышленности. Описаны методики определения свыше 70 анионов неорганических и органических кислот, в том числе галогенидов, нитрита, нитрата, сульфата, ацетата. Число определяемых катионов значительно меньше – главным образом катионы щелочных и щелочноземельных металлов, а также органические катионы замещённых солей аммония.

Ионная хроматография успешно применяется в анализе объектов окружающей среды (атмосферы, воды и т.д.), в клинических исследованиях и многих отраслях промышленности.

В молекулярно-ситовой хроматографии (гель-хроматографии) разделение веществ основано на различии в размерах их частиц. В качестве неподвижной фазы используют твёрдые



тела, имеющие поры строго определенного размера. Они могут удерживать частицы, способные проникнуть в поры, но безразличны к частицам большего размера.

Проникающая или эксклюзионная хроматография

Подвижной фазой в проникающей хроматографии является растворитель (жидкость), а неподвижной – та же жидкость, заполнившая поры сорбента (геля), т.е. и подвижную, и неподвижную фазы составляет одно и то же вещество или одна и та же смесь веществ. Гель готовят на основе декстрана, полиакриламида или других природных и синтетических соединений.

Способность молекул анализируемого вещества проникать в растворитель, поглощенный частицами набухшего геля, зависит от степени пористости частиц геля и от размера молекул соединения. Распределение веществ на колонке, заполненной набухшим гелем, зависит от общего объема растворителя внутри и снаружи частиц геля.

Проникающая (эксклюзионная) хроматография используется для очистки высокомолекулярных биологических соединений. Так проводят очистку и разделение вирусов, белков, ферментов, гормонов, антител, нуклеиновых кислот и полисахаридов. Этим методом можно отделять аминокислоты от пептидов, фракционировать пептиды, образующиеся в результате гидролиза белков, а также олигонуклеотиды из гидролизатов



нуклеиновых кислот. Метод проникающей хроматографии позволяет определять молекулярные массы неизвестных белков, концентрировать растворы белков, моносахариды отделять от полисахаридов и аминокислоты от белков. С помощью этого вида хроматографии в Институте вирусологии в Москве в 1990 году был выделен вирус СПИДа.

В биоспецифической (аффинной) хроматографии используется уникальная способность некоторых биологических субстратов избирательно взаимодействовать с определенными веществами, например, фермента с субстратом, антигена с антителом и др. Иначе говоря, аффинная хроматография основана на исключительной способности биологически активных веществ связывать специфически и обратимо другие вещества. Научные основы метода заложены в 1951 году в США, хотя первые экспериментальные указания на большие потенциальные возможности аффинной хроматографии были получены еще в 1910 году Штаркенштейном, использовавшим крахмал для выделения амилазы. В основе аффинной хроматографии лежит уникальное свойство биологически активных соединений узнавать строго определенные вещества, в процессе которого реализуется так называемый принцип молекулярного распознавания. Фермент узнает свой субстрат, антиген – антитело, гормон – рецептор.

Процесс разделения веществ с использованием аффинной хроматографии включает несколько самостоятельных этапов.



Хроматографическую колонку заполняют носителем, ковалентно связанным с каким-либо биологически активным веществом (лигандом). Лигандами могут служить самые различные соединения: белки, пептиды, аминокислоты, витамины, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты, углеводы и многие другие вещества. В качестве носителей в аффинной хроматографии получили широкое распространение гранулированные гели агарозы и полиакриламида (биогель Р), полистирольные смолы с химически активными группами, целлюлоза и её производные и т.д. Затем через колонку пропускают анализируемую смесь веществ, к одному из которых иммобилизованный лиганд обладает биологическим сродством. Выбирая из смеси требуемое соединение, лиганд образует с ним комплекс. Остальные компоненты пройдут через колонку, не задерживаясь. Специфически адсорбированный компонент может быть освобожден из комплекса изменением природы элюента, рН или ионной силы.

Применение методов хроматографии

Наибольшей разрешающей способностью отличается интенсивно разрабатываемая в последние годы высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Этот метод хроматографии позволяет проводить микроколичественный анализ веществ в ультрамалых количествах и за короткое время с использованием высокочувствительных детекторов в микроколоночном варианте. Удобство и быстрота обработка аналитиче-



ской информации, получаемой на хроматографах, обеспечивается вычислительным комплексом, укомплектованным пакетом программ широкого назначения. ВЭЖХ приходит на смену гель-проникающей хроматографии и другим хроматографическим методам. Метод широко применяется для анализа белков, производных аминокислот и других соединений.

Метод ВЭЖХ в последние годы считается одним из наиболее важных в определении следовых количеств пестицидов и полиароматических углеводородов, в анализе пищевых продуктов и фармацевтических препаратов. В отличие от газовой хроматографии этот метод используется для анализа термически нестойких, нелетучих или очень полярных соединений.

Различные варианты хроматографии широко применяются в медицине. Качественный и количественный анализ крови и мочи - экспрессный метод определения алкоголя, наркотиков, допинга. Количественное соотношение жирных кислот в физиологических средах, определённое хроматографически, позволяет диагностировать заболевания жёлчного пузыря, печени, сахарный диабет, нарушения сердечной деятельности и другие болезни. Хроматографический анализ незаменим при разработке новых лекарственных средств и для контроля качества промышленно выпускаемых препаратов.



Вопросы для самоконтроля

1. В чем сущность хроматографического процесса?
2. Какого назначение подвижной и неподвижной фаз?
3. Какие процессы происходят в колонке?
4. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по способу хроматографирования?
5. В чем состоит проявительный (элюентный) анализ?
6. В чем преимущество элюентной хроматографии перед фронтальной и вытеснительной?
7. Как классифицируют методы хроматографии по технике проведения эксперимента и цели?
8. Как влияет температура на хроматографический процесс?
9. В чем сущность ионообменной хроматографии?
10. Какие функциональные группы обеспечивают обменные свойства различных синтетических ионообменных смол? Какие типы катионитов и анионитов вам известны?
11. Что такое «обменная емкость» ионита?



Эталоны решения задач

Задача №1.

Через колонку с катионитом в H^+ – форме пропустили 20 мл раствора KCl . Элюат оттитровали 15 мл 0,1 моль/л раствора $NaOH$. Определить содержание KCl в анализируемом растворе.

Решение. При пропускании через катионит в H^+ – форме раствора KCl в результате ионообменной реакции ($RH+KCl \leftrightarrow RK+HCl$) в элюате появляется соляная кислота, количество которой эквивалентно количеству соли, т.е.

$$(C \cdot V)_{HCl} = (C \cdot V)_{KCl}$$

При титровании кислоты раствором щелочи справедливо равенство:

$$(C \cdot V)_{HCl} = (C \cdot V)_{NaOH}$$

или

$$(C \cdot V)_{KCl} = (C \cdot V)_{NaOH}$$

Тогда содержание KCl в анализируемом растворе рассчитывают следующим образом:

$$m(KCl) = (C \cdot V)_{NaOH} \cdot M(KCl) = 15 \cdot 0,1 \cdot 74,5 = 118,8 \text{ мг} = 0,1188 \text{ г.}$$

$$M(KCl) = 74,5 \text{ г/моль}$$

Задача №2.

Какая масса Co^{2+} останется в растворе, если через колонку, заполненную 5 г катионита в H^+ – форме, пропустили 200 мл 0,1 моль/л раствора $CoCl_2$. Полная динамическая емкость катионита равна 1,6 моль/г.

Решение.

1. Рассчитаем количество Co^{2+} – ионов, пропущенных через колонку с катионитом:

$$n_1 = (C \cdot V)_{Co^{2+}} = 0,1 \cdot 200 = 20 \text{ моль}$$

2. Количество Co^{2+} – ионов, поглощенных 5 г катионита вычисляем из формулы:



$$ДЭ = \frac{n}{m(\text{ионита})} \left(\frac{\text{моль}}{\text{г}} \right),$$

$$n_2 = 1,6 \cdot 5 = 8 \text{ моль}$$

3. Количество Co^{2+} – ионов, оставшихся в растворе, равно:

$$n_3 = n_1 - n_2 = 20 - 8 = 12 \text{ моль}$$

4. Масса Co^{2+} – ионов, оставшихся в растворе, составляет:

$$m(\text{Co}^{2+}) = n_3 \cdot M(\text{Co}^{2+}) = 12 \cdot 58,93 = 707,16 \text{ мг} = 0,707 \text{ г.}$$

$$M(\text{Co}^{2+}) = 58,93 \text{ г/моль}$$

Задача №3.

Для определения полной динамической емкости (ПДЕ) катионита через колонку с 5 г катионита в H^+ – форме пропустили 350 мл 0,05 моль/л раствора CaCl_2 . При определении Ca^{2+} в элюате в порциях по 50 мл были получены следующие значения концентраций: 0,003; 0,008; 0,015; 0,025; 0,040; 0,050 и 0,050 моль /л. Определить ПДЕ катионита по кальцию.

Решение.

1. Вычислим количество Ca^{2+} – ионов, пропущенных через катионит:

$$n_1 = (C \cdot V)_{\text{Ca}^{2+}} = 350 \cdot 0,05 = 17,5 \text{ моль.}$$

2. Рассчитаем количество Ca^{2+} – ионов, содержащихся в элюате:

$$n_2 = \sum_{i=1}^n (C \cdot V), \text{ т.е.}$$

$$n_2 = 0,003 \cdot 50 + 0,008 \cdot 50 + 0,015 \cdot 50 + 0,025 \cdot 50 + 0,04 \cdot 50 + 0,05 \cdot 50 = 10,9 \text{ моль}$$

3. Количество Ca^{2+} – ионов, поглощенных катионитом, равно:

$$n_3 = n_1 - n_2 = 17,5 - 10,9 = 6,6 \text{ моль.}$$

4. Полная динамическая емкость катионита составляет:

$$ПДЕ = \frac{n_3}{m(\text{ионита})} = \frac{6,6}{5} = 1,32 \text{ моль/г.}$$



Задача №4.

Определить массовую долю (%) метана и этана в газовой смеси, если площади хроматографических пиков и поправочные коэффициенты этих компонентов равны, соответственно: 80 мм² и 1,23 мм², 40 мм² и 1,15 мм².

Решение. Массовую долю компонента ω_i (%) в методе внутренней нормализации рассчитывают по формуле:

$$\omega_i(\%) = \frac{K_i \cdot S_i}{\sum_{i=1}^n K_i \cdot S_i} \cdot 100$$

$$\text{Тогда, } \omega(\text{метана}) = \frac{1,23 \cdot 80}{1,23 \cdot 80 + 1,15 \cdot 40} \cdot 100 = 68,14 (\%).$$

$$\omega(\text{этана}) = \frac{1,15 \cdot 40}{1,23 \cdot 80 + 1,15 \cdot 40} \cdot 100 = 31,86(\%)$$

Следует заметить, что при правильном расчете суммарное содержание определяемых компонентов в газовой смеси составляет 100%:

$$68,14 + 31,86 = 100(\%).$$

Задача №5.

Реакционную массу 12,75 г после нитрования толуола проанализировали методом газо-жидкостной хроматографии с применением этилбензола в качестве внутреннего стандарта в количестве 1,25 г. Определить массовую долю (%) непрореагировавшего толуола по следующим данным:

Компонент	Толуол	Этилбензол
Площадь пика, мм ²	307	352
Поправочный коэффициент	1,01	1,02



Решение. В методе внутреннего стандарта массовую долю компонента (ω) рассчитывают по формуле:

$$\omega_i(\%) = \frac{K_i \cdot S_i}{K_{ст.} \cdot S_{ст.}} \cdot \frac{m_{ст.}}{m_{пр.}} \cdot 100(\%)$$

где K_i и $K_{ст.}$ – поправочные коэффициенты определяемого компонента и внутреннего стандарта;

S_i и $S_{ст.}$ – площади хроматографических пиков определяемого компонента и внутреннего стандарта;

$m_{ст.}$ – массы внутреннего стандарта, г.

$m_{пр.}$ – масса анализируемой пробы, г.

Тогда,

$$\omega(\text{толуола}) = \frac{1,01 \cdot 307}{1,02 \cdot 352} \cdot \frac{1,25}{12,75} \cdot 100 = 8,47(\%).$$

Задача №6.

Рассчитать время удерживания и удерживаемый объем компонента, элюирующегося из колонки, имеющей 200 теоретических тарелок, при скорости движения диаграммной ленты 720 мм/ч, если полуширина хроматографического пика составляет 3 мм. Объемная скорость газа-носителя равна 30 мл/мин.

Решение:

1. Число теоретических тарелок (N) связано с полушириной хроматографического пика ($b_{0,5}$) следующей формулой:

$$N = 5,54 \cdot \left[\frac{l_R}{b_{0,5}} \right]^2, \quad \text{т.е.} \quad 200 = 5,54 \cdot \left[\frac{l_R}{3} \right]^2, \quad \text{откуда } l_R = 18 \text{ мм.}$$

2. Рассчитаем время удерживания t_R , зная скорость движения ленты самописца,

$$U_{л} (U_{л} = \frac{720}{60} = 12 \text{ мм/мин}) : \quad t_R = \frac{l_R}{U_{л}}, \quad \text{т.е.} \quad t_R = \frac{18}{12} = 1,5 \text{ мин}$$



3. Зная объемную скорость газа-носителя (F_R), измеренную с помощью расходомера на выходе из колонки, можно вычислить удерживаемый объем компонента (V_R) по формуле:

$$V_R = F_R \cdot t_R, \quad \text{т.е. } V_R = 30 \cdot 1,5 = 45 \text{ (мл)}.$$

Задачи для самостоятельного решения.

1. Через колонку, содержащую 5 г катионита, пропустили 250 мл 0,05 моль/л раствора $ZnSO_4$. Вытекающий из колонки раствор собирали порциями по 50 мл. В каждой порции определяли содержание ионов цинка и получили следующие значения концентраций (моль/л): 1 – 0,016; 2 – 0,058; 3 – 0,076; 4 – 0,100;

5 – 0,100. Вычислить полную динамическую обменную емкость катионита.

2. Через колонку с катионитом в H^+ – форме пропущено 200 мл раствора, содержащего 2,35 г технического медного купороса. На нейтрализацию кислоты в каждой порции фильтрата по 50 мл затрачено 47,5 мл 0,092 моль/л раствора КОН. Определить массовую долю меди в растворенной навеске медного купороса.

3. Через колонку, заполненную катионитом массой 10 г, пропустили 250 мл 0,08 моль/л раствора $CuSO_4$. Выходящие из колонки порции раствора по 50 мл титровали 0,1 моль/л раствором тиосульфата натрия и получили следующие объемы тиосульфата, пошедшие на титрование в мл: 1 – 0; 2 – 12; 3 – 25; 4 – 39,20; 5 – 39,2. Вычислить динамическую обменную емкость катионита по меди.

4. Какая масса кобальта останется в растворе, если через колонку, заполненную 5 г катионита, пропустили 200 мл раствора $CoSO_4$ с концентрацией 0,05 моль/л? Полная динамическая обменная емкость катионита в данных условиях разделения равна 1,6 моль/г.



5. К 75 мл 0,05 моль/л раствора $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ прибавили 5 г катионита в H^+ – форме. После установления равновесия концентрация раствора уменьшилась до 0,008 моль/л. Определить статическую обменную емкость катионита.

6. Из 100 мл анализируемого раствора 10 мл было пропущено через колонку с катионитом в H^+ – форме. Определить, раствор какой соли (NaCl или KCl) подвергался анализу, если на титрование полученного элюата израсходовано 10 мл раствора KOH с концентрацией 0,56 моль/л, а содержание соли в анализируемом растворе составило 74,50 мг.

7. Сколько граммов никеля останется в растворе, если через колонку с 10 г катионита в H^+ – форме пропустили 500 мл раствора $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ с титром, равным 0,01399 г/мл? Полная динамическая обменная емкость катионита в данных условиях разделения равна 5 моль/г.

8. Из 250 мл анализируемого раствора 25 мл было пропущено через колонку с катионитом в H^+ – форме. Определить, раствор какой соли (NaCl или NaNO_3) подвергался анализу, если на титрование полученного элюата пошло 15 мл раствора NaOH с титром, равным 0.0002667 г/мл, а содержание соли в анализируемом растворе составило 58.5 мг.

9. Навеску 2 г образца, содержащего NaNO_3 , растворили в 100 мл воды. 10 мл этого раствора пропустили через колонку с катионитом в H^+ – форме, а элюат оттитровали 15 мл раствора NaOH с концентрацией $4 \cdot 10^{-3}$ г/мл. Рассчитать массовую долю NaNO_3 в образце.

10. 20 мл NaCl из мерной колбы емкостью 200 мл пропустили через катионит КУ-2 в H^+ – форме. Элюат оттитровали 5 мл раствора NaOH с $T(\text{NaOH}/\text{HCl}) = 0.003580$ г/мл. Определить содержание соли в анализируемом растворе.

11. Рассчитать удерживаемый объем вещества, элюирующегося из колонки с 200 теоретических тарелок при скорости движения диаграммной ленты самописца, равной 600 мм/ч, скорости пропускания газа-носителя – 38 мл/мин., и имеющего полуширину хроматографического пика, равную 2 мм.



12. При определении этилового спирта в 15,26 г смеси методом газожидкостной хроматографии в качестве внутреннего стандарта использовали нормальный бутиловый спирт в количестве 1,09 г. Определить массовую долю этилового спирта по следующим данным:

Пик этилового спирта		Пик н-бутилового спирта	
Высота	Полуширина	Высота	Полуширина
35 мм	3 мм	52 мм	2 мм

13. На колонке длиной 3 м расстояние удерживания одного из компонентов равно 20 мм, а полуширина хроматографического пика этого компонента – 4 мм. Рассчитать:

- число теоретических тарелок;
- высоту, эквивалентную теоретической тарелке.

14. Рассчитать массовую долю динитробензола и бензола в смеси по следующим данным, полученным при газохроматографическом определении:

	динитробензол	бензол
Площадь пика, мм ²	305	12
Поправочный коэффициент	1,22	1,07

15. Рассчитать эффективный объем удерживания для пропана по следующим данным газохроматографического анализа:

$L_R = (\text{пропана}) = 10 \text{ мм}$, $F_s = 30 \text{ мл/мин}$, $U_d = 600 \text{ мм/ч}$, $P_i = 2 \text{ атм}$, $t_0 = 3 \text{ с}$.

16. Определить массовую долю метана и этана в газовой смеси по следующим данным, полученным при газохроматографическом анализе:



Компонент	Метан	Этан
Площадь пика, мм ²	207	4
Поправочный коэффициент	1,23	1,15

17. Определить длину хроматографической колонки, если удерживаемый объем одного из компонентов равен 60 мл, а полуширина пика этого компонента – 2 мм. Расход газа-носителя – 30 мл/мин. Высота, эквивалентная теоретической тарелке, равна 2,5 мм. Скорость движения диаграммной ленты – 720 мм/ч.

18. При определении фурфурола в смеси методом газовой хроматографии площадь его пика сравнивали с площадью пика о-ксилола, который вводили в качестве внутреннего стандарта. Для стандартного образца, содержащего 25% фурфурола, и исследуемого образца (массы стандартного и исследуемого образцов одинаковы) получили следующие результаты:

Компоненты	Стандартный образец		Исследуемый образец	
	фурфурол	о-ксилол	фурфурол	о-ксилол
Площадь пика, мм ²	11	25	18,5	22

* Поправочный коэффициент для обоих компонентов принять равным единице. Определить массовую долю (%) фурфурола в исследованном образце.

19. Рассчитать время удерживания компонента, элюирующегося из колонки с 200 теоретических тарелок при скорости движения диаграммной ленты 720 мм/ч, если полуширина хроматографического пика составляет 3 мм.



20. Рассчитать массовую долю компонентов газовой смеси, если значения высоты и полуширины хроматографических пиков бензола, гексана и пропилена равны, соответственно: 90 мм и 2 мм; 80 мм и 3 мм; 120 мм и 3 мм.

4. СПЕКТРАЛЬНЫЕ (ОПТИЧЕСКИЕ) МЕТОДЫ АНАЛИЗА

К оптическим методам анализа относят физико-химические методы, основанные на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом. Это взаимодействие сопровождается явлениями, из которых наиболее важны испускание, поглощение и рассеяние излучения. Возникающие при этом сигналы несут качественную и количественную информацию о веществе. Частота сигнала отражает специфические свойства вещества, его природу, а интенсивность сигнала связана с количеством анализируемого соединения.

Оптические методы включают в себя большую группу спектральных методов анализа. Для наблюдения и исследования получаемых сигналов используются различные физические закономерности. Благодаря этому методы спектроскопии позволяют получать детальную информацию о составе, строении и количественном содержании исследуемых веществ.

Сочетание высокой чувствительности, точности и быстродействия объясняет широкое распространение спектральных методов в биологии, экологии, химии, медицине и других областях знаний.



Оптические методы позволяют получить сведения о строении и свойствах молекул и веществ в целом, они применяются для изучения состояния биообъектов и характера изменений этого состояния в биологических системах (процессы полимеризации, дегградации, связывание с другими молекулами, образование и распад фермент-субстратных комплексов, первичные фотофизические, а также фото- и радиационно-химические процессы с участием неустойчивых лабильных продуктов радикальной природы и т.д.). Спектральные методы анализа основаны на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом. Существуют два случая такого взаимодействия.

В первом из них излучение направляется на вещество и частично им поглощается. Метод анализа, в котором используются спектры поглощения, называется абсорбционной спектроскопией. Другая область спектрального анализа рассматривает собственное излучение вещества, приведенного в возбуждённое состояние каким-либо посторонним источником энергии. В большинстве случаев вещество нагревают в пламени газовой горелки, вольтовой дуги, в плазме электрического искрового разряда. В люминесцентных методах и при изучении комбинационного светорассеяния анализируемое вещество облучают потоком электромагнитных волн, энергия которых превращается во вторичное излучение. Перечисленные методы относятся к эмиссионной спектроскопии.



Основные характеристики электромагнитного излучения

Электромагнитное излучение имеет двойственную природу – оно обладает волновыми и корпускулярными свойствами.

К волновым характеристикам относятся частота колебаний, длина волны и волновое число, к квантовым – энергия квантов.

Частота колебаний (ν) – число колебаний в единицу времени. Единицей частоты служит герц (Гц) или с^{-1} (1 Гц = 1 колебание в секунду).

Длина волны (λ) есть расстояние между соседними максимумами. Длина волны в Международной системе единиц (СИ) измеряется в метрах (м) и его долях - сантиметрах (см), миллиметрах (мм), нанометрах ($1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$), ангстремах ($1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ м}$).

Ещё одной удобной величиной является волновое число (k): $k = 1/\lambda$ [см^{-1}]. Волновое число показывает, сколько длин волн данного излучения укладывается в 1 см.

По сложившейся традиции излучение в инфракрасной области определяют в волновых числах.

Спектр электромагнитных колебаний удобно разбить на несколько областей (табл.1).

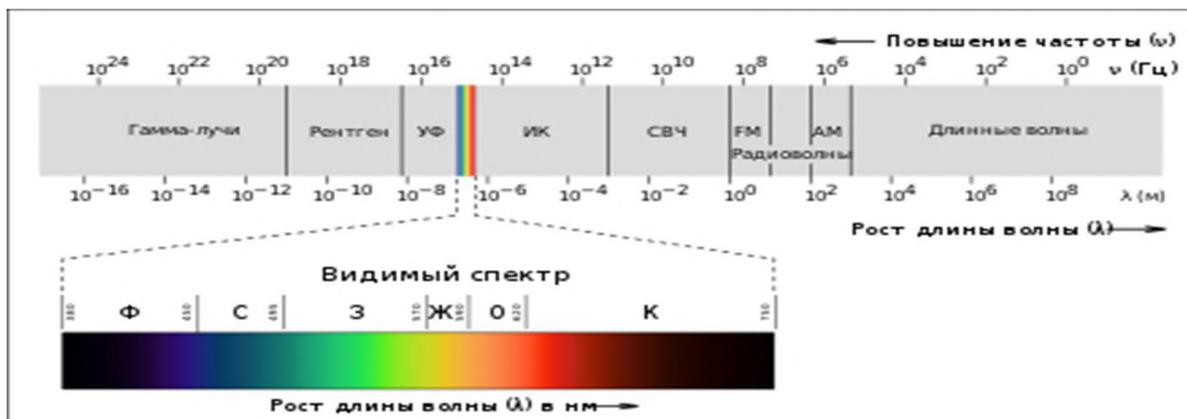
Деление спектра на области важно потому, что взаимодействие излучения с изучаемой системой в каждой из них протекает по различным механизмам и даёт разную информацию.



Таблица 1.

Спектр электромагнитных колебаний

Область спектра	Интервал длин волн (λ)
Радиоволны	> 1 м
Микроволны	$10^{-3} - 1$ м
Инфракрасное излучение	$750 - 10^6$ нм или $7,5 \cdot 10^{-7} - 10^{-3}$ м
Видимый свет	$400 - 750$ нм или $4 \cdot 10^{-7} - 7,5 \cdot 10^{-7}$ м
Ультрафиолетовое излучение	$10 - 400$ нм или $10^{-8} - 4 \cdot 10^{-7}$ м
Рентгеновское излучение	$10^{-2} - 10$ нм или $10^{-11} - 10^{-8}$ м
γ -Излучение	$10^{-4} - 0,1$ нм или $10^{-13} - 10^{-10}$ м



Диапазоны отдельных областей спектра ограничивается либо способом получения излучения, либо возможностями его регистрации. Особо чёткие границы можно установить для видимого света. Протяжённость ультрафиолетовой (УФ) области в сторону более коротких волн резко ограничена: $\lambda = 200$ нм. Ниже этого значения начинается поглощение УФ-излучения воздухом, поэтому исследования в области $\lambda < 200$ нм возможны только в вакууме (так называемый вакуумный ультрафиолет). Границы



между другими областями спектра менее чёткие, и сами эти области частично перекрываются. В отдельных областях спектра используют различные единицы измерения длин волн и частоты. В области радио- и микроволн для измерения частот используют герцы, килоггерцы, мегагерцы. Однако, при частотах выше 10^{12} Гц (инфракрасная область – ИК), точность измерения частот по сравнению с точностью измерения длин волн становится неудовлетворительной. Кроме того, пропорциональность между энергией и величиной, обратной длине волны, позволяет быстро оценить энергетические характеристики, поэтому вместо частоты или длины волны удобнее использовать волновое число.

Поток фотонов с одинаковой частотой называют монохроматическим, с разными частотами – полихроматическим. Обычный наблюдаемый поток излучения от раскалённых тел, в частности солнечный свет, является полихроматическим.

При прохождении излучения через прозрачный слой твёрдого тела, жидкости или газа происходит селективное поглощение излучения с определёнными частотами. Электромагнитная энергия в этом случае передается атомам или молекулам вещества и переводит поглощающие частицы из нормального (основного) состояния в возбуждённое.

Оптические методы анализа основаны на измерении интенсивности потока излучения, прошедшего через вещество, раствор или суспензию вещества, а также отражённого суспензией



вещества. В зависимости от длины волны, способа измерения, ширины полосы измеряемого излучения различают: колориметрию – измерение светового потока, прошедшего через вещество, визуальными способами; фотоколориметрию – измерение светового потока, прошедшего через вещество, фотоэлектрическими способами; нефелометрию – измерение светового потока, рассеянного веществом, визуальными способами; фотонифелометрию – измерение светового потока, рассеянного веществом, фотоэлектрическими способами; спектрофотометрию – измерение монохроматического (определенной длины волны) потока излучения, прошедшего через вещество. В зависимости от длины волны различают спектрофотометрию в ультрафиолетовой (УФ), видимой (В) и инфракрасной (ИК) областях спектра.

Любое вещество способно поглощать световые лучи определенной длины волны. В зависимости от состава вещество может поглощать лучи (определенной длины волны) в ультрафиолетовой, видимой или инфракрасной областях спектра. Вещества, поглощающие один из участков спектра в видимой области, окрашены. Интенсивность поглощения света веществом определяется специфическими свойствами вещества, его концентрацией, толщиной слоя. Взаимосвязь всех этих величин выражается основным законом фотометрии – законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$\lg \frac{I_0}{I} = KCB; \quad D = KCB,$$



где I_0 – интенсивность падающего излучения; I – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; K – специфическая физическая константа вещества; C – концентрация вещества (в растворе); B – толщина слоя вещества. Величина $\lg \frac{I_0}{I}$ называется оптической плотностью и обозначается буквой D . Величина K представляет собой показатель поглощения раствора, концентрация которого равна единице. Если концентрация раствора выражается в моль/л, то K – показатель поглощения одномолярного раствора вещества при толщине слоя 1 см и называется **молярным показателем поглощения** или **экстинкцией**, обозначается ϵ . Если концентрация раствора выражена через массовую долю (в процентах), то K – показатель поглощения раствора, содержащего 1 г вещества в 100 г раствора при толщине слоя 1 см и называется **удельным показателем поглощения** $E_1^{1\%}$.

Если измерена оптическая плотность D , то по закону Бугера-Ламберта-Бера может быть рассчитана концентрация раствора:

$$C = \frac{D}{\epsilon \cdot B} \frac{\text{моль}}{\text{л}} \quad \text{или} \quad \omega = \frac{D}{E_1^{1\%} \cdot B} \%$$

Применяя растворы известной концентрации, из этих же формул можно узнать молярный и удельный показатели поглощения.

В медицине, биологии и сопряжённых областях применяются все виды спектрального анализа, но наибольшее распро-



странение получила спектрофотометрия в видимой и ультрафиолетовой областях, которая применяется в решении самых разнообразных рутинных и научных задач.

Электронная спектроскопия (ультрафиолетовая и видимая области)

Механизм поглощения видимых и ультрафиолетовых лучей

По механизму взаимодействия с веществом видимые лучи близки прилежащей к ней ультрафиолетовой части спектра. Выделение видимой части спектра в самостоятельную область обусловлено субъективными причинами – границами восприятия электромагнитного излучения человеческим глазом.

При поглощении видимых и ультрафиолетовых лучей изменяется энергетическое состояние электронных оболочек атомов и молекул. Спектры поглощения, полученные в этих областях, называются электронными. Поглощение веществом электромагнитных колебаний в ультрафиолетовой и видимой области обусловлено переходом электронов со связующих орбиталей на разрыхляющие орбитали. Такое состояние молекулы называется возбуждённым.

Группировки, вызывающие избирательное поглощение электромагнитного колебания в видимой и ультрафиолетовой частях спектра, называются **хромофорами**. Основными хромофорами, дающими максимум поглощения в области 200-800 нм, являются системы сопряжённых двойных связей. Сопряжённые двойные



связи поглощают кванты излучения с большей длиной волны, чем изолированные двойные связи. Для изолированных кратных связей в используемом для измерений интервале проявляется только переход карбонильной группы C=O ($\lambda_{\text{max}}=270$ нм). В ароматических системах переход электрона в возбуждённое состояние осуществляется также при меньшей затрате энергии, чем в случае изолированной двойной связи. Таким образом, основными хромофорами в УФ-спектроскопии являются сопряженные C=C-связи, карбонильная группа C=O, системы C=C–C=O, ароматическое ядро.

Если плавно изменять длину волны падающего на вещество светового потока, то коэффициент ослабления вещества изменяется по довольно сложной зависимости. Функция, связывающая коэффициент ослабления с длиной волны, называется **спектром поглощения (абсорбции) вещества**.

Спектр поглощения удобен для качественного анализа и идентификации, и может претендовать на роль своеобразного паспорта вещества. Практически нет случаев, чтобы различные по химическому строению вещества имели полностью совпадающие спектры. УФ-спектр органического вещества характерен, т.к. поглощение определяется только собственно хромофором и его ближайшим окружением, т.е. один и тот же хромофор проявляется практически одинаково как в исключительно простых, так и самых сложных молекулах.



В зависимости от непосредственного окружения одной и той же хромофорной группировки положение максимума поглощения в УФ-спектрах различных соединений может несколько меняться. Введение в молекулу различных заместителей или изменение внешних условий, например растворителя, обычно вызывает сдвиг полосы поглощения. Сдвиг максимума в сторону более длинных волн принято называть батохромным сдвигом (обусловлен наличием атома галогена, гидрокси-, амино-, алкильных групп), а сдвиг в сторону более коротких волн – гипсохромным (например, образование водородной связи с растворителем).

УФ-спектр в большинстве случаев представляет собой кривую с одним пологим максимумом (рис. 14).

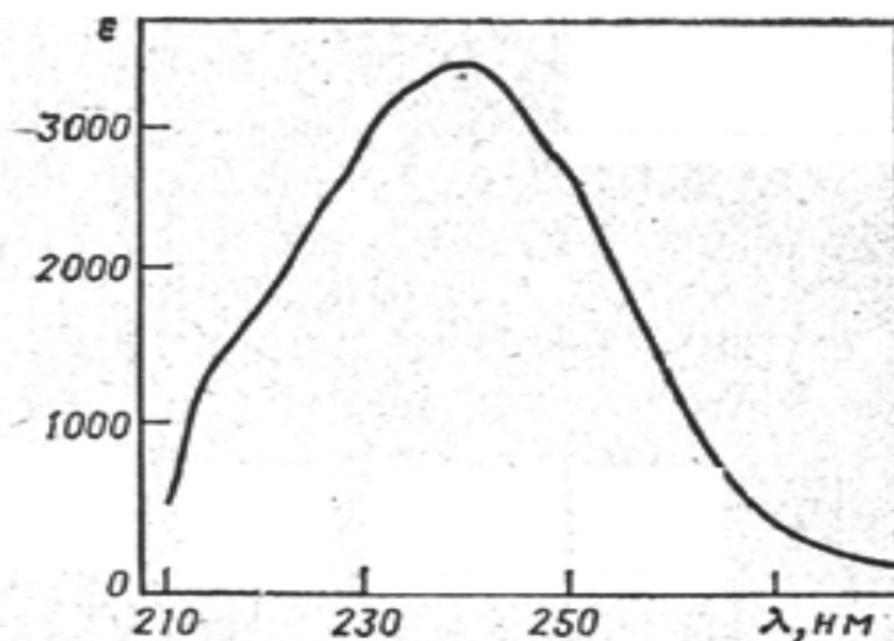


Рис. 14. УФ-спектр циклопентадиена.

Обычно УФ-спектр характеризуют длиной волны, при которой наблюдается максимум поглощения, и молярным коэффициентом ослабления в этом максимуме. Например, спектр циклопентадиена (рис. 14) может быть передан записью: λ_{\max} (в гексане) 240 нм (ϵ 3400). УФ-спектр вещества может иметь несколько максимумов поглощения, каждый из которых соответствует различным типам электронных переходов. В этом случае при цифровой записи спектра перечисляются длины волн максимумов поглощения и в скобках приводятся значения “ ϵ ”, соответствующие данному максимуму.

Молярный коэффициент ослабления для каждого поглощающего в УФ-области вещества при данной длине волны в одном растворителе имеет строго постоянное значение (справочные данные).

УФ-спектры для целей качественного анализа используются нечасто, так как они обычно бывают представлены небольшим числом широких полос поглощения, которые часто накладываются одна на другую и полностью или частично перекрываются. Однако по УФ-спектрам часто удаётся провести эффективный анализ качественного состава вещества: определить в исследуемом соединении наличие или отсутствие группировки-хромофора.

В то же время УФ-спектроскопия дает возможность для количественного анализа веществ. Для этого записывают спектр по-



глощения анализируемого вещества при одной концентрации, выбирают максимум поглощения. Если в спектре имеется несколько полос, выбор обычно останавливается на наиболее интенсивной, так как работа в области максимума светопоглощения обеспечивает наиболее высокую чувствительность определения. Далее делают несколько разведений и при выбранном одном максимуме поглощения снимают значения абсорбции вещества. Строят калибровочную кривую, затем измеряют величину оптической плотности анализируемого раствора и по графику определяют неизвестную концентрацию (рис. 15).

Поскольку измерение оптической плотности раствора вещества производится на волне максимума поглощения, это обстоятельство позволяет проводить количественный анализ раствора, содержащего сразу несколько веществ, имеющих различные длины волн максимумов поглощения.

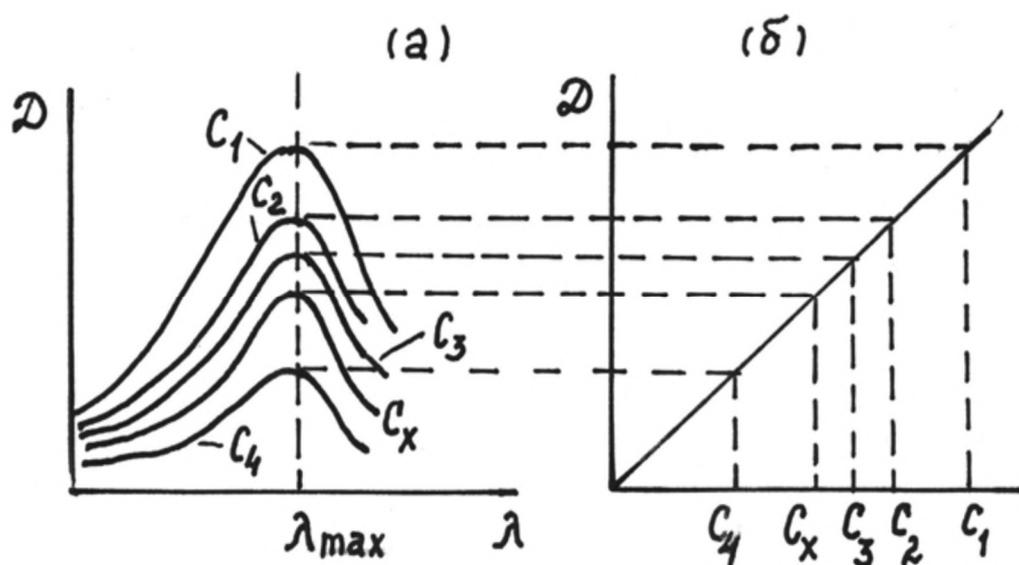


Рис. 15. Построение калибровочной кривой (б) по спектрам поглощения (а).



Цвет растворов, поглощающих в видимой области, зависит от положения главной полосы поглощения в спектрах. Окраска в проходящем солнечном свете является результатом избирательного поглощения веществом отдельных участков спектра. Выходящий световой поток имеет иной световой баланс, отличающийся от соотношения цветов в падающем световом потоке. Окраска придаётся раствору теми составляющими белого света, которые менее других поглотились веществом. Понятно, что красный раствор пропускает красные, а поглощает лучи другого цвета, в результате доля красных лучей в выходящем световом потоке увеличивается. Такие цвета называются дополнительными (табл. 2).

Таблица 2.

Цвет раствора	Область максимального поглощения, нм	Дополнительный цвет (цвет светофильтра)
Жёлто-зеленый	400-450	Фиолетовый
Жёлтый	450-480	Синий
Оранжевый	480-490	Зелёно-синий
Красный	490-500	Сине-зелёный
Пурпурный	500-560	Зелёный
Фиолетовый	560-575	Желто-зеленый
Синий	575-590	Жёлтый
Зелено-синий	590-625	Оранжевый
Сине-зеленый	625-700	Красный



Раствор перманганата калия окрашен в красный цвет, он поглощает зелёные лучи, и его полоса поглощения лежит в области 440–650 нм. Дихромат калия, согласно установленному соотношению, поглощает фиолетовые лучи, т.е. область, близкую 400 нм.

В приборах для определения абсорбции вещества (фотоэлектроколориметрах) имеется наборы светофильтров, выделяющих узкие интервалы видимого спектра. Для определения величины светопоглощения растворов необходимо выбрать светофильтр, пропускающий те лучи, которые всего сильнее поглощаются анализируемым веществом. Чтобы правильно выбрать светофильтр, необходимо определить абсорбцию раствора на каждом светофильтре. Цвет светофильтра должен соответствовать области максимального поглощения раствора. Окраска раствора и цвет светофильтра относятся друг к другу, как дополнительные цвета.

Таким образом, для анализа растворов KMnO_4 требуется зелёный светофильтр, а для $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ – фиолетовый.

Метод спектроскопии в УФ- и видимой областях спектра обычно называют **спектрофотометрией**. В зависимости от типа абсорбционных спектральных приборов различают **фотометрический** и **спектрофотометрический** методы.

Определение концентрации по закону Бера называется анализом по собственному поглощению.

Анализ веществ с низким молярным коэффициентом ослабления во многих случаях имеет недостаточную чувствительность,



а неокрашенные вещества, такие как вода, бензол, вообще нельзя определять по собственному поглощению в видимой части спектра, так как коэффициент ослабления близок к нулю.

Неокрашенные соединения составляют основную часть органических и неорганических веществ, поэтому колориметрический анализ по собственному поглощению в видимой области имеет ограниченное применение. Для расширения круга веществ, которые можно анализировать в видимой области, используют специальные реагенты.

В фотоэлектроколориметрах световые потоки, проходящие через кюветы с растворами, имеют широкую полосу спектра (40-80 нм), поэтому свет здесь не является монохроматическим.

Более точные данные получаются на спектрофотометрах, в которых световой поток, проходящий через кювету, монохроматичен, т.е. имеет одну длину волны.

Вопросы для самоконтроля.

1. Сформулируйте первый закон светопоглощения (закон Бугера -Ламберта).
2. Сформулируйте второй закон светопоглощения (закон Бугера- Беера).
3. Дайте формулировку объединенного основного закона светопоглощения (закон Бугера –Ламберта- Беера-Бернара).
4. Каковы причины кажущихся отклонений от закона Бугера – Ламберта- Беера?



5. Сформулируйте связь между коэффициентом пропускания и оптической плотностью .
6. Какой фактор не влияет на молярный коэффициент поглощения?
7. В каких случаях сохраняется линейная зависимость оптической плотности от концентрации?
8. Какие процессы лежат в основе возникновения аналитического сигнала в методе молекулярно- абсорбционного анализа в УФ и видимой областях спектра?
9. Можно ли по цвету вещества предсказать его спектр поглощения в видимой и УФ- области? И наоборот – можно ли по спектру вещества предсказать его цвет? Приведите примеры для обоснования своего ответа.
10. Обсудите возможности применения метода спектрофотометрии в видимой и УФ-области для качественного анализа химических соединений и их смесей. Возможно ли применить этот метод, например, для анализа смеси алифатических спиртов? Смесей алифатических кетонов?
11. Что вы можете сказать об использовании метода спектрофотометрии в видимой и ультрафиолетовой области для анализа примесей в веществе? Можно ли таким способом определить процентное содержание воды в спирте? От чего зависит чувствительность этого метода и как ее можно повысить? Приведите другие примеры.
12. Как изменится оптическая плотность и пропускание раствора при увеличении толщины светопоглощающего слоя?



13. Укажите физический смысл молярного коэффициента поглощения.
14. Что такое максимум поглощения?
15. Что является основной характеристикой величины поглощения среды (раствора) при данной длине волны?
16. Какому требованию должен удовлетворять реагент, используемый при спектрофотометрическом определении?
17. Что используют в качестве раствора сравнения в дифференциальном спектрофотометрическом методе в случае соблюдения основного закона светопоглощения?
18. Дайте характеристику спектрофотометрии и фотометрического титрования. Что позволяет повысить точность титрования в методе спектрофотометрии по сравнению с химическими методами количественного анализа?

Эталоны решения задач

Задача 1.

Светопропускание исследуемого раствора равно 80%.

Вычислить оптическую плотность этого раствора.

Решение.

Вычисление проводится по формуле:

$$A = -\lg T = -\lg 0,8 = 0,097$$

Задача 2.



Коэффициент молярного поглощения KMnO_4 при длине волны 546 нм равен 2420. Оптическая плотность исследуемого раствора в кювете толщиной слоя 2 см равна 0,80. Чему равен $T(\text{KMnO}_4/\text{Mn}^{+2})$, г/мл?

Решение.

Можно вычислить молярную концентрацию KMnO_4 из уравнения:

$$C(\text{KMnO}_4) = \frac{A}{\epsilon_{\lambda} \cdot l} = \frac{0,8}{2420 \cdot 2} = 1,65 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л,}$$

$$T(\text{KMnO}_4/\text{Mn}^{+2}) = \frac{C(\text{KMnO}_4) \cdot A(\text{Mn}^{+2})}{1000} = \frac{1,65 \cdot 10^{-4} \cdot 55}{1000} = 9,07 \cdot 10^{-6} \text{ г/мл,}$$

Где $C(\text{KMnO}_4)$ – молярная концентрация раствора, $A(\text{Mn})$ – относительная атомная масса марганца.

Задача 3.

Рассчитать минимально определяемую массу (в мг) Fe^{+3} по реакции с сульфосалициловой кислотой в аммиачной среде при использовании кюветы с толщиной слоя 5 см; объем окрашенного раствора равен 5мл; коэффициент молярного поглощения равен 4000; минимальная оптическая плотность, измеряемая прибором, составляет 0,01.

Решение.

Минимально определяемую концентрацию можно определить из уравнения

$$C_{\min} = \frac{A}{\epsilon_{\lambda} \cdot l}$$

подставив в него данные из условия задачи:



$$C_{\min} = \frac{0,011}{4000 \cdot 5} = 5 \cdot 10^{-7} \text{ моль/л}$$

Минимальную навеску определяют по уравнению $m = nM$,

где m – масса вещества, г;

A_r – относительная атомная масса, г/моль;

n – количество вещества;

$n = CV$, отсюда

$$m_{\min}(Fe^{3+}) = 55,85 \cdot 5 \cdot 10^{-7} \cdot 5 \cdot 10^{-3} = 1,396 \cdot 10^{-4} \text{ мг}.$$

Задача 4.

Навеску никель-титаново-кобальтового стоматологического сплава массой 0,25 г растворили в смеси кислот. Раствор разбавили в мерной колбе вместимостью 100 мл. К 25 мл полученного раствора добавили для определения титана пероксид водорода, фосфорную кислоту, разбавили до 50 мл. Оптическая плотность полученного желтого раствора равна 0,22. К другой порции 25 добавили раствор, содержащий 0,2 мг титана, и обработали аналогично первому раствору. Оптическая плотность этого раствора оказалась равной 0,5. Чему равна массовая доля титана в сплаве?

Решение.

В данном случае для определения массы титана использован метод добавок. В соответствии с основным законом светопоглощения можно записать два уравнения:



$$A_x = \varepsilon \cdot C_x \cdot l; \quad A(X+C_{cm}) = \varepsilon \cdot (C_x + C_{cm}) \cdot l$$

Поскольку ε и l не изменяются при измерениях первого и второго растворов, можно определить C_x (фактически это будет число, показывающее, сколько миллиграммов титана содержится в анализируемой пробе):

$$\frac{0,22}{0,5} = \frac{C_x}{C_x + 0,220} \quad ; \quad C_x = 0,1571 \text{ мг}$$

Поскольку для анализа взята аликвотная часть, равная $\frac{1}{4}$ от всей пробы, содержание титана равно

$$m(\text{Ti}) = 0,1571 \cdot 4 = 0,629 \text{ мг.}$$

Массовую долю титана можно определить из пропорции:

$$\begin{aligned} 0,25 \cdot 10^3 & - 100\% \\ 0,629 & - W_{\text{Ti}} \\ W_{\text{Ti}} & = \frac{0,629 \cdot 100}{250} = 0,25\% \end{aligned}$$

Задача 5.

Для определения никеля в катализаторе гидрирования жиров навеску катализатора, равную 0,215 г, растворили, довели до метки в мерной колбе вместимостью 200 мл. К 10 мл этого раствора добавили тартрата калия-натрия, аммиак, персульфат аммония, диметилглиоксим, подогрели в течение 5 минут, охладили. По градуировочному графику определили, что в анализируемом растворе содержится 2,1 мг никеля. Определить массовую долю никеля в катализаторе.



Решение.

По результатам измерений найдено, что в $\frac{1}{20}$ части пробы содержится 2,1 мг никеля. Следовательно, во всей пробе содержание никеля равно

$$m_{Ni} = 20 \times 2.1 = 42 \text{ мг}$$

Массовую долю никеля можно определить из пропорции:

$$215 \text{ мг} - 100\%$$

$$42 \text{ мг} - W_{Ni}$$

Задачи для самостоятельного решения.

1. Переведите данные измерения пропускания в оптические плотности:

а) 19,4%; б) 0,863; в) 27,2%; г) 4,51%; д) 0,1; е) 79,8%

2. Пользуясь приведенными данными, рассчитайте недостающие в таблице величины:

Оптическая плотность A	Молярный коэффициент поглощения ϵ	Толщина слоя, см	концентрация
0,547		1,0	$3,64 \cdot 10^{-5}$ моль/л
	$3,69 \cdot 10^3$	2,5	$6,51 \cdot 10^{-5}$ моль/л
0,229	$2,96 \cdot 10^3$		$3,86 \cdot 10^{-5}$ моль/л
0,477	$6,12 \cdot 10^3$	1,0	



3. Пропускание раствора с концентрацией 10 моль/л вещества, измеренное в кювете длиной 1.3 мл равно 22%. Рассчитайте коэффициент поглощения вещества.

4. Пропускание раствора KMnO_4 с концентрацией 4.48 моль/л, измеренное в кювете длиной 1 см при 520 нм, равно 0,309. Рассчитайте молярный коэффициент поглощения.

5. Какое соединение - $\text{Co}(\text{SCN})_4$ ($\epsilon_{620}=10^3$) или $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ ($\epsilon_{530}=10$) следует выбрать для определения «следов» ($\sim 10^{-4}$ моль/л) Co^{+2} ?

6. Определить содержание меди (%) в 10 граммах образцах, 1 грамм которого растворили в мерной колбе вместимостью 100 мл. Оптическое поглощение полученного раствора в кювете с толщиной слоя 3 см составило 0,675, а $\epsilon = 4.5 \cdot 10^4$.

7. Пропускание раствора с концентрацией 3,75 мг в 100 мл, измеренное в кювете длиной 1,5 см при 480 нм, равно 39.6%. Рассчитайте молярный коэффициент поглощения этого вещества.

8. Молярный коэффициент поглощения комплекса Vi^{+3} с тиомочевинной равен $9,3 \cdot 10^3 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$ при 470 нм.

а) какова оптическая плотность $6.2 \cdot 10^{-5}$ моль/л раствора комплекса,

измеренная при 470 нм в кювете длиной 1 см?

б) каково пропускание этого раствора в процентах?



с) какова должна быть концентрация комплекса в растворе, чтобы оптическая плотность равнялась найденной в п.(а) при 470 нм и толщине слоя 5 см?

9. Молярный коэффициент поглощения комплекса $[\text{FeSCN}^{2+}]$ при 580 нм (в максимуме поглощения) равен $7.0 \cdot 10^3 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$.

Рассчитайте:

а) оптическую плотность $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ раствора комплекса, измеренную

при 580 нм в кювете длиной 1 см,

б) оптическую плотность раствора с концентрацией в два раза большей,

чем в п.(а),

в) пропускание растворов с концентрацией, указанной в п.(а) и (б),

г) оптическую плотность раствора с концентрацией в два раза меньшей, чем в п.(а).

10. К аликвотной части 25 мл раствора, содержащего 3,8 г/мл Fe^{+3} , добавили избыток KSCN и разбавили до конечного объема 50 мл. Какова оптическая плотность полученного раствора, измеренная при 580 нм в кювете длиной 2,50 см? Молярный коэффициент поглощения равен $7.00 \cdot 10^3 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$.

11. Zn^{+2} с лигандом L образует продукт, сильно поглощающий при 600 нм. При пятикратном и большем избытке L оптическая плотность зависит только от концентрации катиона. Ни Zn^{+2} , ни L не поглощают при 600 нм. Оптическая плотность раствора,



содержащего $1,6 \cdot 10^{-4}$ моль/л Zn^{+2} и $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л L, измеренная в кювете длиной 1 см при 600 нм, равна 0,464.

Рассчитайте:

- а) пропускание этого раствора в процентах;
- б) пропускание этого раствора в процентах при толщине слоя 2,50 см;
- в) толщину слоя, необходимую для уравнивания оптической плотности раствора (а) с оптической плотностью раствора с концентрацией комплекса $4,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л и толщиной слоя 3 см.

12. Рассчитайте средний молярный коэффициент поглощения ϵ ($л \cdot см^{-1} \cdot моль^{-1}$), для кислых и водных растворов $KMnO_4$ при $\lambda=528$ нм по следующим значениям молярной концентрации c и оптической плотности A растворов ($l=1.0$ см).

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

13. Молярный коэффициент поглощения $KMnO_4$ при $\lambda=546$ нм равен 2420. Оптическая плотность исследуемого раствора в кювете толщиной слоя 2 см равна 0,80. Чему равен, T ($KMnO_4 / Mn^{+2}$), г/мл?

14. Рассчитайте минимальную определяемую массу (мг) Fe^{+3} по реакции с сульфосалициловой кислотой в аммиачной среде при использовании кюветы с толщиной слоя 5 см, объем окрашенного раствора объемом 5,0 мл, молярный коэффициент поглощения равен 4000, минимальная оптическая плотность, измеряемая прибором, составляет 0,01.



15. Молярный коэффициент поглощения лекарственного препарата ретинола ацетата ($C_{22}H_{32}O_2$) в спиртовом растворе равен $\epsilon=50900$ при $\lambda=326$ нм. Рассчитайте оптимальную концентрацию в г/л ретинола ацетата в спиртовом растворе, если $l=1$ см.
16. Вычислите молярный коэффициент поглощения комплекса меди, если оптическая плотность раствора, содержащего 0,4 мг меди в 250 мл при $l=1$ см равна 0,15.
17. Молярный коэффициент поглощения свинца с дитизоном при $\lambda=485$ нм равен $6,8 \cdot 10^4$. Чему равна оптическая плотность раствора, содержащего 3 мкг PbO_2 в 5 мл при измерении в 1-сантиметровой кювете?
18. Навеску стоматологического сплава, содержащего Ni, Ti, Co, массой 0,25 г растворили в смеси кислот, раствор разбавили в мерной колбе вместимостью 100 мл. К 25 мл полученного раствора добавили для определения титана пероксид водорода, фосфорную кислоту, разбавили до 50 мл. Оптическая плотность, полученного желтого раствора равна 0,22. К другой порции 25 мл добавили раствор, содержащий 0,2 мг титана, и обработали аналогично первому раствору. Оптическая плотность этого раствора оказалась равна 0,5. Чему равна массовая доля титана в сплаве?
19. Рассчитать концентрацию Fe^{+3} в исследуемом растворе по следующим данным фотометрического определения его с сульфосалициловой кислотой (при 416 нм) и кювете 2 см (исследуемый и стандартный раствор подготавливали для фотометрирования в



одинаковых условиях). Стандартный раствор с концентрацией 2,0 моль/л имел оптическую плотность 0,285; раствор с концентрацией 4,0 моль/л – 0,56. Оптическая плотность исследуемого раствора равнялась 0,45. Рассчитать молярный коэффициент светопоглощения окрашенных растворов, полученных при данных условиях.

20. Рассчитать концентрацию раствора, содержащего Fe^{+3} , по следующим данным и условиям фотометрического определения. К 1 мл раствора добавлен ацетон, раствор роданида аммония и вода до 100 мл. Фотометрирование проводилось в кювете 2 см. Оптическая плотность (при 480 нм) окрашенного раствора равнялась 0,75. Молярный коэффициент светопоглощения при данных условиях равняется 14000.

21. Из 10 кг руды получено (после отделения SiO_2 , выделения фосфата алюминия и растворения последнего в азотной кислоте) 200 мл азотнокислого раствора, содержащего фосфат-ионы.

К 20 мл этого раствора добавлен молибдат аммония, ванадат аммония и вода до 50 мл. Полученный раствор желтого цвета фотометрировали с синим светофильтром (400-480 нм). Оптическая плотность этого раствора (в кювете 2 см) равнялась 0,64.

К 20 мл стандартного раствора KH_2PO_4 , содержащего 0,025 мг фосфора в 1 мл, добавили раствор молибдата аммония и воды до 50 мл. Оптическая плотность этого раствора равна 0,60 (при кювете 2 см).

Рассчитать содержание фосфора в руде.



22. При колориметрическом титровании Fe^{3+} в присутствии салициловой кислоты 0.1 моль/л раствором Na-ЭДТА при pH=2.4 были получены следующие данные:

V, мл	0	2.0	4.0	8.0
		6.0		
D525	0,71	0.45	0.19	0
	0			

Рассчитать количество Fe^{3+} в растворе.

23. Пропускание раствора с концентрацией вещества 3,2 мг Al в 100 мл, измеренное при 480 нм в кювете с $l = 2$ см, равно 34,6%. Рассчитайте молярный коэффициент поглощения этого вещества.

24. Коэффициент молярного поглощения комплекса $[\text{FeSCN}^{2+}]$ при 580 нм равен $6 \cdot 10^3$. Рассчитайте оптическую плотность $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л раствора комплекса, измеренную при 580 нм в кювете с $l = 2$ см.

25. Коэффициент молярного поглощения комплекса бериллия с ацетилацетоном в CHCl_3 при 290 нм равен 30000. Какое минимальное содержание бериллия (в%) можно определить в навеске 1 г, растворенной в 50 мл в кювете с $l = 5$ см, если минимальное значение оптической плотности, которое с удовлетворительной точностью можно измерить на ФЭК-М, равно 0,02?

В окрашенном соединении соотношение бериллия и ацетилацетона равно

1:1.

26. Навеску стали 1,2 г растворили в кислоте и разбавили раствор водой до 50 мл. Из 5 мл этого раствора после соответствующей обработки было получено 100 мл окрашенного раствора. Оптическая



плотность этого раствора оказалась равной 0,12. Из стандартного раствора, содержащего 0,1124 г. $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в 100 мл раствора, были отобраны указанные ниже объемы и после обработки фенолгидразином и разбавлении до 100 мл получены следующие оптические плотности:

V, мл	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Оптическая плотность	0,05	0,11	0,16	0,21	0,25

Вычислить массовую долю молибдена в стали (в %).

27. Для определения меди в сплаве из навески 0,3 г после растворения и обработки аммиаком было получено 250 мл окрашенного раствора, оптическая плотность которого в кювете с толщиной слоя 1 см была 0,250. Определить массовую долю меди в сплаве (в %); коэффициент молярного поглощения аммиаката меди равен 400.
28. Коэффициент молярного поглощения окрашенного комплекса никеля с α -бензоилдиоксимом при 406 нм равен 12500. Какую минимальную концентрацию никеля можно определить фотометрически в кювете с $l=0,5$ см, если минимальная оптическая плотность, регистрируемая прибором, равна $\approx 0,02$?
29. При фотоколориметрическом определении Fe^{3+} методом сравнения оптическая плотность стандартного раствора, содержащего 0,1750 мг Fe^{3+} равна 0,248. Какова массовая доля железа в сплаве, если навеску его, равную 0,2 г., растворили в 100 мл; для анализа отобрали 0,5 мл раствора, оптическая плотность полученного раствора после добавления всех реактивов равна 0,2?



30. Коэффициент молярного поглощения комплексного соединения алюминия с ализарином ϵ равен $1,6 \cdot 10^4$ при $\lambda = 485$ нм. Какую кювету следует выбрать для фотометрирования, чтобы оптическая плотность раствора была не менее 0,3 при содержании алюминия 10^{-5} моль/л в фотометрируемом растворе?

33. Коэффициент молярного поглощения свинца с дитизоном при $\lambda = 485$ нм равен $6,8 \cdot 10^4$. Чему равна оптическая плотность раствора, содержащего 3 мкг PbO_2 в 5 мл при измерении в 1-сантиметровой кювете?

31. Для определения в сточной воде суммарного содержания тяжелых металлов (свинец, медь, кадмий и т.д.) их извлекают из воды в виде дитизонатных комплексов четыреххлористым углеродом, далее, после удаления избытка дитизона, обрабатывают солью Hg^{2+} для перевода в дитизонат ртути, который фотометрируют. Оптическая плотность дитизоната ртути, полученного обработкой 500 мл воды, равна 0,110 при $\lambda = 485$ нм. 500 мл стандартного раствора, содержащего 2 мл $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ с $T = 0,00001542$ г/мл, провели через все стадии анализа аналогично исследуемому раствору. Оптическая плотность его оказалась равной 0,28. Каково суммарное содержание тяжелых металлов в сточной воде (в моль/л)?



Рекомендуемая литература :

1. Золотов Ю.А. Аналитическая химия : проблемы и достижения / Ю.А. Золотов Ю.А . М.: Наука,1992.
2. Золотов Ю.А. История и методология аналитической химии / Ю.А. Золотов , В.И. Вершинин. – М.: Издательский центр «Академия», 2007.
3. Основы аналитической химии : в 2 т. / под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Издательский центр «Академия», 2010.
4. Аналитическая химия. Качественный анализ. Титриметрия. Сборник упражнений:учебное пособие / Ю.Я. Харитонов, Д.Н. Джабаров. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2015.
5. Крешков А.П. Основы аналитической химии : в 3 кн. / А.П. Крешков. М.: Химия. 1965.
6. Аналитическая химия. Физические и физико-химические методы анализа : учеб. Для вузов / под ред. О.М. Петрухина. – М. : Химия, 2001.
7. Яшин Я.И. Физико- химические основы хроматографического разделения / Я.И. Яшин. - : Химия, 1976.
8. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии : в 2 ч. / под ред. Э. Лебница, Х.Г. Штруппы. - : Мир, 1988.
9. Аналитическая хроматография / К.И. Сакодыский и др. М.: Химия, 1993.



10. Васильев В.П. Теоретические основы физико-химических методов анализа / В.П.Васильев. – М. : Высш. шк., 1979.
11. Плэмбек Дж. Электрохимические методы анализа / Дж. Плэмбек ; пер. с английского Б.С. Кохана; под ред. С.Г. Майрановского. - : Мир, 1985.
12. Агасян П.К. Кулонометрический метод анализа / П.К. Агасян, Т.К. Хамракулов. – М.: Химия, 1984.
13. Агасян П.К. Основы электрохимических методов анализа (потенциометрический метод / П.К. Агасян, Е.Р. Николаева. – М. : Изд-во МГУ, 1986.
14. Берштейн И.Я. Спектрофотометрический анализ в органической химии / И.Я. Берштейн, Ю.Л. Каминский. – Л.: Химия, 1986.
15. Короткова Е.И., Гиндуллина Т.М., Дубова Н.М., Воронова О.А. Физико-химические методы исследования и анализа. Томск: Изд-во Томского политехнического университета. 2011. 12. Практикум по инструментальным методам анализа / под ред. Д. А. Князева, изд. МСХА, 1990.
16. В.Н. Казин, Г.А. Урванцева. Физико-химические методы исследования в экологии и биологии. Учебное пособие / Яросл. гос. ун-т. 2002.
17. Общая химия: в 4-х ч/ Под ред. А.С. Берлянда. Ч 2. Учебное пособие. М.: МГМСУ. 2007.



18. Общая химия: в 4-х ч/ Под ред. А.С. Берлянда. Ч 4. Учебное пособие. М.: МГМСУ. 2011.

19. Проблемы аналитической химии: Проточный химический анализ / под ред. Ю.А. Золотова – М.: Наука, 2014. – Т. 17. – 428 с.

20. Flow Injection Analysis. A practical guide. / Bo. Carlberg and G.E. Rasey – Elsevier.1989. 371 pp.

21. Тыжигирова, В. В. Анализ органических соединений из класса альдегидов и кетонов : учеб. пособие / В. В. Тыжигирова.- Иркутск : ИГМУ, 2017. – 29с.

22. Афанасьев А.В., Белова Е.В., Герман К.Э., Жуков А.Ф., Копытин А.В., Легкодимова Н.С. Химические и физико-химические методы исследования в медицине и биологии: Учебное пособие / РХТУ им. Д.И. Менделеева. Москва, Издательство «Граница», 2019, 148 с.

23. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. М.: Просвещение, 1975. С. 45-60.

24. Гааль Г., Медьеша Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. М.: Мир, 1982. 446 с.

25. Маурер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971. 247 с.

25. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот (электрофорез и центрифугирование). М.: Наука, 1981. 279 с.



26. Коничева А.П., Егорова Т.А., Филиппович Ю.Б. Изучение разнообразия белков гемолимфы различных пород тутового шелкопряда методом электрофореза в полиакриламидном геле // Биохимия насекомых. М.: Наука, 1975. С. 141-156.

27. В. Элиот, Д. Элиот. Биохимия и молекулярная биология, «Наука», 2010, 400 с.



Для заметок



**Афанасьев Андрей Викторович
Белова Елена Владимировна
Герман Константин Эдуардович**

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В МЕДИЦИНЕ

Компьютерный дизайн: Белова Е.В.

Подписано в печать 23.11.2022 г. Формат 60x84/16. Бумага тип.
Усл. печ. л. 37,2. Уч.-изд. л. 37,9. Тираж 400 экз. Заказ № № 1477

Оригинал-макет подготовлен в «Издательский дом «Граница»
Москва, ул. 1905 года, д. 7, стр. 1
granica_publish@mail.ru.
телефоны: +7 (499) 259-88-13 , +7 (495) 971-00-75

