

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Кафедра фундаментальной и клинической биохимии

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ (ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ) МЕТОДЫ АНАЛИЗА

**Учебно-методическое пособие
для самостоятельной аудиторной и внеаудиторной работы
студентов фармацевтического факультета**

**Краснодар
2015**

УДК 543.4/.5(075.8)
ББК 24.4я73
Ф50

Составители: сотрудники кафедры фундаментальной и клинической биохимии
ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России
доцент Л.В. Ненашева, ассистент Т.Г. Юдина.

Под редакцией профессора, д.п.н. Т.Н. Литвиновой.

Рецензенты:

- Профессор кафедры химии, метрологии и стандартизации ФГБОУ ВПО КубГТУ, д.х.н. О.Е. Рувинский
- Зав. кафедрой фармации ГБОУ ВПО КубГМУ, профессор, д.ф.н. А.М. Сампиев

Ненашева Л.В., Юдина Т.Г.

Физико-химические (инструментальные) методы анализа: учебно-методическое пособие / сост. Л.В. Ненашева, Т.Г. Юдина. – Краснодар: ГБОУ ВПО КубГМУ. – 95 с.

ISBN 978-5-99-06-786-0-6

В учебно-методическом пособии представлены материалы по физико-химическим (инструментальным) методам аналитической химии,

Учебно-методическое пособие составлено в соответствии с требованиями ФГОС ВПО по направлению подготовки (специальности) 060301 Фармация, предназначено для студентов фармацевтических институтов и фармацевтических факультетов медицинских вузов,

Рекомендованы к изданию ЦМС ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России
протокол № 8 от 6 апреля 2015 г.

ISBN 978-5-99-06-786-0-6

© Ненашева Л.В., Юдина Т.Г., 2015

Предисловие

Цели и функции данного пособия:

- информационная, заключающаяся в ознакомлении студентов с широким спектром современных инструментальных методов анализа;
- дидактическая, направленная на обучение студентов принципам и методам физико-химического анализа;
- практическая, связанная с формированием умений и навыков работы в области инструментального анализа;
- методическая, состоящая в оказании помощи студентам в освоении сложного учебного материала;
- аксиологическая, направленная на формирование ценностного отношения к знаниям и умениям в области ФХА.

Данное пособие включает: список основной и дополнительной литературы, краткую теоретическую часть, обучающие задачи, задачи для самостоятельного решения, учебно-исследовательские лабораторные работы, контрольные вопросы, расчетные формулы, справочный материал.

Краткие теоретические основы метода помогают понять его сущность.

Контрольные вопросы ориентируют студентов в большом информационном материале.

Введение

Фармацевтические препараты представляют собой сложные химические системы как неорганической, так и органической природы, и при их анализе используется широкий спектр методов аналитической химии.

Химия в интеграции с физикой владеет мощнейшим инструментарием практических методов исследования, совершившим в последние десятилетия, без преувеличения, переворот в медицине, фармации.

К физико-химическим методам анализа относятся методы анализа, основанные на зависимости физической характеристики веществ (светопоглощения, светопреломления, электрической проводимости, теплопроводности и т.д.) от их химического состава.

Последнее издание Государственной Фармакопеи (ГФ XI) включает в себя не только классические химические методы определения подлинности препаратов и их количественного содержания (гравиметрия, титриметрия), но в ней также широко представлены современные инструментальные методы анализа – электрохимические (потенциометрия, ионометрия, полярография, амперометрия), спектральные и оптические (фотометрия, флуориметрия, рефрактометрия, ЯМР, ИК и атомно-абсорбционная спектроскопия), хроматографические (тонкослойная, ионообменная, газовая, высокоэффективная жидкостная).

Важное практическое значение имеют методы, основанные на исследовании испускания и поглощения электромагнитного излучения в различных областях спектра. К ним относится спектроскопия (*люминесцентный анализ, спектральный анализ*), *нефелометрия и турбидиметрия* и др. К важным физико-химическим методам анализа принадлежат электрохимические методы, использующие измерение электрических свойств вещества (*вольтамперометрия, кондуктометрия, кулонометрия, потенциометрия* и т. д.), а также *хроматография (газовая хроматография, жидкостная хроматография, ионообменная хроматография, тонкослойная хроматография)*.

При выполнении физико-химических методов анализа используют специальную, довольно сложную, измерительную аппаратуру.

Почти во всех физико-химических методах анализа применяют два основных приема: методы прямых измерений и титрования. В прямых методах используют зависимость аналитического сигнала от природы анализируемого вещества и его концентрации. Зависимость сигнала от природы вещества – основа качественного анализа (потенциал полуволны в полярографии и т.д.). В некоторых методах связь аналитического сигнала с природой вещества установлена строго теоретически.

Физико-химические методы анализа часто используют при определении низких содержаний (порядка $10^{-3}\%$ и менее), где классические химические методы анализа обычно неприменимы. В области средних и высоких концентраций химические и физико-химические методы анализа успешно конкурируют между собой, взаимно дополняя друг друга.

Опорные знания. При изучении физико-химических методов анализа студенты опираются на знания, полученные при изучении:

I. Общей и неорганической химии:

- 1) основные правила работы и техника безопасности в химической лаборатории;
- 2) техника выполнения основных химических операций.
- 3) основные законы и понятия химии; составление уравнений химических реакций и их использование в расчетах;
- 4) химические свойства элементов и их соединений;
- 5) основные типы химических реакций, протекающих в растворах;
- 6) основы химической термодинамики;
- 7) основы химической кинетики и катализа, химического равновесия;
- 8) теории растворов электролитов и неэлектролитов;

II. Физическая и коллоидная химия

- 1) электрическая проводимость растворов;
- 2) виды электродов, электродные потенциалы; редокс-потенциалы; механизм их возникновения; ЭДС.
- 3) основы термодинамической теории электродвижущих сил и электродных потенциалов;

III. Органической химии:

- 1) номенклатура органических соединений;
- 2) основные классы органических соединений, их характерные свойства, функциональные группы;
- 3) составление уравнений с участием органических соединений;
- 4) связь между строением и свойствами органических соединений.

IV. Физика

- 1) основные законы современной физики;
- 2) физические закономерности теоретических основ физических методов анализа вещества;
- 3) метрологических требований при работе с физической аппаратурой;
- 4) правил техники безопасности работы с физической аппаратурой.

Литература

Основная:

1. Харитонов Ю.А. Аналитическая химия (аналитика). В 2-х кн. Издание 5-е – М.: Высшая школа, 2010. – 560 с.
2. Харитонов Ю.Я., Джабаров Д.Н., Григорьева В.Ю. Аналитическая химия. Количественный анализ. Физико-химические методы анализа: практикум: учебное пособие. – ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 368 с.
3. Харитонов Ю.Я., Григорьева В.Ю. Примеры и задачи по аналитической химии. Гравиметрия, экстракция, неводное титрование, физико-химические методы анализа: учебное пособие. – ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 304 с.
4. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – Химия, 1989. – 448 с.

Дополнительная:

1. Золотов Ю.А., Дорохова Е.Н., Фадеева В.И. и др. Основы аналитической химии. Под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высшая школа, 2000, – 351 с.
2. Основы аналитической химии. Практическое руководство: Учебное пособие для вузов. Под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высшая школа, 2001.
3. Практикум по аналитической химии: Учеб. пособие для вузов / В.П. Васильев, Р.П. Морозова, Л.А. Кочергина; под ред. В.П. Васильева. – М.: Химия, 2000.– 328 с.
4. Практикум по аналитической химии и физико-химическим методам анализа: Учеб.пособие / И.В. Тикунов, Н.А. Шаповалов, А.И. Артеменко. – М.: Высш. шк., 2006. – 208 с.
5. Лекции.

Список сайтов по химии:

1. Химия и жизнь–XXI век: научно-популярный журнал. <http://www.hij.ru>
2. Alhimik.<http://www.alhimik.ru>
3. Химия для всех. Электронный справочник за полный курс химии. <http://www.informika.ru/text/database/chemy/START.html>

Тема 1. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

К оптическим методам анализа относят физико-химические методы, основанные на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом. Это взаимодействие приводит к различным энергетическим переходам, которые регистрируются экспериментально в виде поглощения излучения, отражения и рассеяния электромагнитного излучения. Оптические методы включают в себя большую группу спектральных методов анализа.

Электромагнитное излучение имеет двойственную природу и обладает как волновыми, так и корпускулярными (дискретными) свойствами.

Электромагнитная волна состоит из двух компонентов - электрического и магнитного, которые перпендикулярны друг другу и к направлению движения волны (рис. 1). Для распространения электромагнитного излучения не нужна проводящая среда

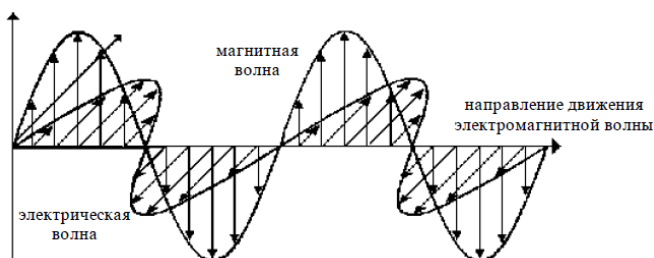
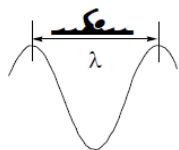


Рис. 1. Электромагнитная волна

1.1 Параметры электромагнитной волны



Длина волны (λ) – расстояние, которое проходит волна за один период её колебаний (расстояние между двумя последовательными максимумами).

Единицы измерения – метр (м), нанометр ($1 \text{ нм} = 1 \cdot 10^{-9} \text{ м}$), микрометр ($1 \text{ мкм} = 1 \cdot 10^{-6} \text{ м}$).

Длина волны зависит от природы среды, температуры и давления.

Частота излучения (ν) – число колебаний каждой данной точки в 1с.

Единицы измерения – герц (Гц) ($1 \text{ Гц} = 1 \text{ с}^{-1}$) или в кратных ему единицах, например, $1 \text{ МГц} = 1 \cdot 10^6 \text{ Гц}$.

Длина волны и частота колебаний связаны между собой соотношением:

$$c = \lambda \cdot \nu$$

где c – скорость распространения волны в данной среде.

Для электромагнитной волны:

$$c = \frac{c_0}{n}$$

где c_0 – скорость света в вакууме ($2,99792 \cdot 10^8 \text{ м/с}$), n – показатель преломления среды.

Частота зависит только от свойств источника излучения и не зависит от свойств среды.

Связь между волновой и корпускулярной природой у электромагнитного излучения устанавливает **уравнение Планка**:

$$E = h \nu = \frac{hc}{\lambda}$$

где h – постоянная Планка ($h = 6,6262 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с}$).

Единицей измерения энергии является Джоуль (Дж). В спектроскопии часто используют внесистемную единицу – электрон-вольт ($1 \text{ эВ} = 1,6022 \cdot 10^{-19} \text{ Дж}$). Чем больше длина волны электромагнитного излучения (меньше частота колебаний), тем меньше его энергия.

Совокупность всех энергий (длин волн, частот) электромагнитного излучения называется **электромагнитным спектром**.

В спектроскопических методах анализа **спектром** (спектром поглощения, спектром испускания) называется *зависимость между энергией кванта и числом квантов, обладающих данной энергией*

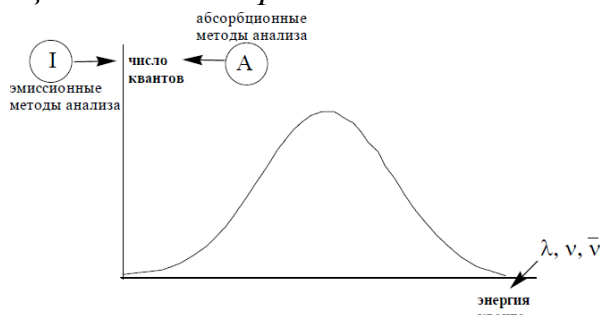


Рис. 2. Спектр (поглощения, испускания) в спектроскопических методах анализа

СПЕКТРАЛЬНАЯ ОБЛАСТЬ		
ультрафиолетовая (УФ) $\lambda = 200-400\text{нм}$	видимая (В) $\lambda = 400-760\text{ нм}$	инфракрасная (ИК) $\lambda >760\text{ нм}$

Природа полос поглощения в УФ и видимой областях ($\lambda = 200-760\text{ нм}$) обусловлена электронными переходами; в ИК области – колебаниями атомов в молекуле поглощающего вещества.

1.2 Классификация оптических методов анализа

Оптические методы классифицируют следующим образом:

- 1) По изучаемым объектам: атомный и молекулярный спектральный анализ.
- 2) По характеру взаимодействия электромагнитного излучения с исследуемым веществом:

Абсорбционные методы – основанные на поглощении электромагнитного излучения;

Эмиссионные методы – основанные на испускании веществом электромагнитного излучения;

Методы, основанные на *рассеянии электромагнитного излучения*, на отражении электромагнитного излучения и других процессах.

- 3) По области используемого электромагнитного спектра:

Спектроскопия (спектрофотометрия) – в ближней ультрафиолетовой (УФ) области (интервал длин волн 200-400нм) и видимой области (интервал длин волн 400-760 нм);

Инфракрасная спектроскопия – электромагнитный спектр в интервале 0,76-1000 мкм.

- 4) По природе энергетических переходов:

Электронные, колебательные и вращательные спектры

1.3 Абсорбционная спектроскопия

Фотометрический анализ основан на способности молекул определяемого вещества *поглощать* электромагнитное излучение оптического диапазона инфракрасной (ИК), видимой и ультрафиолетовой (УФ) областей спектра. Наибольшее распространение получили фотометрические методы анализа, основанные на поглощении в видимой области спектра, то есть в интервале длин волн 400-780 нм. Это объясняется возможностью получения множества интенсивно окрашенных органических и неорганических соединений, пригодных для фотометрического определения в видимой области спектра с помощью относительно недорогих приборов.

Фотометрический анализ можно проводить спектрофотометрическим или фотозлектроколориметрическим методом.

Фотоэлектроколориметрический метод анализа основан на измерении интенсивности *немонохроматического* светового потока, прошедшего через анализируемый раствор, с помощью фотоэлементов, при различных длинах волн видимой области спектра.

Измерения проводят с помощью приборов фотоэлектроколориметров (ФЭК). Излучение видимой области спектра поглощают только окрашенные соединения. Если исследуемое вещество не окрашено, его можно анализировать фотоэлектроколориметрически, предварительно переведя в окрашенное соединение с помощью фотометрической аналитической реакции. ФЭКи в качестве монохроматоров излучения содержат светофильтры, обладающие шириной пропускания от 10 до 50 нм, то есть пучок света, получаемый с помощью ФЭКа, *немонохроматический*.

Современные приборы (рис. 3) позволяют проводить измерения не только в видимой области спектра, но и в близлежащих ультрафиолетовой (~300-400 нм) и инфракрасной (~760-1000 нм) областях. К тому же, в отличие от ФЭКов последние модели колориметров (они называются КФК) в качестве монохроматоров имеют дифракционные решетки, позволяющие получить пучок света шириной менее 5 нм, что позволяет использовать эти приборы для снятия спектра анализируемого вещества с последующим его определением.



Рис. 3. Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2МП (а); фотометр фотоэлектрический КФК-3-01 (б)

Спектрофотометрический метод анализа основан на измерении поглощения монохроматического излучения ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной области спектра. Такие измерения проводят с помощью приборов спектрофотометров (СФ), имеющих в качестве монохроматоров призму или дифракционную решетку. Спектрофотометры позволяют работать в области спектра от ~190 до 1100 нм.

Количественное определение вещества по светопоглощению основано на применении основного закона светопоглощения *закона Бугера-Ламберта-Бера*, связывающего уменьшение интенсивности светового потока, прошедшего через слой светопоглощающего вещества, с концентрацией вещества и толщиной поглощающего слоя (рис. 4).

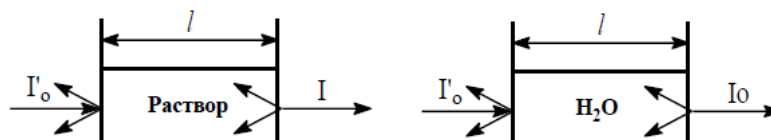


Рис. 4. Прохождение света через окрашенный раствор и растворитель

Этот закон можно представить в экспоненциальной форме: $I = I_0 \cdot e^{-kcl}$, или в логарифмической форме: $A = \varepsilon \cdot c \cdot l$,

где I_0 и I – интенсивности монохроматического излучения (светового потока), падающего на данную светопоглощающую среду и прошедшего через эту среду; k – коэффициент светопоглощения; c – концентрация светопоглощающих частиц в данной среде; l – толщина светопоглощающего слоя; e – основание натурального логарифма; $A = \lg \frac{I_0}{I}$ – оптическая плотность; $\varepsilon = k/2,3$ – коэффициент погашения.

Основной закон светопоглощения справедлив только для поглощения монохроматического светового потока с постоянной длиной волны.

В количественном анализе используют преимущественно логарифмическую форму основного закона светопоглощения, в соответствии с которой оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации поглощающего вещества и толщине поглощающего слоя раствора.

Величину ε называют *молярным коэффициентом погашения* или молярным коэффициентом экстинкции, если концентрация выражена в единицах моль/л, а толщина поглощающего слоя в см.

Молярный коэффициент погашения измеряют в л·моль⁻¹·см⁻¹.

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

Если концентрацию выразить в граммах растворенного вещества, содержащегося в 100 мл раствора, и обозначить W , а толщину поглощающего слоя в см, то основной закон светопоглощения можно представить в форме:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = W \cdot l,$$

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

Удельный коэффициент погашения численно равен оптической плотности раствора с концентрацией $W = 1$ г/100 мл при толщине поглощающего слоя $l = 1$ см.

Молярный и удельный коэффициенты погашения связаны между собой соотношением: $\varepsilon = E \cdot \frac{M}{10}$,

где M – молярная масса растворенного вещества.

Молярный и удельный коэффициенты погашения зависят от: природы поглощающей среды; длины волны поглощаемого света; температуры.

Уменьшение интенсивности света, прошедшего через раствор, характеризуется *коэффициентом пропускания* (или просто *пропусканием*) T :

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

Светопропускание связано с оптической плотностью соотношением:

$$A = 2 - \lg T$$

Оптическая плотность раствора, содержащего несколько окрашенных веществ, обладает свойством *аддитивности*, которое иногда называют *законом аддитивности светопоглощения*. В соответствии с этим законом поглощение

света каким-либо веществом не зависит от присутствия в растворе других веществ. При наличии в растворе нескольких окрашенных веществ каждое из них будет давать свой аддитивный вклад в экспериментально определяемую оптическую плотность A .

Оптическая плотность смеси веществ, подчиняющихся основному закону светопоглощения и не вступающих в химические взаимодействия друг с другом, равна сумме оптических плотностей компонентов (при $\lambda = \text{const}$ и $l = \text{const}$):

$$AA = \sum_i A_i = l \cdot \sum_i \varepsilon_i \cdot c_i,$$

где ε_i и c_i – коэффициенты погашения и концентрация i -го компонента.

Количественное определение вещества в растворе по данным фотометрических измерений осуществляют разными методами.

Метод градуировочного графика. Для построения градуировочного графика готовят серию из пяти-шести стандартных растворов с различной известной концентрацией определяемого вещества. При выбранной из спектра поглощения аналитической длине волны и толщине поглощающего слоя раствора измеряют оптические плотности стандартных растворов. Строят градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации в координатах $A - c$. Измеряют оптическую плотность $A(x)$ анализируемого раствора в тех же условиях, в которых измеряли оптическую плотность стандартных растворов. По найденному значению $A(x)$ находят концентрацию $c(x)$ определяемого вещества на градуировочном графике.

Метод одного стандарта. Готовят стандартный раствор с точно известной концентрацией определяемого вещества $c(\text{ст})$ и измеряют его оптическую плотность $A(\text{ст})$ при аналитической длине волны по отношению к раствору сравнения. В этих же условиях измеряют оптическую плотность $A(x)$ анализируемого раствора с неизвестной концентрацией $c(x)$ определяемого вещества. Концентрацию вещества в исследуемом растворе рассчитывают по формуле:

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

Определение концентрации по молярному или удельному коэффициенту погашения. Для использования этого метода необходимо, чтобы численные значения молярного ε или удельного E коэффициентов погашения, были известны.

Измеряют оптическую плотность $A(x)$ анализируемого раствора с неизвестной концентрацией $c(x)$ определяемого вещества при аналитической длине волны в кювете с толщиной поглощающего слоя l . Концентрацию вещества в исследуемом растворе рассчитывают по формуле:

$$W(x) = \frac{A(x)}{E \cdot l},$$

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

Метод добавок стандарта. Готовят два раствора: первый – анализируемый раствор с неизвестной концентрацией $c(x)$ определяемого вещества и вто-

рой – анализируемы раствор, к которому прибавлено точно известное количество (добавка стандарта) определяемого вещества. Концентрация определяемого вещества в растворе после введения добавки станет равной $c(x)+c$, где c точно известное увеличение концентрации за счет прибавления стандарта.

Измеряют последовательно оптическую плотность A_1 и A_2 первого и второго растворов в одной и той же кювете при аналитической длине волны и рассчитывают концентрацию $c(x)$ по формуле:

$$c(x) = \frac{A_1}{A_2 - A_1} \cdot c.$$

Расчет концентрации вещества, определяемого методом дифференциальной фотометрии. Для расчетов используют формулу:

$$c(x) = c_0 + FA(x)$$

где $c(x)$ – концентрация определяемого вещества в анализируемом растворе; c_0 – концентрация определяемого вещества в эталонном растворе, относительно которого проведены измерения оптической плотности; $A(x)$ – оптическая плотность анализируемого раствора, измеренная относительно эталонного раствора с концентрацией c_0 ; F – фактор пересчета, среднее значение которого рассчитывают по формуле:

$$F = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{c_i - c_0}{A_i},$$

где n – число эталонных растворов с концентрацией c_i определяемого вещества и оптической плотностью A_i , измеренной относительно эталонного раствора с концентрацией c_0 .

Расчет минимальной и оптимальной концентрации растворенного вещества, определяемого фотометрическим методом. Минимальная концентрация c_{min} (моль/л) определяемого вещества в анализируемом растворе рассчитывается по формуле:

$$c_{min} = \frac{A}{\varepsilon \cdot l} = \frac{0,01}{\varepsilon},$$

где ε – молярный коэффициент погашения.

Предполагается, что минимальное значение оптической плотности A , которое можно измерить на фотоэлектроколориметре, составляет $A = 0,01$ при толщине поглощающего слоя $l = 1$ см.

Оптимальная концентрация растворенного вещества при фотометрических измерениях рассчитывается для наименьшей относительной систематической ошибки при значении оптической плотности $A = 0,434$ по формуле:

$$c = \frac{A}{\varepsilon \cdot l} = \frac{0,434}{\varepsilon \cdot l},$$

где ε – молярный коэффициент погашения, л·моль⁻¹·см⁻¹; l – толщина поглощающего слоя, см.

1.4 Эмиссионный спектральный анализ

Эмиссионный спектральный анализ основан на получении и изучении спектров испускания (эмиссионных спектров). По положению и относительной интенсивности отдельных линий в этих спектрах проводят качественный спектральный анализ. Сравнивая интенсивность специально выбранных спектральных линий в спектре пробы с интенсивностью тех же линий в спектрах эталонов, определяют содержание элемента, выполняя, таким образом, количественный спектральный анализ.

Качественный спектральный анализ основан на индивидуальности эмиссионных спектров каждого элемента и сводится, как правило, к определению длин волн линий в спектре и установлению принадлежности этих линий тому или иному элементу. Расшифровка спектров осуществляется либо на стилоскопе (визуально), либо, чаще всего, на спектропроекторе или микроскопе после фотографирования спектров на фотопластинку.

Количественный спектральный анализ основан на том, что интенсивность спектральных линий элемента зависит от концентрации этого элемента в пробе. Зависимость интенсивности спектральной линии от концентрации имеет сложный характер. В некотором интервале концентраций при постоянстве условий возбуждения эта зависимость выражается эмпирическим *уравнением Б.Б. Ломкина*:

$$I = ac^b,$$

где I – интенсивность спектральной линии; a – постоянная, объединяющая свойства линии (искровая, дуговая линия, узкая, широкая), условия возбуждения (скорость испарения, скорость диффузии) и другие факторы; c – концентрация элемента в пробе; b – коэффициент самопоглощения.

Наиболее широко распространенными приборами в эмиссионном спектральном анализе являются кварцевые спектрографы ИСП различных модификаций (рис. 5). В приборах для визуального спектрального анализа – стилоскопы и стилометры. В фотоэлектрических методах используют квантометры различных модификаций



Рис. 5. Спектрограф ИСП-30 кварцевый

1.5 Пламенная эмиссионная спектроскопия

Появление специализированных пламенных эмиссионных спектрометров привело к обособлению методов фотометрии пламени и придало ему известную самостоятельность.

Как и любой другой прибор эмиссионной спектроскопии, фотометр для фотометрии пламени имеет источник возбуждения (пламенная горелка), диспергирующий элемент (обычно светофильтр) и приемник света – рецептор (обычно фотоэлемент). В спектрофотометрах для пламени вместо светофильтров применяют призмы и дифракционные решетки. Анализируемый раствор вводится в пламя горелки в виде аэрозоля. При этом растворитель испаряется, а соли металла диссоциируют на атомы, которые при определенной температуре возбуждаются. Возбужденные атомы, переходя в нормальное состояние, излучают свет характерной частоты, который выделяется с помощью светофильтров, а его интенсивность измеряется фотоэлементом.

Количественные определения проводят методом калибровочного графика и методом добавок по формуле:

$$c_x = \frac{c_{доб} I_x}{I_{x+доб} - I_x},$$

где c_x – концентрация определяемого элемента; I_x и $I_{x+доб}$ – показания прибора при фотометрировании исследуемого раствора без добавок и с добавкой стандартного раствора определяемого элемента.

Средний предел обнаружения методами эмиссионной спектроскопии составляет от $10^{-3} \dots 10^{-4}\%$ до $10^{-5}\%$. Погрешность определения характеризуется в среднем величиной 1-2%.

1.6 Атомно-абсорбционный анализ

Физическую основу атомно-абсорбционной спектроскопии составляет поглощение резонансной частоты атомами в газовой фазе. Если на невозбужденные атомы направить излучение света с резонансной частотой поглощения атомов, то излучение будет поглощаться атомами, а его интенсивность уменьшится. И таким образом, если в эмиссионной спектроскопии концентрация вещества связывалась с интенсивностью излучения, которое было прямо пропорционально числу возбужденных атомов, то в атомно-абсорбционной спектроскопии аналитический сигнал (уменьшение интенсивности излучения) связан с количеством невозбужденных атомов.

Число атомов в возбужденном состоянии не превышает 1-2% от общего числа атомов определяемого элемента в пробе, поэтому аналитический сигнал в атомно-абсорбционной спектроскопии оказывается связанным с существенно большим числом атомов, чем в эмиссионной спектроскопии, и, следовательно, в меньшей степени подвержен влиянию случайных колебаний при работе атомно-абсорбционного спектрофотометра.

Уменьшение интенсивности резонансного излучения в условиях атомно-абсорбционной спектроскопии подчиняется экспоненциальному закону убыва-

ния интенсивности в зависимости от длины оптического пути и концентрации вещества, аналогичному закону Бугера-Ламберта-Бера. Если I_0 – интенсивность падающего монохроматического света, а I – интенсивность этого света, прошедшего через пламя, то величину $\lg(I_0/I)$ можно назвать оптической плотностью. Концентрационная зависимость оптической плотности выражается уравнением:

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

где k – коэффициент поглощения; l – толщина светопоглощающего слоя (пламени); c – концентрация вещества, моль/дм³.

В практике атомно-абсорбционного анализа для количественных определений обычно применяют метод градуировочного графика и метод добавок.

Предел обнаружения с помощью атомно-абсорбционного анализа для многих элементов характеризуется величиной порядка $10^{-5} \dots 10^{-6}\%$. Погрешность определения обычно составляет примерно 5% и в зависимости от различных условий изменяется в пределах от 3 до 10%.

Метод имеет также ряд ограничений. Атомно-абсорбционным методом не определяются элементы, резонансные линии которых лежат в далеком ультрафиолете (углерод, фосфор, галогены и др.).

1.7 Нефелометрический и турбидиметрический анализ

В нефелометрическом и турбидиметрическом анализе используется явление рассеяния света твердыми частицами, находящимися в растворе во взвешенном состоянии (рис. 6).

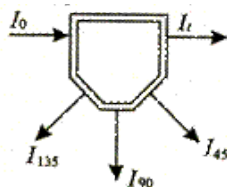


Рис. 6. Картина рассеяния: I_0 – интенсивность падающего потока; I_t – интенсивность прошедшего потока; I_{45} , I_{90} , I_{135} – интенсивность излучения, рассеянного под разными углами.

Пробу освещают потоком света с интенсивностью I_0 , а затем, так же как в молекулярной абсорбционной спектроскопии, измеряют интенсивность прошедшего излучения I_t или определяют интенсивность излучения, рассеянного под определенным углом (например, I_{90} при 90°). С ростом числа частиц суспензии отношение I_t/I_0 уменьшается, а отношения вида I_{90}/I_0 увеличиваются, во всяком случае, до умеренных концентраций. Для очень разбавленных суспензий измерение под углом гораздо чувствительнее, чем измерения, когда источник и приемник излучения находятся на одной линии, поскольку при этом можно наблюдать слабый рассеянный свет на темном фоне.

Метод, в котором используют интенсивность прошедшего света I_t , называют *турбидиметрией*, а метод с измерением под углом 90° (или каким-либо другим) – *нефелометрией*. При турбидиметрических измерениях величина, на-

зывается *мутностью*, соответствует оптической плотности и может быть определена из соотношения, аналогичного основному закону светопоглощения:

$$S = \lg(I_0/I) = kbN,$$

где S – мутность; k – коэффициент пропорциональности, называемый *коэффициентом мутности*; b – длина пути; N – число рассеивающих частиц в единице объема.

Для турбидиметрических измерений можно использовать любой фотометр или спектрофотометр. Если растворитель и рассеивающие частицы бесцветны, максимальная чувствительность достигается при использовании излучения голубой или ближней ультрафиолетовой области. Для окрашенных систем оптимальную длину волны необходимо подбирать экспериментально.

Используемое в нефелометрии расчетное соотношение следующее:

$$I = K_\alpha c I_0,$$

где K_α – эмпирическая константа системы (α – угол, под которым проводят измерения); c – концентрация, моль/дм³.

Конструкции приборов для нефелометрических и люминесцентных измерений идентичны, поэтому любой флуориметр можно использовать в качестве нефелометра (рис. 7). Поскольку длина волны при рассеянии не изменяется, необходимость во втором монохроматоре или светофильтре отпадает, но если они имеются в приборе, то их следует настроить на длину волны падающего света.



Рис. 7. Флуориметр Флюорат-02-5М

Применение методов, основанных на измерении рассеяния света, достаточно ограничено, прежде всего, потому что на измеряемый сигнал сильно влияет размер частиц. Поэтому необходимо строгое соблюдение идентичности условий построения градуировочного графика и анализа исследуемого раствора. Нефелометрия, и турбидиметрия могут быть полезными для селективных аналитических реакций, в результате которых образуется твердое соединение.

1.8 Люминесцентный анализ

Люминесценция – свечение вещества после поглощения им энергии возбуждения:



Переходя в более низкое энергетическое состояние, возбужденные частицы испускают квант света – люминесцируют. От излучения нагретых тел люминесценция отличается неравновесностью, так как практически не включает тепловую энергию. Это избыточное над тепловым излучение часто называют

холодным светом. Из различных типов люминесценции наибольшее значение для аналитической химии имеет флуоресценция – свечение, затухающее сразу после прекращения возбуждения.

Качественный люминесцентный анализ основан на возникновении или исчезновении люминесцентного излучения, т.е. использует сам факт люминесценции исследуемого вещества.

Количественный люминесцентный анализ основан на использовании соотношения, связывающего интенсивность флуоресценции $I_{\text{л}}$ с концентрацией флуоресцирующего вещества c : $I_{\text{л}} = kc$

В практике количественного люминесцентного анализа обычно применяют метод градуировочного графика. В настоящее время разработаны методы количественного люминесцентного определения почти всех элементов периодической системы при их содержании в среднем 0,5...5,0 мкг (при относительной погрешности 5...10%).

Обычно люминесценцию возбуждают облучением объекта коротковолновыми лучами видимого или УФ диапазона спектра. В качестве источников возбуждения используют лампы накаливания или газоразрядные лампы. В последнее время для этой цели применяют лазеры. Из газоразрядных ламп в люминесцентном анализе обычно используют ртутные лампы, дающие линейчатый спектр.

Для измерения люминесценции служат приборы двух типов: флуориметры и спектрофлуориметры (рис. 8).



Рис. 8. Базовый одноканальный микроскоп-спектрофлуориметр RM1

1.9 Применение оптических методов в фармации

ИК-спектрофотометрия, впервые введенная в ГФ Х для идентификации фторана и натриевых солей полусинтетических пенициллинов – метициллина и оксациллина, в последнее время все чаще применяется в анализе различных классов лекарственных веществ (гормонов, антибиотиков (пенициллины), азотсодержащих гетероциклических лекарственных средств и т.д.). Так как совокупность всех полос поглощения, образующая ИК-спектр данного вещества, однозначно определяет его индивидуальность. ИК-спектроскопия используется:

- при установлении структуры новых БАВ получаемых путем химического синтеза или выделяемых из природных объектов (животное или растительное сырье, продукты жизнедеятельности микроорганизмов); изучении строения метаболитов;
- определении доброкачественности лекарственных соединений;
- количественном анализе;

- контроле технологического процесса в промышленном производстве фарм-препаратов (полнота протекания);
- для доказательства отличия лекарственных веществ близкого химического строения (одного ряда).

Методы ИК-спектроскопии включены во все современные фармакопеи, в том числе и ГФ XII (2007 г.).

Спектрофотометрию в ультрафиолетовой и видимой областях спектра в фармации применяют для испытания на подлинность, чистоту и количественное определение лекарственных средств.

Фотоэлектроколориметрия получила широкое распространение в аналитической практике, например, при анализе таких лекарственных препаратов, как диэтилстильбэстрол, левомецетин, ментол, новокаин, рутин, стрептомицин и многие другие.

Разработаны варианты анализа методом дифференциальной спектрофотометрии многих двухкомпонентных лекарственных веществ: кофеин и спирин, кофеин и амидопирин, теобромин и барбамил, теофиллин и барбамил, папаверина гидрохлорид и дибазол и т.д.

Флуориметрия – высокочувствительный фармакопейный метод количественного анализа. Его используют при определении малых количеств веществ в анализируемом растворе. Метод широко применяется в фармакопейном анализе, например, при контроле качества фолиевой кислоты, этакридина лактата, хинина гидрохлорида, натрия парааминосалицилата, тиамина хлорида и бромиды, рибофлавина и др.

Обучающие задачи

Задача 1

Максимум поглощения спиртового раствора витамина D_2 (кальциферол $M = 392$ г/моль) лежит при 264 нм, молярный коэффициент поглощения равен 18 200. Какой интервал концентраций (г/дм³) можно использовать для анализа, если желательно, что бы оптическая плотность растворов лежала в пределах 0,400–0,900 при толщине слоя 1 см?

Решение:

1. Для решения используем основной закон светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера: $A = \varepsilon \cdot c \cdot l$.

2. Рассчитываем концентрации вещества по уравнению: $c = \frac{A}{\varepsilon l}$

$$c_1 = \frac{0,400}{18200 \cdot 1} = 2,198 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}; \quad c_2 = \frac{0,900}{18200 \cdot 1} = 4,945 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л.}$$

3. Рассчитываем концентрации в г/дм³:

$$c_1 = c_1 \cdot M = 2,198 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л} \cdot 392 \text{ г/моль} = 0,00862 \text{ г/л (г/дм}^3\text{)}$$

$$c_2 = c_2 \cdot M = 4,945 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л} \cdot 392 \text{ г/моль} = 0,0194 \text{ г/л (г/дм}^3\text{)}$$

Ответ: для анализа можно использовать концентрации от 0,00862 г/дм³ до 0,0194 г/дм³.

Задача 2

Рассчитайте массу рутина (витамин Р, $M = 610$ г/моль), которая содержится в 250 см^3 раствора, если оптическая плотность этого раствора при $\lambda = 258$ нм и толщине кюветы 5 см равна 0,780, а стандартного $6,1 \cdot 10^{-5}$ М раствора – 0,650. Чему равны значения молярного и удельного коэффициентов погашения рутина?

Решение:

1. По условию задачи длина волны и толщина кюветы имеют одинаковые значения, следовательно, концентрацию рутина рассчитываем по формуле:

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

$$c(\text{рутина}) = c(\text{рутина}) = \frac{A(\text{рутина}) \cdot c_{\text{ст}}}{A_{\text{ст}}} = \frac{0,780 \cdot 6,1 \cdot 10^{-5}}{0,650} = 7,32 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л.}$$

2. Рассчитываем массу рутина:

$$m(\text{рутина}) = M(\text{рутина}) \cdot c(\text{рутина}) \cdot V_{\text{р-ра}};$$

$$m(\text{рутина}) = 610 \text{ г/моль} \cdot 7,32 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л} \cdot 0,25 \text{ л} = 1,1163 \text{ г.}$$

3. Используя основной закон светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера: $A = \varepsilon \cdot c \cdot l$, рассчитываем молярный коэффициент погашения:

$$\varepsilon = \frac{A}{c \cdot l} = \frac{0,780}{7,32 \cdot 10^{-3} \cdot 5} = 21,3 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$$

4. Молярный и удельный коэффициенты погашения связаны соотношением:

$$\varepsilon = E \cdot \frac{M}{10}; \quad 21,3 = E \cdot \frac{610}{10}; \quad 21,3 = E^{1\%} \cdot 61; \quad E = 0,349.$$

Ответ: $m(\text{рутина}) = 1,1163$ г; $\varepsilon = 21,3 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; $E = 0,349$.

Задача 3

Оптическая плотность раствора при некоторой длине волны найдена равной $A = 0,562$. Рассчитайте пропускание (T) того же раствора.

Решение:

1. Светопропускание связано с оптической плотностью соотношением:

$$A = -\lg T$$

2. Рассчитываем светопропускание: $T = 10^{-A}$; $T = 10^{-0,562} = 0,274$.

Ответ: $T = 0,274$.



Задачи для самостоятельного решения

1. Вычислите оптическую плотность раствора, если его пропускание при некоторой длине волны найдено равным 50,85%. (*Ответ:* 0,294)
2. Пропускание раствора с концентрацией алюминия 3,2 мг в 100 см^3 раствора, измеренное при длине волны 480 нм в кювете толщиной 2 см составило 34,60. Рассчитайте молярный коэффициент погашения. (*Ответ:* $640 \text{ дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$)

3. Оптическая плотность раствора лекарственного вещества в кювете толщиной слоя 3 см равна 0,450. У стандартного раствора, содержащего 3 мг/дм³ этого же вещества в кювете толщиной слоя 5 см оптическая плотность равна 0,750. Вычислите концентрацию анализируемого вещества в растворе (мг/дм³). (Ответ: 3 мг/дм³)
4. Для определения содержания Fe в лекарственном препарате методом добавок навеску 0,3250 г растворили в мерной колбе вместимостью 100,0 мл. Для приготовления окрашенного раствора отобрали аликвоту 20,0 мл, добавили необходимые реактивы и довели объем раствора до 50,0 мл. Оптическая плотность исследуемого раствора и такого же раствора с добавкой 0,2 мг Fe равны $A_x = 0,250$ и $A_{x+ст} = 0,370$ соответственно. Рассчитайте массовую долю (%) Fe в образце. (Ответ: 0,64%)



Учебно-исследовательская лабораторная работа

Тема: Фотоэлектроколориметрическое определение железа(III) в виде тиоцианата железа(III)

Цели работы:

освоить метод выбора светофильтра, пропускающего излучение с длиной волны, соответствующей максимальному светопоглощению тиоцианата железа(III);

научиться:

- проводить фотометрический количественный анализ железа(III),
- определять содержание железа (III) в анализируемом растворе расчетным и графическим методами.

Сущность метода:

Определение основано на образовании комплексного соединения ионов железа(III) с тиоцианат-ионами: $Fe^{3+} + 6SCN^- = [Fe(SCN)_6]^{3-}$

Это соединение имеет интенсивную красную окраску за счет осуществления $d \rightarrow d$ переходов вследствие расщепления основного электронного состояния ионов железа(III) в поле лиганда.

Оборудование и реактивы:

Реактивы: Железо-аммонийные квасцы $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$; раствор роданида аммония (1,5 моль/л); раствор серной кислоты (1 н.).

Лабораторная посуда: Колбы мерные емкостью 50 мл; пипетки градуированные емкостью 10, 5 и 2 мл.

Приборы: Фотоэлектроколориметр; весы аналитические.

Методика определения

1. Приготовление стандартного раствора железа(III) с концентрацией 1 мг/мл

Навеску железоаммонийных квасцов, необходимую для приготовления стандартного раствора, вычисляют по формуле:

$$m = \frac{T \cdot V \cdot M' \cdot 10^{-3}}{M}$$

где m – навеска $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, г;

T – титр железа(III) в стандартном растворе, мг/мл;

M' – молярная масса $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, равная 482,21 г/моль;

M – молярная масса железа, равная 55,85 г/моль;

V – общий объем стандартного раствора железа (III), мл.

Взятую на аналитических весах навеску, точно равную вычисленной, количественно переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и 5 мл 1,0 н. раствора серной кислоты. Растворяют соль при нагревании и охлаждают. Охлажденный раствор соли доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2. Приготовление раствора «А»

В мерную колбу вместимостью 250 мл приливают 10 мл приготовленного стандартного раствора железа(III); 10 мл серной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают (раствор «А»).

3. Приготовление раствора для выбора светофильтра

В мерную колбу емкостью 50,0 мл градуированной пипеткой емкостью 10,0 мл вносят 10,0 мл стандартного раствора соли железа(III) (раствор «А»), добавляют градуированными пипетками 2,0 мл раствора серной кислоты и 5,0 мл раствора тиоцианата аммония, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

4. Выбор светофильтра

Приготовленный раствор помещают в кювету с толщиной слоя 1 см и измеряют оптическую плотность на фотоэлектроколориметре относительно дистиллированной воды при разных светофильтрах. Каждое измерение повторяют три раза. Результаты измерений записывают в таблицу 1 и строят график зависимости измеренных значений A от λ_{max} каждого светофильтра (рис. 1). Выбирают светофильтр, на котором наблюдается максимум на кривой зависимости оптической плотности A от λ_{max} .

Таблица 1

№ светофильтра	λ_{max} светофильтра, нм	Оптическая плотность, A			
		A_1	A_2	A_3	$A_{\text{ср}}$
1	315				
2	364				
3	400				
4	440				
5	490				
6	540				
7	582				
8	610				
9	630				

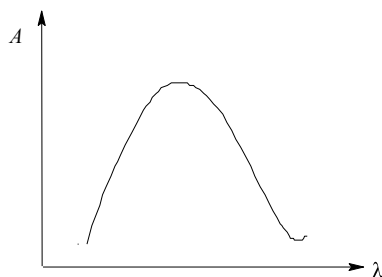


Рис. 1. График зависимости измеренных значений A от λ_{\max} каждого светофильтра соли железа

5. Приготовление эталонных растворов

В 5 мерных колб емкостью 50,0 мл градуированной пипеткой емкостью 10,0 мл помещают последовательно 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и 10,0 мл стандартного раствора соли железа (II) (раствор А). В каждую колбу добавляют с помощью градуированных пипеток по 2,0 мл раствора серной кислоты и 5,0 мл раствора тиоцианата аммония, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

6. Приготовление раствора с неизвестной концентрацией железа(III)

К анализируемому раствору, полученному у преподавателя в мерной колбе емкостью 50,0 мл, добавляют 2,0 мл раствора серной кислоты, 5,0 мл раствора тиоцианата аммония. Разбавляют дистиллированной водой, доводят до метки и тщательно перемешивают.

7. Измерение оптической плотности эталонных растворов и раствора с неизвестной концентрацией железа(III)

Измеряют оптическую плотность приготовленных эталонных растворов железа(III) и раствора с неизвестной концентрацией железа(III) на фотоэлектроколориметре при выбранном светофильтре в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения берут дистиллированную воду. Каждое измерение повторяют три раза. Результаты измерений заносят в табл. 2.

Таблица 2

№ эталонного раствора	Объем стандартного раствора, мл	с, мг/50 мл	Оптическая плотность, А				К
			A ₁	A ₂	A ₃	A _{ср}	
1	2,0						
2	4,0						
3	6,0						
4	8,0						
5	10,0						
Анализируемый раствор							\bar{K}

8. Расчет концентрации железа(III) эталонных растворов

Для построения калибровочного графика необходимо рассчитать концентрацию железа в эталонных растворах по формуле:

$$c = T_{\text{Fe}} \cdot V \text{ мг/50 мл,}$$

где V – количество мл раствора «А», введенного в колбу на 50 мл;

T_{Fe} – титр раствора «А», рассчитывают по формуле:

$$T_{\text{Fe}} = \frac{\omega \cdot V_{\text{п}} \cdot M_{\text{Fe}} \cdot 1000}{100 \cdot V_{\text{к}} \cdot M} \quad \text{мг/мл},$$

где ω – процентная концентрация исходного раствора железосаммонийных квасцов, равная 0,8%;

$V_{\text{п}}$ – объем пробы раствора «А», мл;

M_{Fe} – молярная масса железа 55,84 г/моль;

M – молярная масса железосаммонийных квасцов, 482,19 г/моль;

$V_{\text{к}}$ – вместимость мерной колбы, для приготовления раствора «А», мл;

100 и 1000 – пересчет из процентов на 1 л объема.

Полученные результаты заносят в таблицу 2.

9. Построение градуировочного графика

По данным таблицы 2 строят градуировочный график (рис. 2), откладывая на оси абсцисс массовую концентрацию железа(III) в растворе (c (мг/мл)), а на оси ординат – оптическую плотность (A). При соблюдении закона Бугера-Ламберта-Бера получают прямую, проходящую через начало координат.

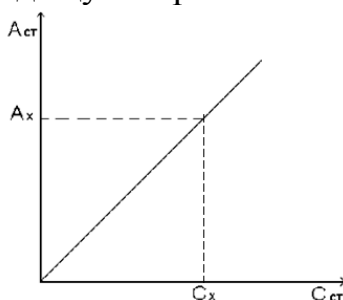


Рис. 2. Градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации

10. Определение массовой концентрации железа в анализируемом растворе графическим методом

По измеренной величине оптической плотности анализируемого раствора определяют местоположение точки на построенном градуировочном графике, от которой опускают перпендикуляр на ось абсцисс и определяют концентрацию железа в анализируемом растворе.

11. Определение массовой концентрации железа в анализируемом растворе расчетным методом

Для определения концентрации железа расчетным методом используют уравнение:

$$c = \bar{K} \cdot A$$

где A – оптическая плотность анализируемого раствора;

\bar{K} – среднее значение коэффициента K .

Значение коэффициента K рассчитывают для каждого эталонного раствора по формуле:

$$K_x = \frac{c_x}{A_x}$$

Полученные результаты заносят в табл. 2 и объясняют возможные расхождения в ответах, полученных графическим и расчетным методами.

Контрольные вопросы:

1. Какие параметры характеризуют полосу поглощения вещества в спектре?
2. Что такое максимум светопоглощения?
3. В каком интервале значений оптической плотности рекомендуется работать на фотоэлектроколориметрах?
4. В каком спектральном интервале в качестве источника света используют лампу накаливания, водородную лампу, дейтериевую лампу?
5. Какие кюветы используют при работе в УФ и видимой области спектра?
6. Будет ли сохраняться линейная зависимость оптической плотности от концентрации, если:
 - а) состав анализируемого раствора с разбавлением не меняется;
 - б) при разбавлении происходит изменение состава комплекса определяемого металла?
7. Какова природа светопоглощения в УФ и видимой области спектра?
8. Как подбирают светофильтр при определении железа(III)?
9. Как используют молярный коэффициент погашения для определения неизвестной концентрации вещества?



Учебно-исследовательская лабораторная работа

Тема: Дифференциальное фотоэлектроколориметрическое определение железа(III) в растворе в виде тиоцианата железа

Цель работы: освоить дифференциальный метод фотоэлектроколориметрии, применяемый при работе с относительно высокими концентрациями растворов; научиться:

- проводить дифференциальный фотометрический количественный анализ железа(III),
- определять содержание железа (III) в анализируемом растворе расчетным и графическим методами.

Сущность метода

Определение основано на образовании окрашенного в интенсивно красный цвет комплексного соединения железа(III) с тиоцианат-ионами ($\lambda_{\max} = 490$ нм) и использовании в качестве раствора сравнения раствора тиоцианата железа(III) известной концентрации.

Концентрацию железа(III) в исследуемом растворе определяют при помощи градуировочного графика, либо с использованием фактора пересчета. Концентрация железа(III) в исследуемом и эталонных растворах должна быть больше, чем в растворе сравнения.

Оборудование и реактивы:

Реактивы: Железо-аммонийные квасцы ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$); 1,5М раствор роданида аммония; 1 н. раствор серной кислоты.

Лабораторная посуда: Колбы мерные емкостью 50,0 мл; пипетки градуированные емкостью 10,0, 5,0 и 2,0 мл.

Приборы: Фотоэлектроколориметр КФК-2МП; весы аналитические.

Методика определения

1. Приготовление стандартного раствора железа(III) с концентрацией 1 мг/мл

Навеску железоаммонийных квасцов, необходимую для приготовления стандартного раствора, вычисляют по формуле:

$$m = \frac{T \cdot V \cdot M' \cdot 10^{-3}}{M}$$

где m – навеска $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, г;

T – титр железа(III) в стандартном растворе, мг/мл;

M' – молярная масса $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, равная 482,21 г/моль;

M – молярная масса железа, равная 55,85 г/моль;

V – общий объем стандартного раствора железа(III), мл.

Взятую на аналитических весах навеску, точно равную вычисленной, количественно переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и 5 мл 1,0 н. раствора серной кислоты. Растворяют соль при нагревании. После охлаждения раствор соли доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2. Приготовление раствора «Б»

В мерную колбу вместимостью 250 мл приливают 25 мл приготовленного стандартного раствора железа(III), 10 мл серной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

3. Приготовление раствора сравнения

В мерную колбу емкостью 50,0 мл градуированной пипеткой помещают 2,5 мл стандартного раствора соли железа (II) (раствор «Б»). Добавляют с помощью градуированных пипеток 2,0 мл раствора серной кислоты и 2,0 мл раствора тиоцианата аммония, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

4. Приготовление эталонных растворов

В 5 мерных колб емкостью 50,0 мл градуированной пипеткой емкость 10,0 мл помещают последовательно 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 и 15,0 мл стандартного раствора соли железа (II) (раствор «Б»). В каждую колбу добавляют с помощью градуированных пипеток по 2,0 мл раствора серной кислоты и 2,0 мл раствора тиоцианата аммония, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

5. Приготовление раствора с неизвестной концентрацией железа(III)

К анализируемому раствору, полученному у преподавателя в мерной колбе емкостью 50,0 мл, добавляют 2,0 мл раствора серной кислоты и 2,0 мл раствора

тиоцианата аммония, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

6. Измерение оптической плотности эталонных растворов и раствора с неизвестной концентрацией железа(III)

Измеряют оптическую плотность приготовленных эталонных растворов железа(III) и раствора с неизвестной концентрацией железа(III) по отношению к раствору сравнения на фотоэлектроколориметре со светофильтром, максимум пропускания которого лежит при 490 нм, в кювете с толщиной слоя 1 см. Каждое измерение повторяют три раза. Результаты измерений заносят в табл.

Таблица

№ эталонного раствора	Объем стандартного раствора, мл	с, мг/мл	Оптическая плотность, А				К
			А ₁	А ₂	А ₃	А _{ср}	
1	5,0						
2	7,5						
3	10,0						
4	12,5						
5	15,0						
Анализируемый раствор							\bar{K}

7. Расчет концентрации железа(III) эталонных растворов

Рассчитывают концентрацию железа в эталонных растворах по формуле:

$$c = T_{\text{Fe}} \cdot V \text{ мг/50 мл,}$$

где V – количество мл раствора «Б», введенного в колбу на 50 мл;

T_{Fe} – титр раствора «Б», рассчитывают по формуле:

$$T_{\text{Fe}} = \frac{\omega \cdot V_{\text{п}} \cdot M_{\text{Fe}} \cdot 1000}{100 \cdot V_{\text{к}} \cdot M} \text{ мг/мл,}$$

где ω – процентная концентрация исходного раствора железоаммонийных квасцов, 0,8%;

$V_{\text{п}}$ – объем пробы раствора «Б», мл;

M_{Fe} – молярная масса железа, 55,84 г/моль;

M – молярная масса железоаммонийных квасцов, 482,19 г/моль;

$V_{\text{к}}$ – вместимость мерной колбы, для приготовления раствора «Б», мл;

100 и 1000 – пересчет из процентов на 1 л объема.

Полученные результаты заносят в таблицу.

8. Построение калибровочного графика

По данным таблицы строят калибровочный график (рис. 1), откладывая на оси абсцисс концентрацию железа(III) в растворе (c (мг/мл)), а на оси ординат – оптическую плотность (A) эталонных растворов.

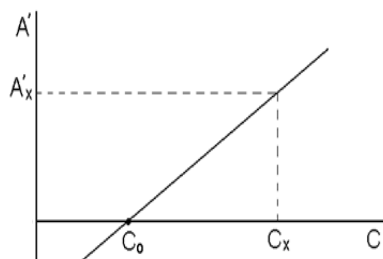


Рис. 1. Градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации

9. Определение концентрации железа в анализируемом растворе графическим методом

По измеренной величине оптической плотности анализируемого раствора определяют местоположение точки на построенном градуировочном графике, от которой опускают перпендикуляр на ось абсцисс и определяют концентрацию железа в анализируемом растворе (рис. 1).

10. Определение концентрации железа в анализируемом растворе расчетным методом

Для определения концентрации железа расчетным методом используют уравнение: $c = \bar{K} \cdot A_x + c_0$

где A_x – оптическая плотность анализируемого раствора; \bar{K} – среднее значение коэффициента K , c_0 – концентрация железа в растворе сравнения при оптической плотности $A = 0$, мг/мл.

Значение коэффициента K рассчитывают для каждого эталонного раствора по формуле: $K_i = \frac{c_i - c_0}{A_i}$

Полученные результаты заносят в таблицу и объясняют возможные расхождения в ответах, полученных графическим и расчетным методами.

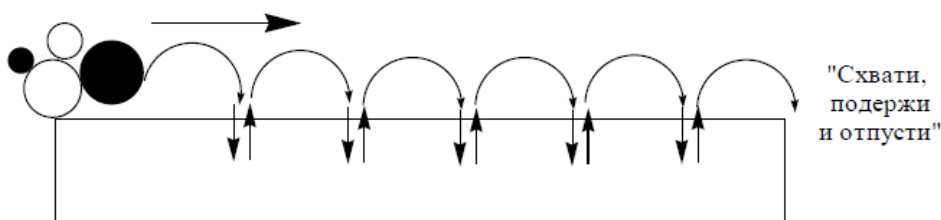
Контрольные вопросы

1. Какой метод называют дифференциальной спектрофотометрией?
2. Сущность метода дифференциальной спектрофотометрии.
3. Методы расчетов в дифференциальной спектрофотометрии.
4. Применение дифференциальной спектрофотометрии в фармации.

Тема 2. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

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

Хроматография – это динамический процесс. Многократность актов сорбции – десорбции разделяемых компонентов обеспечивает большую эффективность хроматографического разделения по сравнению со статическими методами сорбции экстракции.



Хроматография – гибридный метод анализа, в котором хроматографический процесс является частью общей аналитической системы, сочетающей разделение и измерение. Метод позволяет не только разделять многокомпонентную смесь, но идентифицировать и определять ее количественный состав.

Компоненты анализируемой смеси (**сорбаты**) вместе с подвижной фазой передвигаются вдоль стационарной фазы. Ее обычно помещают в стеклянную или металлическую трубку, называемую колонкой. В зависимости от силы взаимодействия с поверхностью сорбента (за счет адсорбции или по какому-либо другому механизму) компоненты будут перемещаться вдоль колонки с разной скоростью. Одни компоненты останутся в верхнем слое сорбента, другие, в меньшей степени взаимодействующие с сорбентом, окажутся в нижней части колонки, а некоторые и вовсе покинут колонку вместе с подвижной фазой (такие компоненты называются *неудерживаемыми*, а время их удерживания определяет "мертвое время" колонки).

В названии хроматографического метода первым указывается агрегатное состояние подвижной фазы, а вторым – неподвижной.

В хроматографии подвижную фазу, вводимую в слой неподвижной фазы, называют *элюентом*, а подвижную фазу, вышедшую из колонки и содержащую разделенные компоненты, – *элюатом*.

Основные виды хроматографии в зависимости от агрегатного состояния фаз, механизма взаимодействия и оформления представлены в табл. 1.

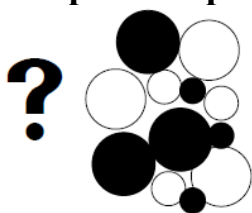
Основные виды хроматографии в зависимости от агрегатного состояния фаз, механизма взаимодействия и оформления

Вид хроматографии	Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Форма	Механизм разделения
Газовая: Газоадсорбционная Газожидкостная	Газ Газ	твердая жидкость	колонка колонка	Адсорбционный Распределительный
Жидкостная: Твердожидкостная Жидкость-жидкостная	жидкость жидкость	твердая жидкость	колонка колонка	Адсорбционный Распределительный
Ионообменная: Тонкослойная (т/ж) Тонкослойная (ж/ж) Бумажная Гельпроникающая (молекулярно-ситовая)	жидкость жидкость- жидкость- жидкость жидкость	твердая твердая жидкость жидкость жидкость	колонка тонкий слой тонкий слой лист бумаги колонка	Ионный обмен Адсорбционный Распределительный Распределительный по размерам молекул

ЦЕЛИ ПРОВЕДЕНИЯ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ

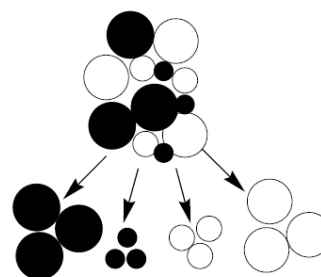
Информационная

Цель - получение информации о составе объекта (**аналитическая хроматография**) либо о его физико-химических свойствах (**физико-химическая хроматография**)



Технологическая

Целью является само разделение. Применяется для выделения целевого компонента из смеси либо для его очистки





2.2 Способы получения хроматограммы

Вид хроматографии	Получение хроматограммы
<p>Элюентная (проявительная)</p>	<p>Сорбент, находящийся в хроматографической колонке, вначале промывают подвижной фазой (элюентом), обладающей меньшим сродством к неподвижной фазе, чем любое из разделяемых веществ. Затем в колонку вводят исследуемую смесь веществ и продолжают непрерывно пропускать элюент.</p>  <p>Самый эффективный и в настоящее время практически единственный способ получения хроматограммы в количественном анализе</p>
<p>Вытеснительная</p>	<p>Вначале в колонку вводят некоторое количество разделяемых веществ, которые распределяются в ней в порядке их сродства к неподвижной фазе. Затем в поток подвижной фазы вводят вещество-вытеснитель, которое имеет большее сродство к неподвижной фазе, чем любой из компонентов разделяемой смеси. Фронт вытеснителя движется по колонке, вытесняя ранее сорбированные вещества, которые, в свою очередь, вытесняют друг друга.</p>  <p>Используется, в основном, для разделения макроколичеств веществ в препаративных целях</p>
<p>Фронтальная</p>	<p>В колонку непрерывно вводят раствор разделяемых веществ. Из колонки вначале будет выходить чистый растворитель, затем растворитель вместе с компонентом смеси, наименее прочно удерживаемым неподвижной фазой, затем смесь растворителя, наименее прочно удерживаемого компонента и следующего по удерживанию компонента и т.д.</p>  <p>Метод использовался на ранних стадиях развития хроматографии</p>

Для решения аналитических задач используется *элюентный метод*, он имеет следующие достоинства:

- дает наиболее полное разделение, поскольку зоны сорбатов разделены зонами элюента;
- сорбент непрерывно регенерируется;
- параметры удерживания хорошо воспроизводимы

2.3 Хроматографические параметры

Расположение разделяемых веществ в виде отдельных зон вдоль колонки называют *внутренней хроматограммой*, а графическое изображение состава *элюата* (подвижной фазы, содержащей разделённые вещества), выходящего из колонки, получаемое, например, с помощью самописца – *внешней хроматограммой*.

Основные характеристики внешней хроматограммы, получаемой при элюентном хроматографическом анализе.

Часть хроматограммы, соответствующая выходу из колонки чистого элюента (например, газа-носителя), называется *нулевой линией*. Часть хроматограммы, соответствующая выходу из колонки элюента вместе с компонентом разделяемой смеси, называется *пиком*.

Для описания хроматографического пика используются следующие характеристики (рис. 9, 10).

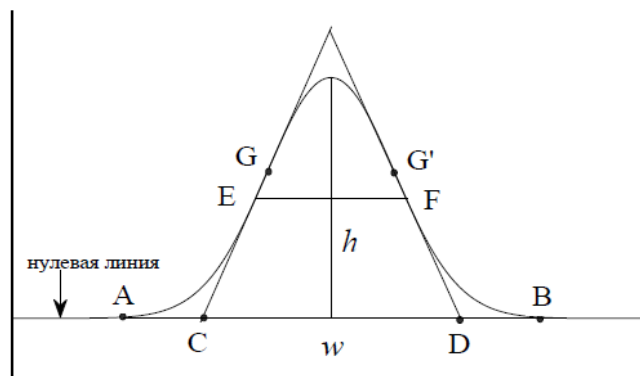


Рис. 9. Характеристика хроматографического пика

Отрезок нулевой линии, заключенный между крайними точками пика А и В, называется *основанием пика*. Часть основания пика, заключённая между точками пересечения касательных, проведённых к точкам перегиба на сторонах пика (G и G'), с нулевой линией (точки C и D), называется *шириной пика* (w - от англ. width). Расстояние от вершины пика до его основания, измеренное параллельно оси ординат, называется *высотой пика* (h - от англ. height).

Отрезок прямой, проведённой параллельно нулевой линии на половине высоты пика, заключённый между точками её пересечения с касательными (в данном случае точками E и F), называется *шириной пика на половине высоты* ($w_{0,5}$).

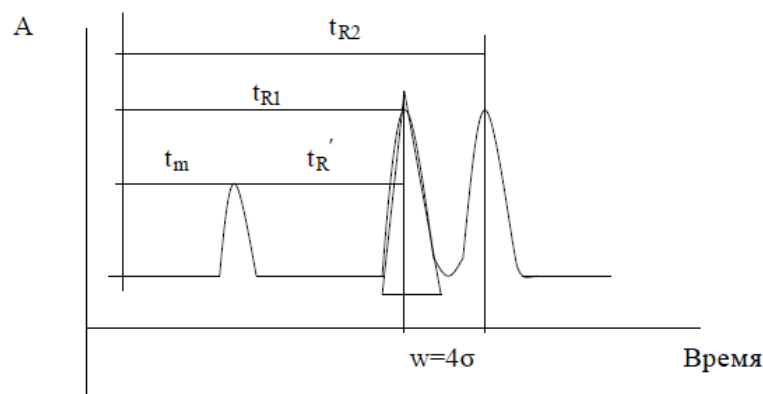


Рис. 10. Хроматограмма смеси двух веществ

Время удерживания, или **время элюирования** (t_R) – называют время от момента ввода анализируемой пробы до момента регистрации максимума пика. Время удерживания складывается из двух составляющих – времени пребывания веществ в подвижной фазе (t_m) и времени пребывания в неподвижной фазе (t_s):

$$t_R = t_m + t_s$$

В идеальном случае время удерживания не зависит от концентрации вещества, но зависит от его природы, а также от природы подвижной и неподвижной фазы и условий хроматографирования. Время удерживания вещества зависит от упаковки сорбента и поэтому может изменяться при переходе от одной колонки к другой.

Исправленное время удерживания (t'_R) – характеристика истинной удерживающей способности, которое равно разности между временем удерживания данного вещества и несорбируемого компонента (t_0).

$$t'_R = t_R - t_m$$

Удерживаемый объем (V_R) – объем подвижной фазы, который нужно пропустить через колонку с определенной скоростью, чтобы элюировать вещество:

$$V_R = t_R \cdot F$$

где F – объемная скорость подвижной фазы (см³/мин).

Исправленный удерживаемый объем (V'_R) понятие аналогично понятию исправленное время удерживания.

$$V'_R = V_R - V_m$$

При постоянных условиях хроматографирования (скорость потока, давление, температура, состав фаз) значения t_R и V_R строго воспроизводимы и могут быть использованы для идентификации веществ.

Коэффициент распределения (D) – это отношение равновесной концентрации вещества в неподвижной фазе (c_s) к его равновесной концентрации в подвижной фазе (c_m).

$$D = \frac{c_s}{c_m}$$

Удерживаемый объем связан с коэффициентом распределения уравнением, называемым **основным уравнением хроматографии**

$$V_R = V_m + DV_s \quad (\text{либо } V'_R = DV_s)$$

Произведение коэффициента распределения на соотношение объёмов неподвижной и подвижной фазы называется *коэффициентом ёмкости колонки* (k')

$$k' = D \frac{V_s}{V_m} \qquad k' = \frac{t_R - t_m}{t_m} = \frac{t'_R}{t_m}$$

2.4 Теории хроматографического разделения

При хроматографировании происходят два процесса: разделение веществ и размывание хроматографических зон разделяемых веществ.

Хроматографический процесс заключается в многократном повторении актов сорбции и десорбции. Поскольку скорость сорбции и десорбции для молекул различных веществ различна, то после повторения большого числа элементарных актов хроматографического разделения при прохождении смеси веществ через слой сорбента происходит разделение её на отдельные компоненты. Положение и вид хроматографических зон разделяемых веществ зависят от формы изотермы сорбции, скорости установления равновесия, степени диффузии вещества в подвижной фазе.

Изотермой сорбции называется зависимость концентрации вещества, сорбированного неподвижной фазой, от его концентрации в подвижной фазе при постоянной температуре. Если изотерма сорбции линейна, установление равновесия происходит мгновенно и степень диффузии вещества в подвижной фазе пренебрежимо мала, идеальный хроматографический пик описывается кривой нормального распределения.

Для объяснения причин размывания хроматографических зон используются: метод теоретических тарелок и кинетическая теория.

В методе теоретических тарелок Мартина и Синджа хроматографическая колонка мысленно делится на ряд элементарных участков – «тарелок» и предполагается, что на каждой тарелке очень быстро устанавливается равновесие между сорбентом и подвижной фазой.

Каждая новая порция газа-носителя вызывает смещение этого равновесия, вследствие чего часть вещества переносится на следующую тарелку, на которой, в свою очередь, устанавливается новое равновесное распределение и происходит перенос вещества на последующую тарелку. В результате этих процессов хроматографируемое вещество распределяется на нескольких тарелках, причем на средних тарелках его концентрация оказывается максимальной по сравнению с соседними тарелками.

Количественной характеристикой хроматографической колонки являются: **высота эквивалентная теоретической тарелке** (H) и **число теоретических тарелок** (N).

$$H = \frac{L}{N} \qquad N = \frac{L}{H}$$

Высота эквивалентная теоретической тарелке представляет собой дисперсию, приходящуюся на единицу длины колонки. Чем меньше H и больше N ,

тем в меньшей степени происходит размывание пика и тем эффективнее хроматографическое разделение (рис. 11).

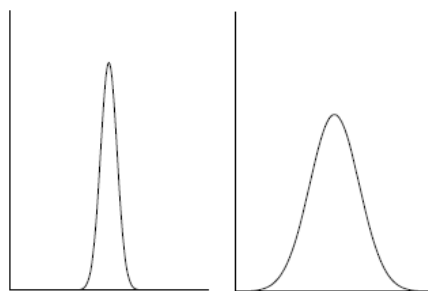


Рис. 11. Хроматограммы вещества X, полученные на колонках с различной эффективностью (размерность оси абсцисс одинакова)

Число теоретических тарелок можно рассчитать:

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 = k_x \left(\frac{t_R}{w_x}\right)^2$$

где t_R – время удерживания, k_x – коэффициент, величина которого зависит от того, на каком уровне измеряется ширина пика w_x .

В случае высокоэффективной колонки размывание полос небольшое, пики узкие. Величина H составляет 0,3-1 мм. В идеальном случае H приближается к размеру диаметра (d_p) зерна сорбента.

Приведенная высота тарелки (h) равна $h = H/d_p$. Используют для сравнения эффективность двух колонок. При уменьшении величины H максимумы на кривой элюирования становятся более острыми.

Число теоретических тарелок является мерой эффективности колонки и обычно постоянно для всех пиков на хроматограмме. Так как N является постоянной величиной, то при увеличении времени удерживания ширина пика увеличивается.

Кинетическая теория хроматографии основное внимание уделяет кинетике процесса, связывая высоту, эквивалентную теоретической тарелке, с процессами диффузии, медленным установлением равновесия и неравномерностью процесса.

Высота, эквивалентная теоретической тарелке, связана со скоростью потока **уравнением Ван-Деемтера**:

$$H = A + \frac{B}{U} + CU,$$

где A – величина связана с действием вихревой диффузии, которая зависит от размера частиц и плотности заполнения колонки;

B – величина связана с коэффициентом диффузии молекул в подвижной фазе, это слагаемое учитывает действие продольной диффузии;

C – константа характеризует кинетику процесса сорбция–десорбция, массопередачу и другие эффекты;

U – линейная скорость подвижной фазы.

Кинетическая теория дает основу для оптимизации хроматографического процесса.

2.5 Обработка хроматографических данных

Положение хроматографического пика на хроматограмме (удерживаемый объем и время удерживания) для данной хроматографической системы характеризует природу данного вещества. Площадь, ограниченная этой кривой и нулевой линией детектора (хроматографический пик), пропорциональна количеству данного вещества, прошедшего через детектор.

Качественный анализ.

Идентификация – это идентификация по параметрам удерживания (t_R , V_R), поскольку они отличаются хорошей воспроизводимостью, относительные стандартные отклонения не превышают 2%. Для большей достоверности идентификации сравнение хроматографических параметров известного и неизвестного вещества проводят в сильно различающихся условиях, например, получают данные об их хроматографическом поведении на колонках с различными неподвижными фазами. Если хроматографическое поведение стандартного и неизвестного вещества в таких случаях идентично, то достоверность идентификации возрастает до 99%.

При сравнении хроматограмм, полученных на разных приборах, чтобы избежать ошибок в идентификации, используют исправленное время удерживания и исправленный удерживаемый объем. Часто идентификацию проводят по относительному удерживанию ($t_{отн}$), т.е. по отношению удерживаемого объема определяемого компонента к удерживаемому объему вещества, принятого за стандарт:

$$t_{отн} = \frac{tR'}{tR_{ст}} = \frac{VR'}{VR_{ст}}$$

Эта величина зависит только от состава подвижной и неподвижной фаз.

Существует способ идентификации, основанный на одновременном использовании двух детекторов. Один детектор неспецифичен (катарометр, рефрактометр), а интенсивность сигнала другого детектора зависит от природы вещества, например, детектор – электронного захвата в газовой хроматографии (ГХ) или УФ детектор в жидкостной хроматографии. Сравнение хроматограмм, полученных с помощью двух детекторов, дает информацию, например, о составе и функциональных группах органических веществ.

Для качественной идентификации используют *индекс удерживания Ковача (I)*, который по существу является относительным параметром удерживания. В этом случае за стандарт берут два соседних алкана, один из которых элюируется до, а второй после исследуемого соединения, т.е.:

$$t'R(z) < t'R(x) < t'R(z+1),$$

где z – число атомов углерода в алкане.

Логарифмический индекс удерживания рассчитывают по формуле:

$$I = 100 \frac{\lg t'_{R(x)} - \lg t'_{R(z)}}{\lg t'_{R(z+1)} - \lg t'_{R(z)}} + 100z$$

Индекс Ковача и логарифм исправленного времени удерживания (или удерживаемый объем) связаны линейной зависимостью с числом атомов угле-

рода у членов гомологического ряда. Для любого n -алкана $I = 100z$. Для всех других соединений можно определять индекс Ковача относительно шкалы измерения n -алканов, используя данные справочных таблиц.

Индексы удерживания более чувствительны к изменению свойств системы, чем относительные удерживаемые объемы, поэтому идентификация по ним более надежна. Индексы удерживания используются не только для идентификации, но и для сравнительной оценки селективности неподвижных фаз.

Иногда для идентификации используют химические реакции до или после хроматографирования. В последнем случае отобранные фракции элюата анализируют химическими, физическими или физико-химическими методами на присутствие того или иного компонента.

Количественный анализ.

Для проведения количественного анализа по хроматограмме сигнал детектора передается на электронное устройство, которое преобразует его в цифровую форму, либо на самописец с диаграммной лентой. В последнем случае количественный анализ проводят по высоте или площади пика, так как эти параметры пропорциональны концентрации или количеству вещества в хроматографической зоне.

Измерение высот пиков проще, чем площадей, их можно измерить с большей точностью, особенно для веществ с малым временем удерживания. Чем меньше t_R , тем уже, острее пик. Однако измерение площадей для количественного определения компонентов используется чаще. Для этого используют несколько способов. Обычно проводят касательные к тылу и фронту пика и соединяют их линией параллельной нулевой линии (рис. 12). Площадь полученного треугольника составляет 96% от истинной и пропорциональна количеству вещества в пробе. Второй способ применяют при расчете площади только симметричных пиков. Для этого находят произведение высоты пика на его полуширину. Это произведение составляет 84% площади пика. Точность измерения площади пика зависит от отношения высоты пика к его ширине. Оптимальное значение лежит в пределах от 2 до 10.

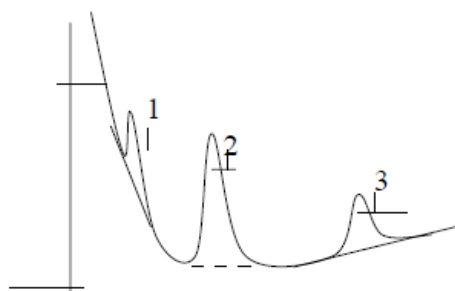


Рис. 12. Измерение высоты пика

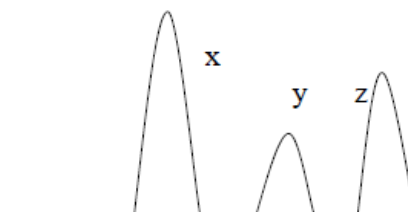


Рис. 13. Определение компонентов методом нормировки

Используя данные по высотам пиков или их площадям, можно рассчитать количественный состав пробы методами нормировки (с использованием или без использования поправочных коэффициентов), внешней (абсолютной калибровки) или внутренней стандартизации.

Метод нормировки. Для его использования необходимо, чтобы на хроматограмме (рис. 13) были зарегистрированы все компоненты, входящие в состав анализируемой смеси. Доля площади пика соответствует содержанию компонента в весовых процентах. При анализе смеси трех компонентов содержание компонента (%), например, соответствует пику X на хроматограмме, можно рассчитать по формуле:

$$x, \% = \frac{S_x}{S_x + S_y + S_z} \cdot 100$$

где S_x, S_y, S_z – площади пиков.

Эту формулу можно использовать только в том случае, если детектор одинаково чувствителен к каждому из разделяемых компонентов смеси, т.е. компоненты смеси, взятые в одинаковых количествах, дают одну и ту же площадь пика.

Если же чувствительность детектора различна по отношению к разным компонентам пробы, то используют поправочные коэффициенты f_x, f_y, f_z , учитывающие чувствительность детектора:

$$x, \% = \frac{S_x \cdot f_x}{S_x \cdot f_x + S_y \cdot f_y + S_z \cdot f_z} \cdot 100 \quad \text{или} \quad x, \% = \frac{S_x \cdot f_x}{\sum S_n f_n}$$

Поправочные коэффициенты получают при анализе стандартных серий и рассчитывают по формуле:

$$f_x = \frac{S_{ст} c_x}{S_x c_{ст}} f_{ст},$$

где $S_x, S_{ст}$ – площади пиков анализируемого вещества и стандарта, c_x и $c_{ст}$ – концентрации анализируемого вещества и стандарта, $f_{ст}$ – поправочный коэффициент стандарта.

Метод нормировки чаще всего используют на практике.

Метод внешнего стандарта используют при определении отдельных веществ или простых смесей, он удобен при определении микропримесей. Готовят два стандартных раствора определяемых компонентов, одинаковые их количества вводят в хроматограф и определяют площадь пика каждого компонента (S_1 и S_2). Результаты представляют либо графически (рис. 14, а), либо проводят расчет по формуле:

$$X, \% = k S_x$$

Градуировочный коэффициент k определяют при анализе проб стандартных серий смесей (рис. 14, б):

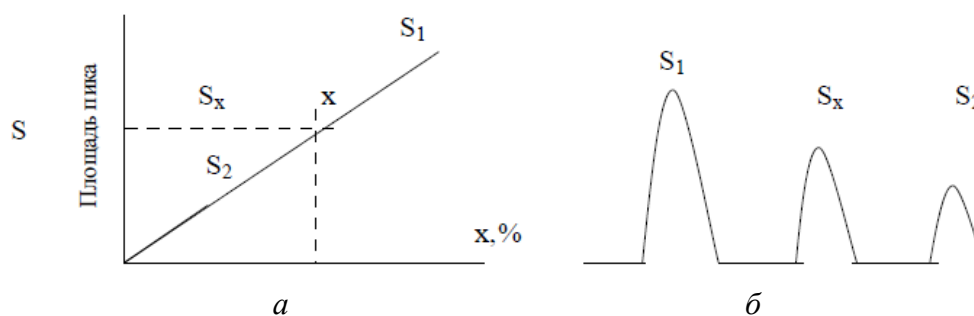


Рис. 14. Определение компонентов методом внешнего стандарта

Метод внутреннего стандарта применяют, если на хроматограмме отсутствуют пики некоторых компонентов анализируемой смеси. Метод основан на том, что в анализируемую смесь вводят некоторое количество стандартного вещества.

Требования к веществу, используемому в качестве внутреннего стандарта:

- должно полностью отделяться от других компонентов смеси;
- время удерживания его должно быть близким к t_R определяемых компонентов;
- должно быть химически инертным и отсутствовать в определяемой пробе;
- его концентрация должна быть близкой к концентрации определяемых компонентов; пики симметричными.

Для выполнения определения составляют смеси определенного точного состава внутреннего стандарта с каждым из компонентов, используют различные соотношения внутреннего стандарта и компонентов, получают хроматограммы таких смесей.

Определяют площади пиков и для каждого компонента рассчитывают поправочный коэффициент по формуле:

$$k = \frac{S_{\text{вн.ст}}}{S_x} \frac{c_x}{c_{\text{вн.ст}}},$$

где $S_{\text{вн.ст}}$, S_x – площади пиков внутреннего стандарта и определяемого компонента; $c_{\text{вн.ст}}$, c_x – концентрации стандарта и исследуемого вещества в искусственных смесях.

Зная поправочные коэффициенты, расчет процентного содержания компонента проводят по формуле:

$$x, \% = kr \frac{S_x}{S_{\text{вн.ст}}} 100, \quad r = \frac{m_{\text{вн.ст}}}{m_{\text{пробы}}}$$

Результаты можно представить графически (рис. 15):

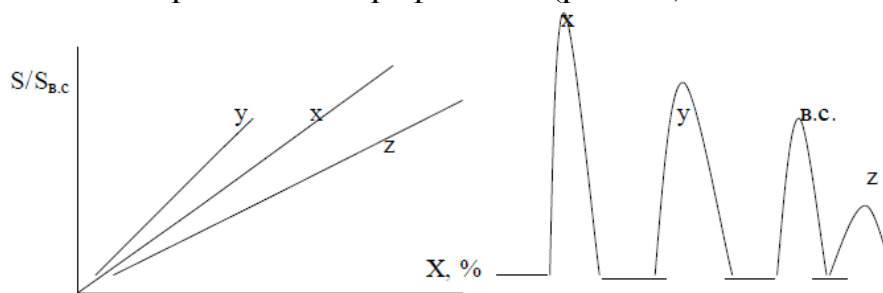


Рис. 15. Определение компонентов методом внутреннего стандарта

В методе внешнего и внутреннего стандарта используются одни и те же приёмы расчёта содержания вещества (метод градуировочного графика и др.). Основное различие заключается в характере используемого аналитического сигнала. В методе внешнего стандарта аналитическим сигналом является **высота (площадь)** пика определяемого вещества, в методе внутреннего стандарта – **отношение высот (площадей)** пиков определяемого вещества и внутреннего стандарта. Метод внутреннего стандарта обладает большей надёжностью и даёт более воспроизводимые результаты, особенно в случае сложной пробоподготовки.

2.6 Газовая хроматография

Газовая хроматография – процесс разделения компонентов смеси, основанный на различии в равновесном распределении компонентов между двумя фазами – газом-носителем (подвижная фаза) и либо твердой фазой, либо жидкостью, нанесенной в виде тонкой пленки на поверхность твердого носителя или стенки хроматографической колонки (жидкая неподвижная, жидкая стационарная фаза).

ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ	
Газоадсорбционная (ГАЗ) неподвижной фазой является дисперсное твёрдое тело (адсорбент)	Газожидкостная (распределительная) (ГЖХ) неподвижной фазой является слой жидкости, нанесённой на поверхность твёрдого носителя (зернистый мелкодисперсный материал или внутренние стенки колонки)

В газовой хроматографии наиболее распространена распределительная газожидкостная хроматография (ГЖХ).

Сущность метода ГЖХ. Анализируемая смесь летучих компонентов переводится в парообразное состояние и смешивается с потоком инертного газа-носителя, образуя с ним подвижную фазу (ПФ). Эта смесь проталкивается далее новой порцией непрерывно подаваемого газа-носителя и попадает в хроматографическую колонку, заполненную неподвижной (стационарной) жидкой фазой (НФ). Разделяемые компоненты распределяются между ПФ и НФ в соответствии с их коэффициентами распределения K :

$$K = \frac{c(\text{НФ})}{c(\text{ПФ})},$$

где $c(\text{НФ})$ и $c(\text{ПФ})$ – соответственно содержание (в г/мл) данного компонента в неподвижной и подвижной фазах, находящихся в динамическом равновесии.

Поток газа-носителя увлекает с собой разделяемую парообразную смесь вдоль хроматографической колонки, так что процессы сорбция-десорбция разделяемых компонентов повторяются многократно, причем каждый раз в системе устанавливается динамическое равновесие разделяемых веществ между ПФ и НФ. Эти многократные переходы разделяемых веществ из ПФ в НФ и обратно совершаются по всей длине хроматографической колонки до тех пор, пока пары разделяемых веществ не покинут колонку вместе с газом-носителем.

Поскольку сродство различных разделяемых веществ к НФ различно, то в процессе сорбционных-десорбционных переходов они задерживаются в НФ неодинаковое время. Чем выше температура кипения и относительная растворимость веществ в НФ, т.е. чем больше его коэффициент распределения, чем дольше оно находится в НФ, тем позже покидает хроматографическую колонку. В конце из хроматографической колонки вместе с газом-носителем выходят зоны парообразных хроматографируемых веществ, разделенных полностью или частично.

Если для двух компонентов смеси коэффициенты распределения одинаковы, то они не разделяются. Если же коэффициенты распределения различны, то разделение происходит, причем первым колонку покидает тот компонент, у которого коэффициент распределения наименьший.

2.7 Сорбенты газовой хроматографии

Сорбенты, используемые в ГАХ, представляют собой твердые тела, обладающие адсорбционной активностью по отношению к газо- и парообразным веществам, однородной пористостью и большой удельной поверхностью.

В ГЖХ роль сорбента выполняет жидкость, нанесенная в виде тонкой пленки на поверхность зерен инертного носителя.

Основными адсорбентами, применяемыми в газовой хроматографии, являются активированные угли, силикагели, оксид алюминия, синтетические цеолиты (молекулярные сита), пористые стекла, различные соли, пористые полимеры. Свойства адсорбентов: необходимая селективность, отсутствие каталитической активности и химической инертностью по отношению к компонентам разделяемой смеси, достаточная механическая прочность, определенное зернение.

Оптимальный твердый носитель должен обладать достаточной удельной поверхностью, значительным и по возможности одинаковым диаметром пор, химической и адсорбционной инертностью, одинаковы ми по форме и по размерам частицами, способностью смачиваться неподвижной фазой, механической прочностью. Широко применяются следующие носители:

- диатомитовый кирпич (кизельгур, инфузорная земля);
- хромосорб w, хромосорб р, сферосорб (основа – диатомитовый кирпич);
- силохром 1,2,3 (чистый кремнезем);
- хромосорб 101, 102, синахром, полихром, порапак (основа – стиролдивинилбензол).

В качестве неподвижной жидкой фазы в ГЖХ применяют различные органические вещества (дибутилфосфат, полиэтиленгликоль, диглицерин, вазелиновое масло и др.). Они должны удовлетворять следующим требованиям: иметь низкое давление паров при рабочей температуре колонки; обладать термостойкостью; хорошо растворять компоненты разделяемой смеси; обладать достаточной селективностью.

2.8 Подвижная фаза (газ-носитель)

В качестве подвижной фазы в газовой хроматографии применяют азот, гелий, водород, аргон и другие вещества. Газ-носитель должен:

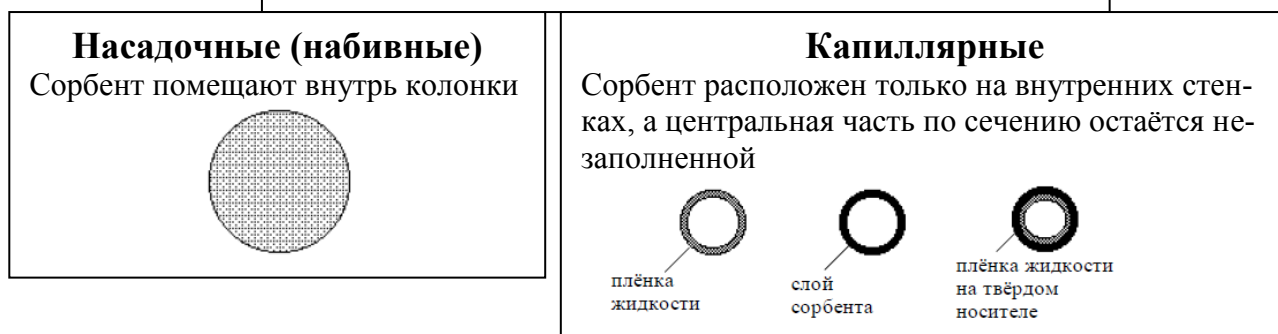
- ✓ быть инертен по отношению к определяемым веществам и сорбенту;
- ✓ иметь как можно меньшую вязкость;
- ✓ обеспечивать высокую чувствительность детектора;
- ✓ быть доступным, взрывобезопасным, достаточно чистым

Газы-носители хранятся в стальных баллонах под давлением (до 150 атм). Газ отбирается из баллона с помощью редуктора (устройства, позволяющего отбирать газ из баллона при давлении намного меньшем, чем давление в баллоне). Система подготовки газа необходима для установки, стабилизации, очистки газовых потоков, а также измерения их скорости. Она включает в себя регулятор давления, регулятор расхода газа, фильтры для очистки газа и т.д.

2.9 Хроматографические колонки

Хроматографические колонки весьма различны по форме, размерам и конструкционным материалам. Применяют прямые, спиральные и другие колонки длиной от 1-2 м до нескольких десятков метров; внутренний диаметр колонок составляет обычно несколько миллиметров. В зависимости от свойств анализируемой системы в качестве конструкционных материалов для колонок используются сталь, латунь, стекло и др. Большое влияние на сорбируемость газа оказывает температура, поэтому хроматографические колонки, как правило, термостатируются.

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ КОЛОНКИ



Капиллярные колонки обеспечивают более высокую эффективность хроматографического разделения, чем насадочные.

2.10 Жидкостная хроматография

Жидкостная хроматография (ЖХ) – группа хроматографических методов, в которых подвижной фазой является жидкость.





2.11 Ионообменная хроматография

Метод ионообменной хроматографии основан на использовании явления ионного обмена между неподвижной твердой фазой – ионообменником (сорбентом) и подвижной жидкой фазой – раствором, содержащим ионы, обмениваемые с ионами сорбента.

Ионный обмен – это гетерогенный процесс, при котором сорбент и находящийся с ним в контакте раствор обратимо и стехиометрически обменивается одноименно (одного и того же знака) заряженными ионами.

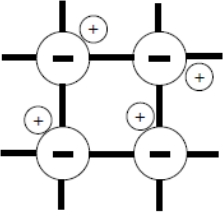
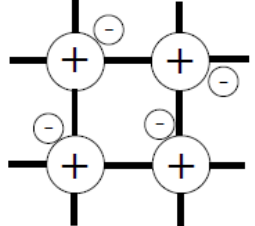
В качестве подвижных фаз в ионной хроматографии чаще всего используют водные растворы, поскольку вода является высокополярным растворителем и способствует ионизации вещества. Хроматографирование может проводиться при разных значениях pH в зависимости от природы разделяемых веществ и типа используемого ионообменника. С сильнокислотными и сильноосновными ионообменниками работают при pH 2-12, слабокислотными – 5-12, слабоосновными – 2-6.

В качестве неподвижных фаз в ионообменной хроматографии используются различные ионообменники.

Ионообменниками (ионитами) называют электролиты, у которых один ион является полимерным макроионом, а ионы противоположного знака могут обмениваться на ионы, находящиеся в растворе.

Ионообменники состоят из матрицы, в которой распределены ионогенные группы, включающие фиксированные, прочно связанные в матрице ионы и менее прочно связанные противоионы (т.е. ионы противоположного знака), способные к отщеплению от ионообменника и к переходу в раствор.

ИОНООБМЕННИКИ

<p>Катионообменники обмениваются катионами раствора, содержат в своей структуре ионогенные группы кислотного характера: $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{SH}$, $-\text{As}(\text{OH})_2$</p> 	<p>Амфотерные обмениваются катионами и анионами раствора, содержат в своей структуре и кислотные, и основные группы</p>	<p>Анионообменники Обмениваются анионами раствора, содержат в своей структуре ионогенные группы основного характера $-\text{NH}_2$, $=\text{NH}$, $\equiv\text{N}$</p> 
--	--	---



Ионообменники могут быть твёрдыми и жидкими. В ионообменной хроматографии в большинстве случаев используют твёрдые ионообменники. Полимерная матрица, лежащая в основе структуры ионообменника, может быть неорганической или органической. Наибольшее практическое применение имеют ионообменники органической природы, главным образом, сополимеры стирола с дивинилбензолом.

Наиболее важным представителем группы минеральных ионообменников являются *цеолиты*, способные к обмену катионов.

Цеолиты обладают правильной пространственной сетчатой структурой со сравнительно большими расстояниями между узлами решетки. Они мало набухают и подвижность противоионов в их порах очень мала. У многих цеолитов ограничена способность поглощать ряд крупных неорганических ионов. Все неорганические катионообменники, в том числе и синтетические, разлагаются кислотами, щелочами и поэтому могут применяться только в нейтральных растворах.

В настоящее время широкое применение получили синтетические органические ионообменники на основе искусственных смол; эти сорбенты не раство-

римы в воде и органических растворителях, обладают высокой ионообменной емкостью, селективностью, химической, термической и механической прочностью.

Синтетические ионообменные смолы представляют собой искусственно полученные органические высокомолекулярные соединения, ограниченно набухающие в водных растворах электролитов и обладающие ионообменными свойствами. Ионообменники получают путем полимеризации или конденсации мономеров, причем в процессе синтеза или путем обработки готового полимера им придают ионообменные свойства.

Ионообменные сорбенты должны отвечать следующим требованиям:

- обладать максимально возможной поглотительной способностью;
- обладать избирательной сорбцией по отношению к веществам разделяемой смеси;
- быть однородными, иметь степень дисперсности, достаточную для обеспечения необходимой скорости сорбции равномерного прохождения раствора через колонку с требуемой скоростью;
- иметь ограниченную набухаемость, обладать механической прочностью.

Некоторые типы ионообменных смол представлены в табл. 2.

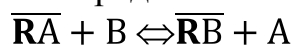
Таблица 2

Тип сорбента	Ионогенная группа	Подвижные ионы	Интервал pH обмена	Марка сорбента*
Сильнокислотный катионит	–SO ₃ H	H ⁺	0–14	КУ-1, КУ-2, СДВ
Среднекислотный катионит	–PO(OH) ₂	H ⁺	4–14	КФ
Слабокислотный катионит	–COOH, –OH	H ⁺	7–14	КБ-2, КБ-4
Сильноосновный анионит	–CH ₂ N(CH ₃)	Cl [–]	0–14	АВ-17, АВ-18
Слабоосновный анионит	–NH ₃ ⁺ OH [–]	OH [–]	0–7	АН-23, АН-2Ф

*КУ – катионообменник универсальный, СДВ – стиролдивинилбензол
 КФ – катионообменник фосфоновокислый, КБ – катионообменник буферный
 АВ – анионообменник высокоосновный, АН – анионообменник низкоосновный.

2.12 Ионообменное равновесие

Процесс обмена иона А, связанного с матрицей ионообменника (R), на ион В, находящийся в растворе, можно представить в виде равновесия:



Термодинамическая константа данного равновесия характеризует способность иона В обмениваться на ион А и имеет вид:

$$K_{B/A}^0 = \frac{a_{\bar{B}} a_A}{a_B a_{\bar{A}}}$$

На практике для описания ионообменного равновесия вместо термодинамической константы используют аналогичную концентрационную константу, называемую *коэффициентом селективности* ($K_{B/A}$), или смешанную константу, называемую *исправленным коэффициентом селективности* ($K'_{B/A}$):

$$K_{B/A} = \frac{[\bar{B}][A]}{[B][\bar{A}]}; K'_{B/A} = \frac{a_A[\bar{B}]}{a_B[\bar{A}]}$$

Для описания ионообменного равновесия используют также концентрационный коэффициент распределения (D), который равен отношению равновесной концентрации иона в сорбенте к его равновесной концентрации в растворе:

$$D(A) = \frac{[\bar{A}]}{[A]}$$

Обменная емкость характеризует способность ионообменников к ионному обмену и определяется числом моль обмениваемых ионов, приходящихся на 1 г сухого или на 1 мл (1 см³) набухшего ионообменника.

Обменная емкость зависит от природы и числа ионогенных групп, их способности к ионизации, температуры и некоторых других факторов. Для наиболее распространенных ионообменников обменная емкость равна 2-10 ммоль/г.

2.13 Плоскостная хроматография

В плоскостной хроматографии подвижная фаза перемещается в плоском слое сорбента.

ПЛОСКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ	
Бумажная (БХ)	Тонкослойная (ТСХ)
Носителем неподвижной жидкой фазы является специальная хроматографическая бумага. Неподвижной фазой считается жидкость, находящаяся в порах хроматографической бумаги	Сорбент нанесён в виде тонкого слоя (закрепленного или незакрепленного) на пластинку, изготовленную из стекла, алюминиевой фольги, различных полимеров и т. д.

Бумажная хроматография в настоящее время используется сравнительно редко, так как имеет ряд существенных недостатков (процесс разделения зависит от состава и свойств бумаги; содержание воды в порах бумаги может изменяться в зависимости от условий хранения; очень низкая скорость хроматографирования), низкая воспроизводимость результатов).

Тонкослойная хроматография (ТСХ) является одним из наиболее простых и эффективных экспресс-методов разделения и анализа веществ, не требующих сложного оборудования. Метод обладает высокой избирательностью и чувстви-

тельностью (низким пределом обнаружения). Этим методом можно определить 10-20 мкг вещества с точностью до 5-7%.

В тонкослойной хроматографии обычно используют хроматографические пластины заводского изготовления с закреплённым слоем сорбента. Основа пластинки может быть изготовлена из алюминиевой фольги, полимера (например, полиэтиленгликольтерефталата), стекла. Для удерживания слоя сорбента на подложке применяется гипс, крахмал, силиказоль и др. Толщина слоя сорбента может быть различной (0,1 мм и более), но обязательно одинаковой в любом месте хроматографической пластинки.

В качестве сорбентов в ТСХ используют силикагель, кизельгур, оксид алюминия, целлюлозу и др. В ионообменных хроматографических пластинках адсорбентами являются различные ионообменники.

В качестве подвижной фазы применяют либо индивидуальные растворители, либо смеси веществ, взятых в определённом соотношении (например, для определения барбитуратов хлороформ-ацетон 9:1).

2.14 Этапы получения плоскостных хроматограмм

- предварительный этап – подготовка сорбента и исследуемой пробы, подготовка подвижной фазы, насыщение хроматографической камеры;
- нанесение исследуемой пробы на хроматографическую пластинку или бумагу;
- хроматографирование;
- высушивание хроматограммы;
- обнаружение пятен (зон) разделённых компонентов пробы.

Нанесение исследуемого раствора на хроматографическую пластинку или бумагу проводят градуированным капилляром, микрошприцом или микропипеткой. Капля наносится касанием капилляра или иглы поверхности пластинки (но не надавливанием, так как при этом можно повредить слой сорбента!). Для предотвращения смывания веществ с пластинки нанесение пятен проводят на линии, находящейся на расстоянии 1-2 см от нижнего края пластинки. Оптимальное количество исследуемого вещества (объём раствора), наносимого на пластинку, обычно определяется экспериментально. Если наносимое количество вещества слишком мало, то его можно не заметить при последующем проявлении. Нанесение на пластинку слишком большого количества вещества приводит к перегрузке сорбента и, как следствие, размыванию пятна и уменьшению величины R_f (рис. 16).

После нанесения исследуемых веществ на хроматографическую пластинку или бумагу, последние помещают в хроматографическую камеру и проводят хроматографирование. Обычно процесс хроматографирования ведут до тех пор, пока растворитель не поднимется на расстояние ~10 см от линии старта.

После завершения процесса хроматографирования пластинку извлекают из хроматографической камеры и сушат. Высушенная пластинка представляет собой хроматограмму исследуемых веществ.

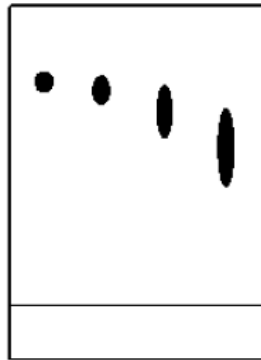


Рис. 16. Изменение положения и формы пятна при увеличении количества вещества, нанесённого на пластинку

2.15 Способы получения плоскостных хроматограмм



Восходящая хроматография. Фронт подвижной фазы перемещается снизу вверх под действием капиллярных сил. Для получения хроматограммы используется наиболее простое оборудование – в качестве хроматографической камеры можно использовать любую емкость с плоским дном и плотно закрывающейся крышкой, в которую свободно помещается хроматографическая пластинка. **Наиболее часто используемый способ получения хроматограмм.**

Нисходящая хроматография. Фронт подвижной фазы перемещается сверху вниз в основном под действием сил тяжести. Для получения нисходящей хроматограммы в верхней части хроматографической камеры крепится кювета с хроматографической системой, из которой с помощью фитиля на хроматографическую пластинку поступает растворитель.

Радиальная хроматография. Исследуемое вещество наносится в центр пластинки. Фронт подвижной фазы перемещается от центра к краю пластинки.

Двухмерная хроматография. После получения хроматограммы проводится повторное разделение в направлении, перпендикулярном исходному, с использованием подвижной фазы другого состава. Часто используется в бумажной хроматографии, например, в фармакогнозии при изучении состава лекарственных растений.

2.16 Анализ плоскостной хроматограммы

Разделяемые компоненты образуют на хроматографической пластинке или полоске хроматографической бумаги отдельные зоны (пятна) (рис. 17). Зоны окрашенных веществ можно обнаружить визуально. Для обнаружения неокрашенных соединений используют физические (например, облучение УФ-светом), химические (обработка хроматограммы различными реагентами-проявителями), а в некоторых случаях и биологические методы.

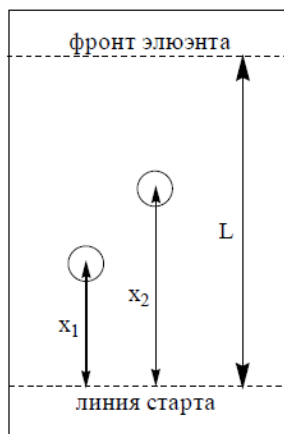


Рис. 17. Примерный вид плоскостной хроматограммы

Идентификацию веществ на хроматограмме осуществляют по характеру окраски пятен, параметру удерживания R_f и с помощью стандартных веществ (свидетелей).

Положение отдельных хроматографических зон на хроматограмме характеризуют с помощью величины R_f , равной отношению расстояния, пройденного зоной вещества от стартовой линии до центра зоны (x), к расстоянию от стартовой линии до границы фронта растворителя к концу опыта (L):

$$R_f = \frac{x}{L}$$

Величина R_f может принимать значения от 0 до 1. Если $R_f = 0$, то вещество остаётся на старте, если $R_f = 1$, то оно поднимается с фронтом растворителя. Величина R_f является качественной хроматографической характеристикой вещества. Она зависит от природы вещества, подвижной и неподвижной фазы, условий хроматографирования и, в определённых пределах, не зависит от концентрации вещества. Подвижность разделяемых веществ можно также сравнить с подвижностью вещества, принятого за стандарт:

$$R_{ст} = \frac{R_{fx}}{R_{fст}} = \frac{x_i}{x_{ст}}$$

Величина R_f связана с коэффициентом распределения вещества (D) и коэффициентом емкости неподвижной фазы по отношению к данному веществу (k') следующими уравнениями:

$$D = \frac{V_m}{V_s} \left(\frac{1}{R_f} - 1 \right), \quad k' = \frac{1 - R_f}{R_f}$$

При стандартных условиях величина R_f является постоянной величиной, характерной для данного соединения. На величину R_f влияет качество и активность сорбента, его влажность, толщина слоя, качество растворителей и другие факторы, не всегда поддающиеся достаточному контролю.

Поэтому наряду с величиной R_f идентификацию проводят по “свидетелю”. Стандартное вещество (свидетель), наличие которого предполагают в анализируемой смеси, наносят на линию стандарта рядом с исследуемой пробой. Таким образом, стандартное вещество хроматографируется в тех же условиях. После хроматографирования и детекции пятен сравнивают величины R_f определяемого вещества и “свидетеля”.

Плоскостная хроматография используется, главным образом, для обнаружения и идентификации веществ.

2.17 Колоночная жидкостная хроматография

В колоночной жидкостной хроматографии сорбент находится в стеклянной или металлической трубке (колонке).

В классическом варианте колоночной хроматографии используются сорбенты с диаметром частиц более 100 мкм. Колонка может иметь длину до нескольких метров. Элюент продвигается по колонке под действием силы тяжести.

Таблица 3

Характеристика некоторых детекторов, используемых в жидкостных хроматографах

Детектор	Измеряемый сигнал	Определяемые вещества
дифференциальный рефрактометр	разность показателей преломления элюата и элюента	универсальный
УФ-детектор с фиксированной длиной волны (254 нм)	разность между поглощением элюата и элюента при 254 нм	вещества, поглощающие электромагнитное излучение с длиной волны 254 нм
спектрофотометрический	разность между поглощением элюата и элюента при выбранной длине волны	вещества, поглощающие излучение с выбранной длиной волны
флуоресцентный	интенсивность испускаемого света	вещества, обладающие флуоресценцией
кондуктометрический	низкочастотная электропроводность элюата	ионы
потенциометрический	разность потенциалов ионоселективного электрода и электрода сравнения	ионы
вольтамперометрический	сила тока при постоянном потенциале электродов	вещества, способные к электрохимическому окислению или восстановлению

2.18 Эксклюзионная хроматография

В эксклюзионной хроматографии (гель-хроматографии) разделение основано на различиях в размерах и форме молекул.

В качестве твёрдого носителя в гель-хроматографии используют различные сетчатые полимеры («гели»). Неподвижной фазой является элюент, находящийся в порах зёрен твёрдого носителя, подвижной фазой – этот же элюент, протекающий вдоль слоя частиц полимера. В процессе хроматографирования более мелкие молекулы проникают в поры геля и задерживаются в находящейся в них неподвижной фазе. Более крупные молекулы не проникают в поры и поэтому движутся быстрее. Таким образом, выход компонентов смеси из колонки происходит в порядке уменьшения их молекулярных масс (рис. 18).

Величина коэффициента распределения (D) в эксклюзионной хроматографии может находиться в пределах от 0 до 1. Для крупных молекул, не способных проникать в поры геля, $D = 0$, следовательно, удерживаемый объём равен свободному объёму колонки – $V_R = V_m$. В случае молекул, размер которых позволяет им свободно диффундировать через пористый материал, $D = 1$ (поскольку состав подвижной и неподвижной фаз одинаков), следовательно, удерживаемый объём равен сумме свободного объёма колонки и объёма жидкости, находящейся в порах – $V_R = V_m + V_s$. Для молекул промежуточного размера $V_m < V_R < V_s$. Поскольку диапазон возможных значений D в эксклюзионной хроматографии очень узок, то для эффективного разделения в данном виде хроматографии приходится применять длинные колонки или несколько соединённых друг с другом колонок.

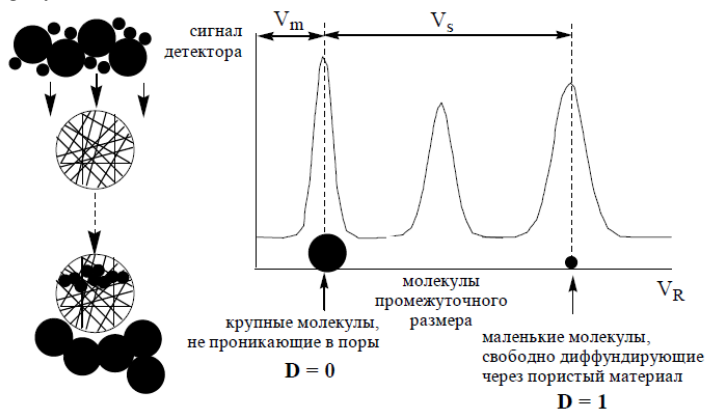


Рис. 18. Принцип эксклюзионной хроматографии

Гели – твердые носители, используемые в эксклюзионной хроматографии.

ГЕЛИ		
<p>Мягкие Органические ВМС с небольшим числом поперечных связей (сефадексы, аграгозные и др.)</p>	<p>Полужесткие Сополимеры стирола и дивинилбензола, поливинилацетатные гели и др.</p>	<p>Жесткие Имеют фиксированный размер пор (силикагели и пористые стекла)</p>

Большинство из мягких гелей гидрофильны. Процесс хроматографирования на мягких гелях называется *гель-фильтрационной хроматографией*. Полужёсткие гели в основном гидрофобны. Процесс хроматографирования на таких гелях называется *гель-проникающей хроматографией*.

В качестве растворителей в эксклюзионной хроматографии используют воду, диметилформамид, хлороформ, толуол и т.д. Выбор растворителя зависит от типа используемого геля, вида разделяемых веществ, применяемой системы детектирования.

Основное назначение гель-хроматографии –разделение смесей высокомолекулярных соединений (а также высокомолекулярных и низкомолекулярных) и определение молекулярномассового распределения полимеров. Как и ионообменная хроматография гель-хроматография может быть колоночной и плоскостной, проводится как в «классическом» варианте, так и в высокоэффективном.

2.19 Жидкостно-адсорбционная хроматография на колонке

Разделение смеси веществ в адсорбционной колонке происходит в результате различия их в сорбируемости на данном адсорбенте.

Адсорбентами являются пористые тела с сильно развитой внутренней поверхностью, удерживающие жидкости с помощью межмолекулярных и поверхностных явлений. Это могут быть полярные и неполярные неорганические и органические соединения. К полярным адсорбентам относятся силикагель (высушенная желатинообразная двуокись кремния), оксид алюминия, карбонат кальция, целлюлоза, крахмал и др. Неполярные сорбенты – активированный уголь, порошок резины и множество других, полученных синтетическим путем.

Требования, предъявляемые к сорбентам:

– они не должны вступать в химические реакции с подвижной фазой и разделяемыми веществами;

– должны обладать механической прочностью;

– зерна адсорбента должны быть одинаковой степени дисперсности.

При выборе условий для хроматографического процесса учитывают свойства адсорбента и адсорбируемых веществ.

В классическом варианте жидкостной колоночной хроматографии (ЖКХ) через хроматографическую колонку, представляющую собой стеклянную трубку диаметром 0,5-5 см и длиной 20-100 см, заполненную сорбентом – неподвижная фаза (НФ), пропускают элюент – подвижная фаза (ПФ). Элюент движется под воздействием силы тяжести. Скорость его движения можно регулировать имеющимся внизу колонки краном. Анализируемую смесь помещают в верхнюю часть колонки. По мере продвижения пробы по колонке происходит разделение компонентов. Через определенные промежутки времени отбирают фракции выделившегося из колонки элюента, который анализируют каким-либо методом, позволяющим измерять концентрации определяемых веществ.

2.20 Высокоэффективная жидкостная хроматография

Хроматографическое разделение смеси на колонке вследствие медленного продвижения ПФ занимает много времени. Для ускорения процесса хроматографирование проводят под давлением. Этот метод называют высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ)

Высокоэффективная жидкостная хроматография является удобным способом разделения, препаративного выделения и проведения качественного и количественного анализа нелетучих термолабильных соединений как с малой, так с большой молекулярной массой.

В зависимости от типа применяемого сорбента в данном методе используют 2 варианта хроматографирования: на полярном сорбенте с использованием неполярного элюента (вариант прямой фазы) и на неполярном сорбенте с использованием полярного элюента – так называемая *обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография* (ОфВЖХ).

При переходе элюента к элюенту равновесие в условиях ОфВЖХ устанавливается во много раз быстрее, чем в условиях полярных сорбентов и неводных ПФ. Вследствие этого, а также удобства работы с водными и водно-спиртовыми элюентами, ОфВЖХ получила в настоящее время большую популярность. Большинство анализов при помощи ВЖХ проводят именно этим методом.

В высокоэффективной жидкостной хроматографии используются сорбенты, обладающие особыми свойствами (однородность частиц, ненабухаемость и т.д.). Диаметр частиц этих сорбентов не превышает 50 мкм. Часто в ВЭЖХ применяют сорбенты с различными привитыми группами. Скорость движения подвижной фазы и эффективность разделения в ВЭЖХ значительно выше, чем в классическом варианте хроматографии.

Аппаратура для ВЭЖХ. Основные узлы и схема современного жидкостного хроматографа представлена на рис. 19.

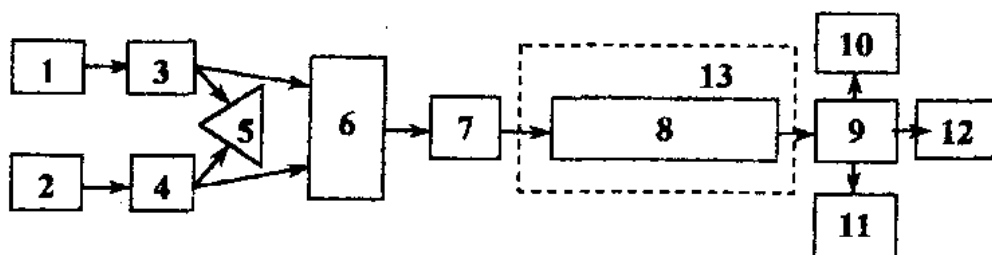


Рис. 19. Схема современного жидкостного хроматографа

1,2 - сосуды с элюентами; 3, 4 - насосы; 5 контроллер; 6 - смешивательная камера; 7 - инжектор; 8 - колонка; 9 - детектор; 10 - регистратор; 11 - блок автоматической обработки результатов анализа; 12 — коллектор фракций; 13- термостат

Комплект современного оборудования для ВЖХ, как правило, состоит из двух насосов 3, 4, управляемых микропроцессором 5, и по дающих элюент по определенной программе. Насосы создают давление до 40 МПа. Проба вводится через специальное устройство (инжектор) 7 непосредственно в поток элюен-

та. После прохождения через хроматографическую колонку 8 вещества детектируются высокочувствительным проточным детектором 9, сигнал которого регистрируется и обрабатывается микро-ЭВМ 11. При необходимости, в момент выхода пика автоматически отбираются фракции.

Колонки для ВЖХ выполняют из нержавеющей стали с внутренним диаметром 2-6 мм и длиной 10-25 см. Колонки заполняют сорбентом (НФ). В качестве НФ используются силикагель, оксид алюминия или модифицированные сорбенты. Модифицируют обычно силикагель, внедряя химическим путем в его поверхность различные функциональные группы.

Регистрация выхода из колонки отдельного компонента производится с помощью детектора. Для регистрации можно использовать изменение любого аналитического сигнала, идущего от подвижной фазы и связанного с природой и количеством компонента смеси. В жидкостной хроматографии используют такие аналитические сигналы, как светопоглощение или светоиспускание выходящего раствора (фотометрические и флуориметрические детекторы), показатель преломления (рефрактометрические детекторы), потенциал и электрическая проводимость (электрохимические детекторы) и др.

Непрерывно детектируемый сигнал регистрируется самописцем. Хроматограмма представляет собой зафиксированную на ленте самописца последовательность сигналов детектора, вырабатываемых при выходе из колонки отдельных компонентов смеси. В случае разделения смеси на внешней хроматограмме видны отдельные пики. Положение пика на хроматограмме используют для целей идентификации вещества, высоту или площадь пика – для целей количественного определения.

Для анализа лекарственных препаратов, БАДов (определение активных компонентов, примесей, консервантов) методом ВЭЖХ применяют современные хроматографы (рис. 20).

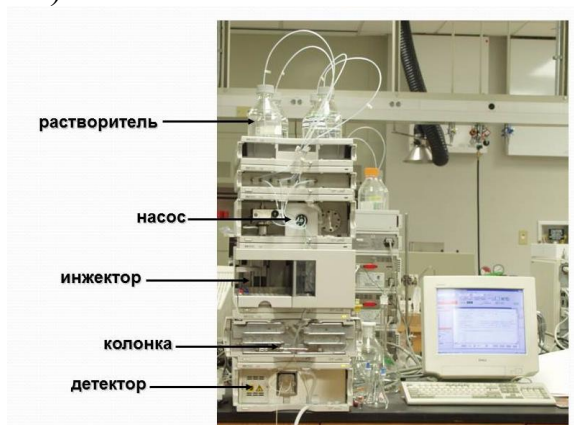


Рис. 20. ВЭЖХ Хроматограф Hewlett-Packard Series 1100 HPLC

Высокоэффективная жидкостная хроматография используется для разделения, в том числе и препаративного выделения, обнаружения и идентификации, а также количественного определения веществ различной химической природы (как полярных, так и неполярных, как ионов, так и молекул, как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных).

2.21 Применение хроматографических методов в фармации

В фармакопейном анализе газожидкостную хроматографию используют при контроле качества субстанций и лекарственных форм – чаще всего для идентификации и определения остаточных летучих растворителей, следы которых сохраняются при их получении. Так, например, определяют ацетон и метанол в пилокарпина и сотанола гидрохлоридах, метанол в парацетаме, этанол в калгеле и мелоксикаме, изопропанол в амиодароне, примеси в камфоре, бромкамфоре, в препаратах витамина Е и во многих других лекарственных формах и субстанциях.

Колоночная адсорбционная хроматография в настоящее время применяется, главным образом не как самостоятельный метод анализа, а как способ предварительного (иногда и конечного) разделения сложных смесей на более простые, т.е. для подготовки к анализу другими методами (в том числе и хроматографическими). Например, на колонке с окисью алюминия разделяют смесь токоферолов, пропускают элюент и собирают фракцию α -токоферола для последующего определения фотометрическим методом.

Универсальность и доступность тонкослойной хроматографии сделали её одним из ведущих методов фармацевтического анализа. ТСХ – фармакопейный метод и широко применяется для анализа и контроля качества разнообразных лекарственных средств, например определение неидентифицированных примесей и продуктов разложения препарата нитразепам.

Ионообменная хроматография используется при анализе многих лекарственных препаратов – таких, как атропина сульфат, мезатон, папаверина гидрохлорид, тифен, фенадон, эфедрина гидрохлорид и др. Методом ионообменной хроматографии проводят количественное определение натрия цитрата для инъекций.

В фармацевтическом анализе метод ВЭЖХ используется чаще, чем метод газовой хроматографии, поскольку многие лекарственные вещества представляют собой сложные органические соединения, имеющие высокие температуры кипения или разрушающиеся при нагревании. Основные области применения ВЭЖХ в фармацевтическом анализе: идентификация лекарственных веществ, присутствующих в лекарственных формах; определение примесей в лекарственных веществах (как в индивидуальных образцах, так и в лекарственных формах); количественное определение лекарственных веществ, входящих в состав лекарственных форм (особенно в случае лекарственных форм сложного состава или при малом содержании определяемого компонента); определение лекарственных веществ в биологических объектах.

Например, методом ВЭЖХ анализируют лекарственные препараты альдактон, амизол, вальпроат натрия, глиборал, кофеин, лидакоина гидрохлорид, месалазин, парацетамол, парацетам и многие другие. Особенно рекомендуется применение данного метода для анализа многокомпонентных лекарственных форм, например, таблеток пенталгина ICN.

Обучающие задачи

Задача 1

При хроматографировании на бумаге величины R_f составили для фенобарбитала 0,5, для барбитала 0,7 для этаминала Na 0,95. Какой из указанных барбитуратов присутствует в исследуемом растворе, если в тех же условиях при пробеге растворителя 12 см пятно оказалось на расстоянии 8,2 см от старта?

Решение:

1. Рассчитываем параметр удерживания R_f исследуемого раствора по формуле:

$$R_f = \frac{l_i}{l_{p-ля}}; \quad R_f = \frac{8,2}{12} = 0,68 = 0,7$$

2. Так как R_f (раствора) = R_f (барбитала), следовательно, в растворе присутствует барбитал.

Ответ: барбитал.

Задача 2

Определите массовую долю (в %) компонентов газовой смеси по следующим данным:

Компоненты смеси	Пропан	Бутан	Пентан
S, мм ²	175	203	182
K	0,68	0,66	0,69

Решение:

1. Массовую долю компонентов газовой смеси рассчитываем по формуле:

$$\omega(X), \% = \frac{S(X) \cdot K(X)}{\sum S_i \cdot K_i} \cdot 100 \% .$$

2. Находим сумму произведения площади и коэффициента компонентов газовой смеси по формуле:

$$\begin{aligned} \sum S_i \cdot K_i &= S_{\text{пропана}} \cdot K_{\text{пропана}} + S_{\text{бутана}} \cdot K_{\text{бутана}} + S_{\text{пентана}} \cdot K_{\text{пентана}} \\ \sum S_i \cdot K_i &= (175 \text{ мм}^2 \cdot 0,68 + 203 \text{ мм}^2 \cdot 0,66 + 182 \text{ мм}^2 \cdot 0,69) = 378,56 \text{ мм}^2. \end{aligned}$$

$$3. \quad \omega_{\text{пропана}}, \% = \frac{175 \cdot 0,68}{378,56} \cdot 100 \% = 31,43\%;$$

$$\omega_{\text{бутана}}, \% = \frac{203 \cdot 0,66}{378,56} \cdot 100 \% = 35,39\%;$$

$$\omega_{\text{пентана}}, \% = \frac{182 \cdot 0,69}{378,56} \cdot 100 \% = 33,17\%.$$

Ответ: $\omega_{\text{пропана}} = 31,43\%$; $\omega_{\text{бутана}} = 35,39\%$; $\omega_{\text{пентана}} = 33,17\%$.

Задача 3

К 100 см³ 0,1 М соляной кислоты добавили 5 г катионита в Na⁺-форме. После установления равновесия содержание ионов водорода уменьшилось до 0,0015 моль. Определите статическую емкость катионита для ионов водорода.

Решение:

1. Статическую емкость катионита для ионов определяем по формуле:

$$\Gamma(X) = \frac{(c_o - c) \cdot V_{p-pa}}{m_{\text{ионита}}}$$

2. Рассчитываем равновесную концентрацию соляной кислоты:

$$c = n / V = 0,0015 \text{ моль} / 0,1 \text{ дм}^3 = 0,015 \text{ моль/дм}^3.$$

$$3. \Gamma(\text{H}^+) = \frac{(0,1 - 0,015) \text{ моль/л} \cdot 0,1 \text{ л}}{5 \text{ г}} = 0,0017 \text{ моль/г} = 1,7 \text{ моль/кг}$$

Ответ: $\Gamma(\text{H}^+) = 1,7 \text{ моль/кг}$.



Задачи для самостоятельного решения

1. При анализе бинарной смеси, содержащей ацетон и бензол, методом ГЖХ получена хроматограмма со следующими данными:

Компоненты смеси	Ацетон	Бензол
Высота пика, см	10	14
Ширина основания, см	12	20

Рассчитайте массовую долю ацетона и бензола в анализируемой смеси.

(*Ответ:* ацетона 30%, бензола 70%)

2. Рассчитайте R_f и R_s для аланина по следующим данным хроматографического разделения: расстояние от линии старта до линии финиша составляет 50 мм, расстояние от линии старта до середины пятна аланина – 45 мм, расстояние от линии старта до центра пятна стандартного вещества – 46 мм. (*Ответ:* 0,90; 0,98)

3. Через колонку с катионитом в H^+ - форме пропустили 20,00 мл раствора KCl. Элюат оттитровали 15,00 мл 0.1 М раствора NaOH. Определите содержание KCl в анализируемом растворе (г). (*Ответ:* 0,1188 г)

Учебно-исследовательская лабораторная работа

Тема: Разделение смеси аминокислот методом тонкослойной хроматографии

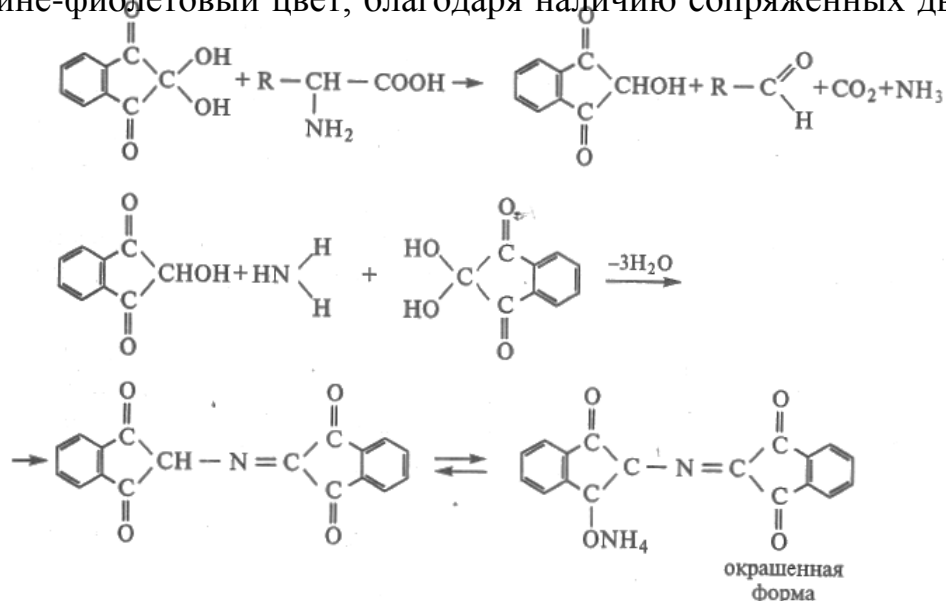
Цель работы: ознакомиться с разделением аминокислот методом тонкослойной хроматографии с последующей идентификацией их с помощью проявителя;

научиться рассчитывать относительную скорость и степень разделения аминокислот.

Сущность метода

В хроматографической камере (стеклянный стакан с притертой крышкой) (рис. 1) проводят разделение смеси аминокислот, используя силикагель (сорбент) и смесь изопропилового спирта с водой (растворитель). Полученную хроматограмму проявляют с помощью раствора нингидрина. При взаимодействии α -аминокислот с нингидрином образуются вещества, окрашенные в интен-

сивный сине-фиолетовый цвет, благодаря наличию сопряженных двойных связей:



Оборудование: Хроматографическая камера, пинцет, капилляры для нанесения растворов на пластинку, хроматографическая пластинка марки «Silufol» (5x15 см) носитель – силикагель, закрепленный крахмалом на алюминиевой подложке.

Реактивы: Растворы аминокислот: глицин, β-фенил-α-аланин, лизин солянокислый, валин, 1 мг/мл; подвижный растворитель: смесь изопропилового спирта и воды (7:3); проявитель: 0,25%-ный раствор нингидрина в ацетоне.

Методика определения

1. В хроматографическую камеру наливают слой растворителя 0,5–0,8 см и плотно закрывают крышкой или стеклом, оставляют на 30 мин. для насыщения.
2. На хроматографическую пластинку, на расстоянии 1,5 см от нижнего края, наносят капилляром растворы–свидетели аминокислот и задачу (раствор, содержащий смесь аминокислот неизвестного состава). **Внимание!** Все манипуляции с хроматографической бумагой продельывают с помощью пинцета. Бумагу следует брать руками только за внешний контур. Все растворы наносят на одинаковом расстоянии друг от друга, предварительно отметив на пластинке карандашом места нанесения. Растворы наносят строго по одной линии (стартовая линия). После каждого нанесения пробы пятну дают подсохнуть. Диаметр пятен не должен превышать 3 мм и они ни в коем случае не должны касаться друг друга. Чем меньше пятно, тем лучше разделение. Последовательность нанесения растворов–свидетелей аминокислот записывают в тетрадь.

Все операции с проявителем и растворителем проводятся только в вытяжном шкафу!

3. Пластинку с нанесенными растворами устанавливают в хроматографическую камеру вертикально, под небольшим наклоном так, чтобы слой растворителя не касался пятен аминокислот на пластинке, и ведут хроматографирование восходящим методом (рис. 1). Крышка камеры должна быть плотно закрыта.

Хроматографирование ведут до тех пор, пока слой растворителя не поднимется на 10–12 см (рис. 2).

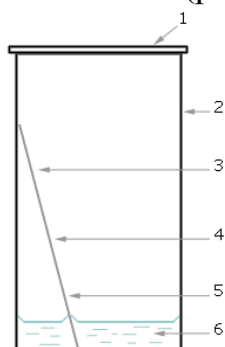


Рис. 1. Хроматографическая камера с пластинкой

1. крышка
2. стеклянная камера
3. пластинка ТСХ
4. сорбент
5. место нанесения пробы
6. растворитель

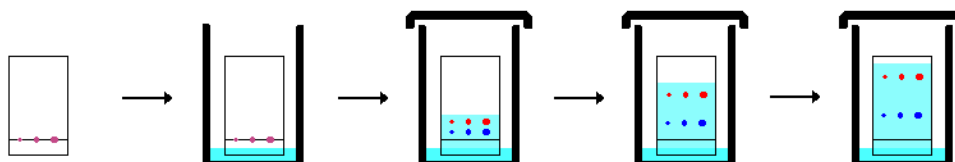


Рис. 2. Схема хроматографирования

4. Пластинку вынимают, подсушивают на воздухе, отмечают карандашом линию фронта растворителя, опрыскивают или смачивают проявителем и снова подсушивают. Проявитель следует наносить так, чтобы хроматограмма становилась лишь влажной (рис. 3)

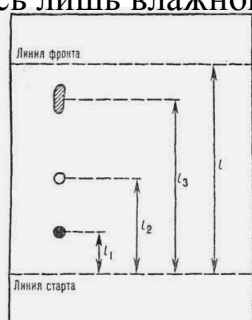


Рис. 3. Вид пластинки после обработки проявителем и подсушивании

5. Рассчитывают относительную скорость перемещения R_f каждой аминокислоты по уравнению: $R_f = l/L$

где l – расстояние от линии старта до середины зоны (пятна), см;

L – расстояние, пройденное растворителем от линии старта до линии фронта, см.

6. Рассчитывают степень разделения для каждой аминокислоты по уравнению:

$$R_s = \frac{R_f}{R_{f\text{ ст}}}$$

где $R_{f\text{ ст}}$ – величина, характеризующая положение пятна «свидетеля».

Контрольные вопросы

1. Сущность метода тонкослойной хроматографии.
2. Что представляет собой неподвижная твердая фаза в ТСХ?
3. Требования, предъявляемые к твердой фазе.
4. Какие растворители используются в ТСХ и как они выбираются?
5. С какой целью используются в ТСХ «свидетели»?
6. Как осуществляется процесс тонкослойного хроматографирования?
7. Как проявляется хроматограмма?
8. Какова область применения ТСХ в фармации?

Учебно-исследовательская лабораторная работа

Тема: Раздельное определение борной кислоты и сульфата никеля методом ионообменной хроматографии

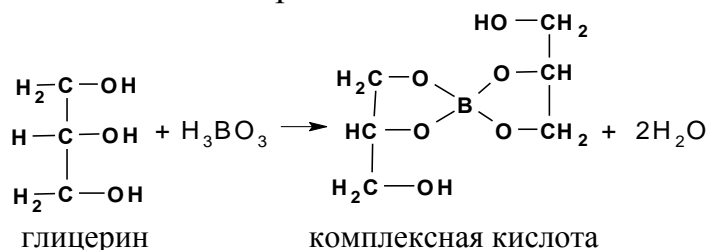
Цель работы: освоить метод ионообменной хроматографии для раздельного определения компонентов раствора, научить определять содержание ионов никеля и борной кислоты при совместном присутствии.

Сущность метода

При пропускании исследуемого раствора борной кислоты и NiSO_4 через колонку с катионитом, находящимся в виде H^+ -форме, катионы H^+ обмениваются на Ni^{2+} : $\text{Ni}^{2+} + \text{H}_n\text{Kt} \rightleftharpoons \text{NiH}_{n-2}\text{Kt} + 2\text{H}^+$

Выделившаяся в результате ионного обмена серная кислота оттитровывается щелочью: $\text{H}_2\text{SO}_4 + 2\text{NaOH} \rightleftharpoons \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$
 $2\text{H}^+ + 2\text{OH}^- = 2\text{H}_2\text{O}$

Находящаяся в растворе борная кислота оттитровывается щелочью в присутствии глицерина, при взаимодействии ортоборной кислоты с глицерином образуется кислота в виде диглицератного комплекса:



Оборудование: Колонка с катионитом КУ-28, груша резиновая, колба коническая (50 см³), колба коническая для титрования (250 см³), пипетка Мора (5 см³), цилиндр мерный (100 см³, 10 см³), бюретка (25 см³), воронка коническая.

Реактивы: Растворы: 0,2М NaOH; 2М NH₄OH; 3М HCl; глицерина; диметилглиоксима; метилоранжа; метилового красного; фенолфталеина.

Методика определения

1. Полученную в колбе задачу доводят до метки дистиллированной водой.
2. Мерную пипетку на 5 см³ промывают приготовленным раствором, отмеривают аликвоту и пропускают через колонку с катионитом (рис. 1) в коническую колбу для титрования на 250,0 мл.

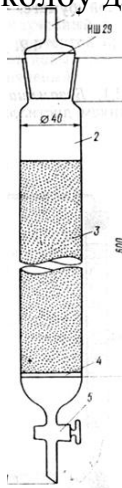


Рис. Схема ионообменной колонки 1 – пробка, 2 – пространство между ионитом и пробкой 3 – ионит 4 – стекловата 5 – кран

- Промывают колонку 100 см³ кипяченой дистиллированной водой.
- Проверяют полноту промывания катионита: для этого из колонки в пробирку отбирают несколько капель раствора и добавляют к нему 1-2 капли индикатора метилоранжа. При полном промывании катионита раствор окрашивается в оранжевый цвет.
- К раствору, собранному из колонки в коническую колбу для титрования на 250,0 мл (H₂SO₄ и HCl вместе с промывной водой) добавляют 1-2 капли индикатора метилового красного.
- Титруют раствор гидроксидом натрия до появления желтого окрашивания. После этого в титруемый раствор добавляют 5 см³ раствора глицерина, 1-2 капли индикатора фенолфталеина и продолжают титрование до не исчезающей розовой окраски (для смещения равновесия в сторону образования комплексной кислоты глицерин добавляют дважды).
- Опыт по разделению сульфата никеля и борной кислоты повторяют трижды. Полученные результаты заносят в табл.

Таблица

V(NaOH), индикатор метиловый красный, см ³				V(NaOH), индикатор фенолфталеин, см ³			
V ₁	V ₂	V ₃	V _{ср}	V ₁	V ₂	V ₃	V _{ср}

- Определяют содержание ионов никеля по формуле:

$$c(\text{Ni}^{2+}) = \frac{c(\text{NaOH}) \cdot V_1 \cdot M(1/2\text{Ni}) \cdot V_{\text{к}}}{V_{\text{н}}},$$

где $c(\text{Ni}^{2+})$ – содержание ионов Ni в растворе;

$c(\text{NaOH})$ – концентрация раствора NaOH, моль/л;

V_1 – объем раствора NaOH, пошедший на нейтрализацию H₂SO₄ в присутствии метилового красного, см³;

$V_{\text{н}}$ – объем раствора, взятого для анализа, см³;

$V_{\text{к}}$ – объем колбы, см³;

$M(1/2\text{Ni})$ – молярная масса эквивалента никеля, г/моль.

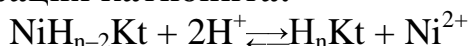
- Определяют содержание борной кислоты по формуле:

$$c(\text{H}_3\text{BO}_3) = \frac{c(\text{NaOH}) \cdot V_2 \cdot M(\text{H}_3\text{BO}_3) \cdot V_{\text{к}}}{V_{\text{н}}}$$

где V_2 – объем раствора, израсходованного на титрование по фенолфталеину, см³;

$M(\text{H}_3\text{BO}_3)$ – молярная масса борной кислоты, г/моль.

Регенерация катионита:



- Через колонку пропускают горячий 3М раствор HCl.
- Проверяют прекращение реакции на Ni²⁺ пробой с диметилглиоксимом. Для этого в пробирку помещают 1 каплю диметилглиоксима, добавляют 2 капли раствора NH₄OH и 1 каплю раствора, вытекающего из колонки. Присутствие ионов Ni²⁺ показывает окрашивание раствора в розовый цвет.
- Для удаления избытка соляной кислоты из катионита промывают колонку

горячей дистиллированной водой.

4. Проверяют полноту промывания пробой с метилоранжем. В пробирку помещают 1 каплю раствора, вытекающего из колонки, добавляют 1 каплю метилоранжа. Окрашивание раствора в желтый цвет показывает отсутствие соляной кислоты в растворе.

Контрольные вопросы

1. В чем сущность ионообменной хроматографии?
2. Какие функциональные группы содержит катионит и анионит?
3. Каково строение катионита КУ-2?
4. Как происходят процессы обмена и регенерации катионита КУ-2?
5. Как и для чего проверяют полноту промывания катионита от хлорид-ионов после регенерации его раствором соляной кислоты?
6. От каких факторов зависит ионообменная способность ионитов?
7. Для каких целей используется хроматографическое разделение смесей или компонентов?
8. Каким образом устанавливается содержание определяемых компонентов?
9. Применение в фармации.

Тема 3. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Электрохимические методы анализа основаны на использовании процессов, протекающих на поверхности электрода или в приэлектродном пространстве. **Аналитический сигнал** – электрический параметр системы (разность потенциалов, сила тока, количество электричества, сопротивление, электропроводность и др.), значения которого функционально связаны с составом и концентрацией (*специфическими свойствами*) раствора, т.е. пропорциональны количеству определяемого вещества в анализируемом растворе.

Для любого рода электрохимических измерений необходима электрохимическая цепь или электрохимическая ячейка, составной частью которой является анализируемый раствор.

Электродный процесс (электрохимическая реакция) – гетерогенная реакция, протекающая между компонентами электропроводящих фаз (электрод – раствор), в ходе которой, ионы или электроны проходят через границу раздела фаз, и на межфазной границе устанавливается разность электрических потенциалов, называемая **электродным потенциалом**.

Электрохимической ячейкой называется система, состоящая из пары электродов и электролита, контактирующих между собой.

Если оба электрода погружены в анализируемый раствор, то такая цепь называется цепью без переноса (рис. 21, а). Если электрод сравнения соединяют с анализируемым раствором через жидкостный контакт (солевой мостик), то цепь называется цепью с переносом (рис. 21, б).

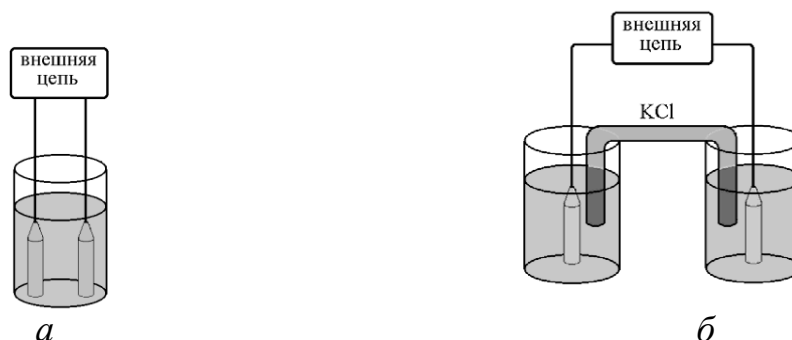


Рис. 21. Электрохимическая ячейка: а – цепь без переноса; б – цепь с переносом

При равновесии электрохимическая реакция протекает в обоих направлениях с одинаковыми скоростями, ток в замкнутой гальванической цепи отсутствует, *электродный потенциал достигает равновесного значения*. В отсутствие равновесия в результате электрохимической реакции через ячейку протекает электрический ток, при этом электродный потенциал отклоняется от равновесного – *электрод поляризуется*.

3.1 Классификация основных электрохимических методов анализа в зависимости от измеряемого параметра

Метод	Измеряемый параметр	Условия измерения
кондуктометрия	удельная электропроводность – κ , $\text{См}\cdot\text{см}^{-1}$ (непосредственно измеряют R)	переменный ток ($\sim 1000\text{Гц}$)
потенциометрия	потенциал электрода (ЭДС ячейки) – E , В	$I = 0$
кулонометрия	количество электричества – Q , Кл	$I = \text{const}$ или $E = \text{const}$
вольтамперометрия/ полярография	сила тока – I , мкА	$I = f(E_{\text{налож}})$

3.2 Кондуктометрический анализ

Кондуктометрия – это совокупность электрохимических методов анализа, основанных на измерении удельной электропроводности (или сопротивления) растворов электролитов.

Электропроводностью называют величину, обратную электрическому сопротивлению R . Единицей измерения электропроводности является Ом^{-1} или сименс (См). Растворы электролитов, являясь проводниками II рода, подчиняются закону Ома. По аналогии с сопротивлением проводников I рода, сопротивление раствора прямо пропорционально расстоянию между электродами l и обратно пропорционально площади их поверхности S :

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

где ρ – удельное сопротивление ($\text{Ом}\cdot\text{см}$).

При $l = 1$ см и $S = 1$ см² имеем $R = \rho$, следовательно, удельное сопротивление равно сопротивлению 1 см³ раствора, находящегося между двумя параллельными пластинами площадью 1 см², отстоящими друг от друга на 1 см.

Удельная электропроводность (κ , каппа) – величина, обратная удельному сопротивлению. Удельная электропроводность численно равна току (в амперах), проходящему через слой раствора с поперечным сечением, равным единице, под действием градиента потенциала 1 В на единицу длины.

$$\kappa = \frac{1}{\rho} \left[\frac{1}{\text{Ом} \cdot \text{м}} = \text{Ом}^{-1} \cdot \text{м}^{-1} = \frac{\text{См}}{\text{м}} \right]$$

Удельная электрическая проводимость зависит от природы электролита, его концентрации (разведения), скорости движения ионов и температуры.

Эквивалентная (молярная) электрическая проводимость – это проводимость раствора, содержащего 1 моль эквивалента вещества и находящегося между двумя параллельными электродами, расстояние между которыми 1 см.

Удельная и эквивалентная проводимости связаны соотношением:

$$\lambda = \frac{\kappa}{c} \left[\frac{\text{См} \cdot \text{м}^2}{\text{моль}} \right]$$

где c – молярная концентрация эквивалента, моль-экв/л.

Эквивалентная электропроводность возрастает с повышением температуры, увеличивается с уменьшением концентрации раствора электролита. Максимальное значение эквивалентной электропроводности достигается при бесконечном разбавлении раствора.

При бесконечном разведении межионные взаимодействия в растворе практически отсутствуют, поэтому ионы переносят электричество независимо друг от друга пропорционально заряду, подвижности и концентрации ионов.

В соответствии с законом независимого движения ионов Кольрауша эквивалентная электропроводность раствора электролита при бесконечном разбавлении λ_{∞} (или λ°) равна сумме предельных подвижностей катиона λ°_{+} и аниона λ°_{-} , т.е. их подвижностей при бесконечном разбавлении раствора:

$$\lambda_{\infty} = \lambda^{\circ}_{+} + \lambda^{\circ}_{-}$$

Предельная подвижность иона в данном растворителе при заданной температуре – экстраполированная величина. Она является константой, характеризующей электрическую подвижность данного иона.

3.3 Методы кондуктометрического анализа

Методы прямой кондуктометрии основываются на том, что в области разбавленных и умеренно концентрированных растворов электрическая проводимость растёт с увеличением концентрации электролита.

При обработке данных измерений используют: расчетный метод и метод градуировочного графика.

Расчетный метод. Молярная концентрация эквивалента c электролита в растворе может быть рассчитана, если известны удельная электропроводность κ и эквивалентная электропроводность λ :

$$c = \frac{1000\kappa}{\lambda}$$

Удельную электропроводность определяют экспериментально на основании измерения электрического сопротивления термостатированной кондуктометрической ячейки.

Метод градуировочного графика. Готовят серию эталонных растворов, каждый из которых содержит точно известную концентрацию определяемого вещества, измеряют их удельную электропроводность при постоянной температуре в термостатируемой кондуктометрической ячейке. По полученным данным строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию эталонных растворов, а по оси ординат – значения удельной электропроводности. Построенный график в относительно небольшом диапазоне изменения концентраций обычно представляет собой прямую линию.

В широком интервале изменения концентраций, когда подвижности катиона и аниона могут заметно изменяться, наблюдаются отклонения от линейной зависимости.

Затем строго в тех же условиях измеряют удельную электропроводность $\kappa(X)$ определяемого электролита в анализируемом растворе с неизвестной концентрацией $c(X)$ и по графику находят искомую величину $c(X)$.

Кондуктометрическое титрование состоит в том, что к точному объему исследуемого раствора, помещенного в электрохимическую ячейку, добавляют из бюретки равными порциями титрант и после каждого добавления измеряют электрическое сопротивление в ячейке.

При титровании могут протекать различные химические реакции: нейтрализации, осаждения, комплексообразования, окислительно-восстановительные. Общим требованием к ним является достаточно резкое различие в электропроводящих свойствах веществ, присутствующих в системе до и после точки эквивалентности. Наиболее часто это условие выполняется в реакциях нейтрализации.

Зависимость между электрической проводимостью титруемого раствора и добавленным объемом титранта отражается в виде кондуктометрической кривой титрования – графика зависимости $\omega - f(V_{\text{титранта}})$. Кондуктометрическая кривая титрования исследуемого раствора одного соединения состоит из двух ветвей, пересекающихся в точке эквивалентности. Характер кривых титрования зависит от силы электролитов, присутствующих в системе, и подвижности их ионов.

Классификация электрохимических методов



При титровании смесей, например смеси сильной и слабой кислот, на кривой титрования будет два излома: первый соответствует точке эквивалентности сильной кислоты, а второй — слабой (рис. 22).

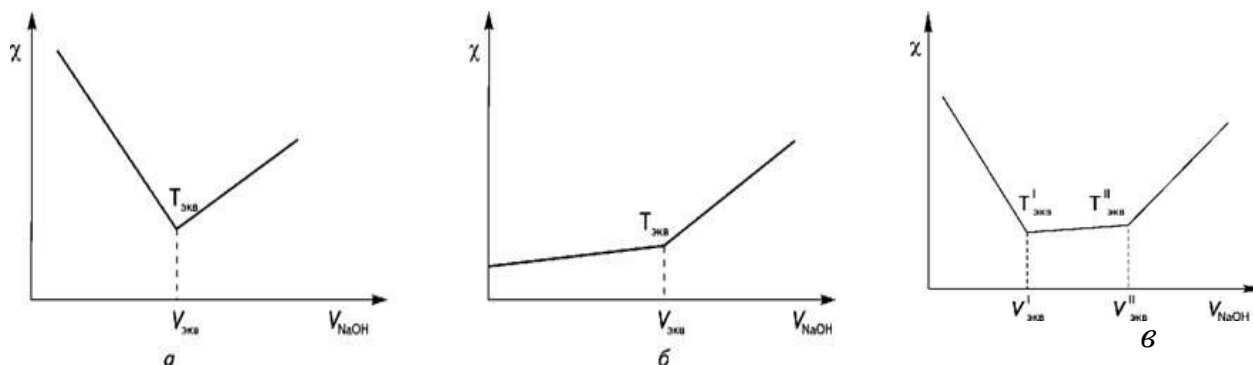


Рис. 22. Кривые кондуктометрического титрования: а– титрование сильной кислоты; б– титрование слабой кислоты; в – титрование смеси сильной и слабой кислот

Достоинством методов прямой кондуктометрии и кондуктометрического титрования является высокая чувствительность (до $\sim 10^{-4}$ моль/л), ошибка определения от 0,1 до 2%, возможность проводить титрование в мутных, окрашенных, непрозрачных средах. Недостатком является малая селективность.

3.4 Потенциометрический анализа

Потенциометрический метод анализа основан на использовании зависимости электродвижущей силы (ЭДС) электрохимической цепи от активности (концентрации) анализируемого иона.

Зависимость электродвижущей силы E электрохимической цепи от активности анализируемого иона описывают уравнением Нернста для цепи:

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{F} \ln a(X),$$

где R – универсальная газовая постоянная, равная 8,31 Дж/(моль·К); T – абсолютная температура; F – постоянная Фарадея (96500 Кл/моль); n – число электронов, принимающих участие в электродной реакции; $a(X)$ – активность (активная концентрация) ионов в анализируемом растворе. моль/л

Для потенциометрических измерений применяют электрохимические цепи, содержащие два электрода: **индикаторный** электрод и электрод **сравнения**.



В потенциометрии используют электроды следующих типов: первого, второго рода, окислительно-восстановительные, мембранные.

Стеклянный электрод для измерения рН (рис. 23, а) имеет тонкую рН-чувствительную мембрану, изготовленную из специального стекла, содержащего 22% Na₂O, 6% CaO и 72% SiO₂. Внутри электрода находится 0,1 М HCl, насыщенный хлоридом серебра, и хлорсеребряный электрод сравнения. Перед началом работы электрод, который хранился в сухом виде, вымачивают в 0,1 М HCl. Для того чтобы электрод работал, на внутренней и внешней сторонах мембраны должна образоваться тонкая плёнка гидратированного геля. Ионы водорода должны вытеснить ионы Na⁺ из пустот на поверхности стекла.

В основе работы стеклянного электрода для измерения рН лежит ионообменное равновесие: H⁺ раствор \rightleftharpoons H⁺ стекло

Схема стеклянного электрода: | стекло | HCl (a = 0,1M), AgCl | Ag

$$E(\text{ст}) = E^{\circ} \left(\text{ст} \right) - \frac{2,3RT}{F} \lg a(\text{H}^+) = E^{\circ} \left(\text{ст} \right) - \frac{2,3RT}{F} \text{pH},$$

где E⁰(ст) – является индивидуальной характеристикой каждого конкретного образца стеклянного электрода.

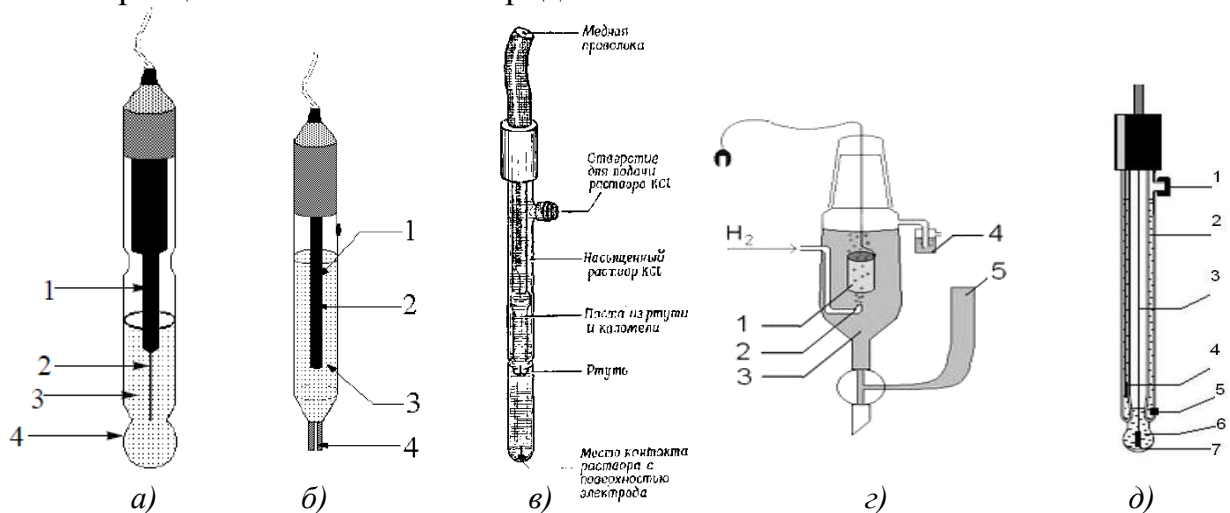


Рис. 23. Электроды

а) стеклянный: 1 – внутренний хлорсеребряный электрод, 2 – серебряная проволока, 3 – 0,1 М HCl, насыщенный AgCl, 4 – стеклянная рН-чувствительная мембрана); **б) хлорсеребряный:** 1 – серебряная проволока, 2 – внутренний насыщенный раствор KCl, 3 – внешний насыщенный раствор KCl, 4 – асбестовое волокно; **в) каломельный;** **г) водородный:** 1 – платиновый электрод, 2 – подводимый газообразный водород, 3 – раствор кислоты (обычно HCl), в котором концентрация H⁺ = 1 моль/л, 4 – водяной затвор, препятствующий попаданию кислорода воздуха; 5 – электролитический мост (состоящий из концентрированного р-ра KCl), позволяющий присоединить вторую половину гальванического элемента; **д) комбинированный:** 1 – заливочное отверстие электрода сравнения; 2 – раствор электролита в электроде сравнения; 3 – вспомогательный электрод; 4 – встроенный электрод сравнения; 5 – электролитический ключ; 6 – стандартный раствор HCl; 7 – стеклянная мембрана.

Основными достоинствами стеклянного электрода являются простота работы, быстрое установление равновесия и возможность определения рН в окислительно-восстановительных системах. К недостаткам относятся хрупкость ма-

териала электрода и сложность работы при переходе к сильнощелочным и сильноокислым растворам.

На практике в качестве электродов сравнения чаще всего применяют **хлорсеребряный** и **каломельный** электроды. Хлорсеребряный электрод представляет собой серебряную проволочку, покрытую AgCl и помещённую в раствор KCl (рис. 23, б): $\text{AgCl} + \bar{e} \rightleftharpoons \text{Ag} + \text{Cl}^-$

Потенциал хлорсеребряного электрода равен:

$$E_{(\text{хс})} = E^\circ \left(\text{хс} \right) - \frac{RT}{F} \ln \frac{a(\text{AgCl})}{a(\text{Ag}) \cdot a(\text{Cl}^-)} = E^\circ \left(\text{хс} \right) - \frac{RT}{F} \ln a(\text{Cl}^-),$$

так как $a(\text{AgCl}) = a(\text{Ag}) = 1$.

Схема хлорсеребряного электрода: $\text{Ag} | \text{AgCl}, \text{KCl}$

Каломельный электрод состоит из металлической ртути, покрытой пастой малорастворимого хлорида ртути(I) Hg_2Cl_2 – каломели, контактирующей с водным раствором хлорида калия (рис. 23, в). На каломельном электроде протекает обратимая реакция: $\text{Hg}_2\text{Cl}_2 + 2\bar{e} = 2\text{Hg} + 2\text{Cl}^-$

Водородный электрод представляет собой опущенную в раствор кислоты платиновую пластинку, покрытую платиновой чернью и насыщенную поступающим под давлением газообразным водородом (рис. 23, г).

Схема водородного электрода: $\text{Pt}, \text{H}_2 | \text{H}^+$.

Водород хорошо растворяется в платине, при этом молекулы водорода частично распадаются на атомы (платина катализирует этот распад). На поверхности соприкосновения платины с раствором кислоты может протекать окисление атомов или восстановление ионов водорода, в результате чего образуется ДЭС с соответствующим скачком потенциала.

В водородном электроде возникают следующие равновесия:



Так как адсорбированный платиной водород находится в равновесии с газообразным водородом, то можно рассматривать электрохимическое равновесие, опуская промежуточную стадию: $\text{H}_2(\text{газ}) \rightleftharpoons 2\text{H}^+(\text{р-р}) + 2\bar{e}$

Содержание газообразного вещества, участвующего в электродной реакции, принято выражать в единицах давления чистого газа или его парциального давления в газовой смеси. Потенциал водородного электрода описывается уравнением:

$$E(2\text{H}^+/\text{H}_2) = E^\circ(2\text{H}^+/\text{H}_2) + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a^2(\text{H}^+)}{p(\text{H}_2)},$$

где $E^\circ(2\text{H}^+/\text{H}_2)$ – стандартный потенциал водородного электрода; $a(\text{H}^+)$ – активность ионов водорода, моль/л; $p(\text{H}_2)$ – давление газообразного водорода, атм.

Если давление задается в кПа, то уравнение принимает вид:

$$E(2\text{H}^+/\text{H}_2) = E^\circ(2\text{H}^+/\text{H}_2) + \frac{RT}{zF} \ln \frac{101,3 \cdot a^2(\text{H}^+)}{p(\text{H}_2)},$$

Комбинированный электрод представляет собой конструкцию, объединяющую в одном корпусе измерительный стеклянный электрод и встроенный электрод сравнения (рис. 23, д). Измерительный электрод представляет собой

электрохимический преобразователь активности ионов водорода в электрический потенциал, а электрод сравнения служит для создания опорного потенциала при проведении потенциометрических измерений

3.5 Методы потенциометрического анализа

Для потенциометрического определения концентрации вещества в растворе применяют как *прямую потенциометрию*, так и *потенциометрическое титрование*, хотя второй способ используется намного чаще первого.

Прямая потенциометрия

Определение концентрации вещества в прямой потенциометрии проводят обычно методом градуировочного графика или методом добавок стандарта.

Метод градуировочного графика. Готовят серию из 5-7 эталонных растворов с известным содержанием определяемого вещества. Концентрация определяемого вещества и ионная сила в эталонных растворах не должны сильно отличаться от концентрации и ионной силы анализируемого раствора: в этих условиях уменьшаются ошибки определения. Ионную силу всех растворов поддерживают постоянной, введением индифферентного электролита. Эталонные растворы последовательно вносят в электрохимическую (потенциометрическую) ячейку. Обычно эта ячейка представляет собой стеклянный химический стакан, в который помещают индикаторный электрод и электрод сравнения.

Измеряют ЭДС эталонных растворов, тщательно промывая дистиллированной водой электроды и стакан перед заполнением ячейки каждым эталонным раствором. По полученным данным строят градуировочный график в координатах ЭДС– $\lg c$, где c – концентрация определяемого вещества в эталонном растворе. Обычно такой график представляет собой прямую линию (рис. 24). Затем в электрохимическую ячейку вносят (после промывания ячейки дистиллированной водой) анализируемый раствор и измеряют ЭДС ячейки. По градуировочному графику находят $\lg c(X)$, где $c(X)$ – концентрация определяемого вещества в анализируемом растворе.

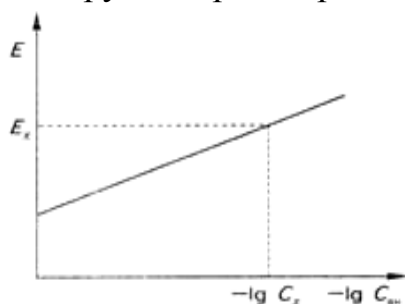


Рис. 24. Градуировочный график прямой потенциометрии

Метод добавок стандарта. В электрохимическую ячейку вносят известный объем $V(X)$ анализируемого раствора с концентрацией $c(X)$ и измеряют ЭДС ячейки. Затем в тот же раствор прибавляют точно измеренный небольшой объем стандартного раствора $V(ст)$ с известной, достаточно

большой, концентрацией $c(\text{ст})$ определяемого вещества и снова определяют ЭДС ячейки.

Рассчитывают концентрацию $c(X)$ определяемого вещества в анализируемом растворе по формуле:

$$c(X) = c(\text{ст}) \frac{V(\text{ст})}{V(X) + V(\text{ст})} \left[10^{n\Delta E / 0,059} - \frac{V(\text{ст})}{V(X) + V(\text{ст})} \right]^{-1},$$

где ΔE – разность двух измеренных значений ЭДС, n – число электронов, участвующих в электродной реакции.

Прямая потенциометрия характеризуется простотой и экспрессностью методик, небольшими объемами анализируемых растворов, недорогой аппаратурой. К недостаткам относятся хрупкость материала электрода и сложность работы при переходе к сильнощелочным и сильнокислотным растворам.

Потенциометрическое титрование – способ определения объема титранта, затраченного на титрование определяемого вещества в анализируемом растворе, путем измерения ЭДС (в процессе титрования) с помощью гальванической цепи, составленной из индикаторного электрода и электрода сравнения. При потенциометрическом титровании анализируемый раствор, находящийся в электрохимической ячейке, титруют подходящим титрантом, фиксируя конец титрования по резкому изменению ЭДС измеряемой цепи – потенциала индикаторного электрода, который зависит от концентрации соответствующих ионов и резко изменяется в точке эквивалентности (рис. 25).

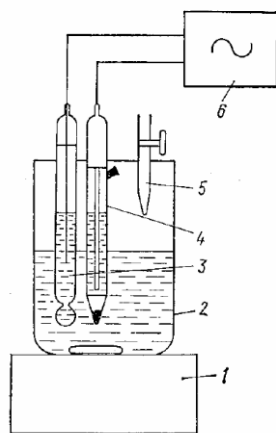


Рис. 25. Схема установки для потенциометрического титрования

1 – магнитная мешалка; 2 – ячейка для анализируемого раствора; 3 – индикаторный электрод; 4 – бюретка; 5 – насыщенный хлорсеребряный электрод сравнения; 6 – иономер.

Измеряют изменение потенциала индикаторного электрода в процессе титрования в зависимости от объема прибавленного титранта. По полученным данным строят кривую потенциометрического титрования и по этой кривой определяют объем израсходованного титранта в точке эквивалентности (ТЭ).

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

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

при титровании. Потенциал электрода сравнения во время титрования должен оставаться постоянным. Оба электрода устанавливают непосредственно в электрохимической ячейке или же помещают в отдельные сосуды с токопроводящими растворами (индикаторный электрод – в анализируемый раствор), которые соединяют электролитическим мостиком, заполненным индифферентным электролитом.

Титрант прибавляют равными порциями, каждый раз измеряя разность потенциалов. В конце титрования (вблизи ТЭ) титрант прибавляют по каплям, также измеряя разность потенциалов после прибавления очередной порции титранта.

Разность потенциалов между электродами измеряют, используя высокоомные потенциометры.

Кривая потенциометрического титрования – графическое изображение изменения ЭДС электрохимической ячейки в зависимости от объема прибавленного титранта.

Кривые потенциометрического титрования строят в различных координатах:

- *Интегральные* кривые титрования в координатах $E-V(T)$ (рис. 26, а);
- *Дифференциальные* кривые титрования в координатах $\Delta E/dV-V(T)$ и по второй производной $d^2E/dV^2-V(T)$ (рис. 26, б, в);
- кривые титрования *по методу Грана* в координатах $\Delta V/\Delta E-V(T)$ (рис. 26, г), где E – ЭДС потенциометрической ячейки, V и $V(T)$ – объем прибавленного титранта, ΔE – изменение потенциала, соответствующее прибавлению ΔV титранта.

По построенным кривым титрования определяют объем титранта $V(TЭ)$ в ТЭ.

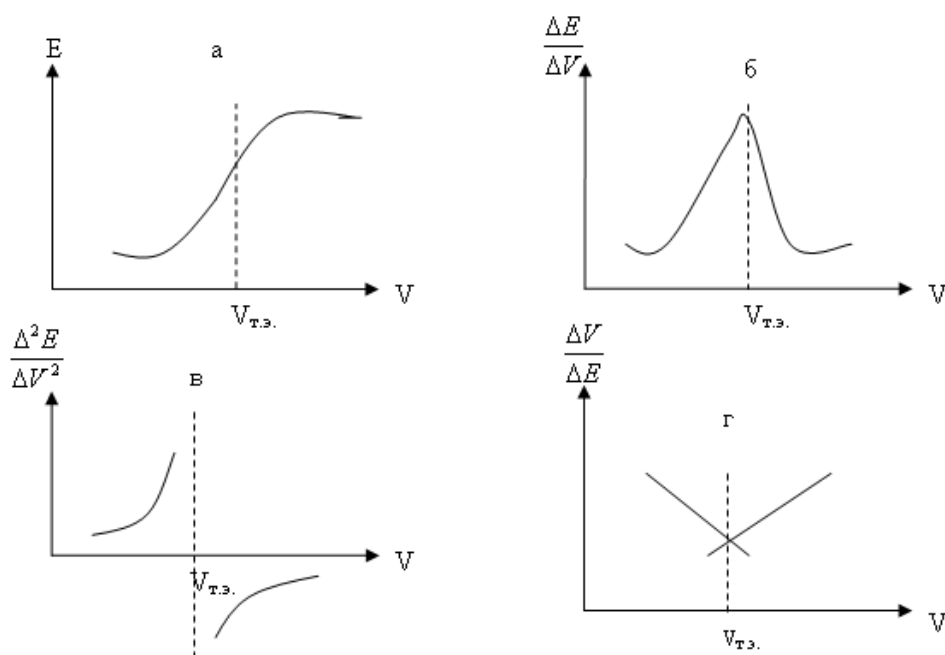


Рис. 26. Типы кривых потенциометрического титрования: а – кривая титрования в координатах $E-V(T)$; б, в – дифференциальные кривые титрования; г – кривая титрования по методу Грана

ЭЛЕКТРОДЫ

Первого рода

Электроды, *обратимые по катиону*, общему с материалом электрода.

- Металл, погруженный в раствор соли того же металла (цинковый, медный, серебряный и др.)
- Газовые электроды (водородный, стандартный водородный)
- Амальгамные электроды (кадмиевый)

Второго рода

Электроды *обратимые по аниону*.

- Металл, поверхность которого покрыта малорастворимой солью этого же металла, погруженный в раствор, содержащий анионы, входящие в состав этой малорастворимой соли (хлорсеребряный, кадмиевый)
- Газовые электроды (хлорный)

Окислительно-восстановительные

Электроды состоят из *инертного материала* (платина, золото, титан и др.), погруженного в раствор, *содержащий окисленную и восстановленную* формы данного вещества.

- Электроды, потенциал которых не зависит от активности ионов водорода (Pt | FeCl₃.FeCl₂)
- Электроды, потенциал которых зависит от активности ионов водорода (хингидронный)

Мембранные (ионселективные)

Электроды обратимые по тем или иным ионам (катионам или анионам), сорбируемые твердой или жидкой мембраной (стеклянный электрод)

Основными достоинствами метода потенциометрического титрования являются высокая точность, автоматизация процесса, возможность проводить определения в разбавленных растворах, в мутных и окрашенных средах, а также определять несколько веществ в одном растворе без предварительного разделения, титрование при использовании неводных растворителей.

К недостаткам потенциометрического титрования можно отнести не всегда быстрое установление потенциала после добавления титранта и необходимость во многих случаях проводить при титровании большое количество отсчетов.

3.6 Кулонометрический анализа

Кулонометрическими называют электрохимические методы анализа, основанные на измерении количества электричества прошедшего через электролитическую ячейку при электрохимическом окислении или восстановлении вещества на рабочем электроде.

Кулонометрия – это безэталонный метод анализа. Массу определяемого вещества при кулонометрических определениях рассчитывают непосредственно из величины аналитического сигнала. В основе кулонометрии лежат *законы Фарадея* для электролиза:

1. Количество электропревращенного (восстановленного или окисленного) в процессе электролиза вещества прямо пропорционально количеству прошедшего электричества.

2. Массы различных веществ, выделенных или растворенных при прохождении одного и того же количества электричества, пропорциональны их электрохимическим эквивалентам.

Электрохимический эквивалент – это масса вещества, выделившегося на электроде (или растворившегося с электрода) в процессе электролиза при протекании единицы количества электричества, т. е. 1 Кл.

Суть законов Фарадея заключается в том, что для выделения одного моля эквивалента любого вещества в процессе электролиза необходимо затратить одно и то же количество электричества, называемое *числом Фарадея* $F=96500$ Кл/моль.

$$m = \frac{Q \cdot M_{\text{э}}}{F} = \frac{I \cdot t \cdot M_{\text{э}}}{F}$$

где m – масса вещества, выделившегося при электролизе, г; Q -количество электричества, Кл; $M_{\text{э}}$ - молярная масса эквивалента, г/моль-экв; F - число Фарадея: $F = 96500$ Кл/моль-экв; I -сила тока, А; t - время электролиза, с.

Обязательным является условие, что электропревращение вещества на электроде происходит со 100%-ной эффективностью, т.е. со 100%-ным выходом по току, что возможно только в отсутствие побочных процессов (разложение воды, окисление или восстановление примесей, участие материала электрода в электрохимической реакции и др.)



3.7 Прямая кулонометрия

В методах *прямой кулонометрии* электрохимическому превращению непосредственно в кулонометрической ячейке подвергается анализируемое вещество.

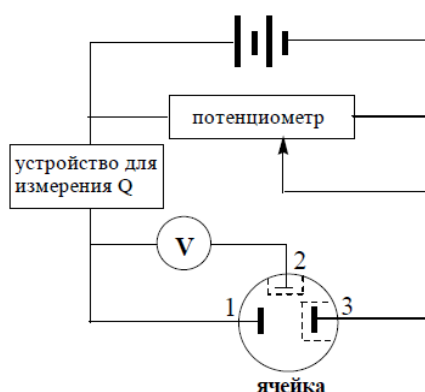


Рис 27. Принципиальная схема установки для потенциостатических кулонометрических определений показана: 1) рабочий раствор, 2) электрод сравнения, 3) вспомогательный электрод

Чаще применяют прямую кулонометрию *при постоянном потенциале рабочего электрода*. Потенциал электрода выбирают в области предельного тока; в этом случае ток, протекающий через ячейку (рис. 27), будет уменьшаться по экспоненциальному закону в соответствии с уменьшением концентрации электроактивного вещества (рис. 28).

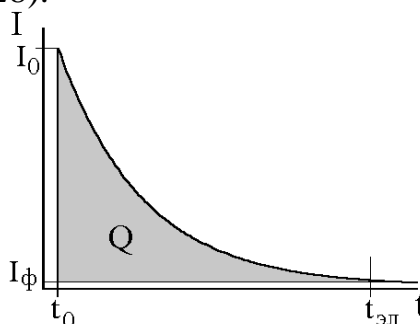


Рис 28. Зависимость I от t в потенциостатической кулонометрии

Величина тока в любой момент времени определяется формулой:

$$I_t = I_0 e^{-kt},$$

где I_t и I_0 – сила тока в момент времени t и в начальный момент электролиза соответственно; k – коэффициент, зависящий от природы электроактивного вещества и от условий электролиза: $k = 0,43 \frac{S \cdot D}{V \delta}$,

где S – площадь поверхности электрода, D – коэффициент диффузии вещества, V – объем раствора, δ – толщина диффузионного слоя.

Для того чтобы электрохимическая реакция прошла до конца, теоретически требуется бесконечно большое время. Практически при проведении электролиза всегда остаётся некоторый фоновый ток (I_ϕ), обусловленный превращением примесей, поэтому обычно электролиз считают законченным, когда сила тока станет равной 0,01 – 0,001 от первоначального значения. Для ускорения процесса электролиза необходимо создать такие условия, чтобы величина k в зависимости I от t была как можно большей. Для этого используют рабочий электрод с большой площадью поверхности, берут малый объём раствора ячейке постоянно перемешивают (δ).

Количество электричества, затраченное на электрохимическое превращение вещества, в потенциостатической кулонометрии равно:

$$Q = Q_{\text{общ}} - Q_\phi = \int_{t_0}^{t_{\text{эл}}} I dt - I_\phi t$$



Кулонометром называется электролитическая ячейка, подключаемая последовательно с кулонометрической ячейкой, в которой при замыкании электрической цепи со 100% выходом по току протекает электрохимическая реакция известной стехиометрии (рис. 29).

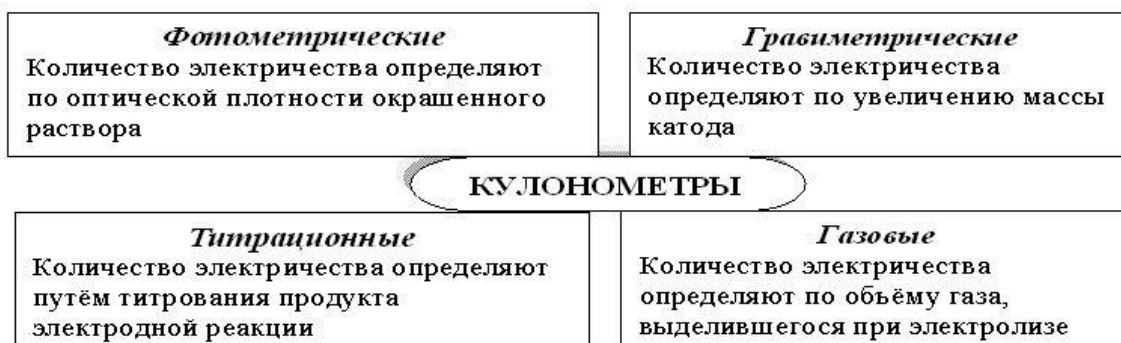




Рис 29. Кулонометр (кулонометрический титратор) "Эксперт-006"

Метод обладает высокими селективностью, чувствительностью (до 10^{-8} – 10^{-9} г или до $\sim 10^{-5}$ моль/л), воспроизводимостью (до ~ 1 – 2%), позволяет определять содержание микропримесей; не требует предварительной градуировки измерительных приборов или построения градуировочных графиков.

К недостаткам метода относятся: большая трудоемкость, длительность проведения анализа, необходимость наличия дорогостоящей аппаратуры.

3.8 Кулонометрическое титрование

В методе кулонометрического титрования электролизу подвергается вспомогательное вещество, а далее продукт электролиза – титрант – реагирует с определяемым веществом.

В методе кулонометрического титрования используются установки с постоянной силой тока (рис. 30).

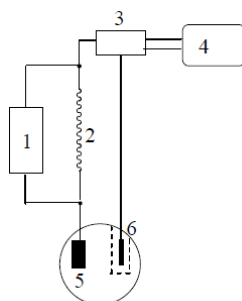


Рис. 30. Принципиальная схема установки для кулонометрического титрования
1) устройство для измерения разности потенциалов; 2) сопротивление; 3) источник постоянного тока; 4) хронометр; 5) рабочий электрод; 6) вспомогательный электрод

Рабочий электрод изготовлен, как правило, из платины, золота, ртути (для катодных процессов). Вспомогательный электрод – платиновая проволока, реже – графит. Вспомогательный электрод обычно отделяют от раствора диафрагмой, изготовленной из пористого стекла или пластмассы.

Содержание определяемого вещества рассчитывают по количеству электричества, израсходованного на генерацию необходимого для реакции с анализируемым веществом количества титранта, который генерируется электрохимическим методом.

Электрогенерированный титрант можно получать:

из воды (OH^- при восстановлении ее на катоде или H^+ при окислении на аноде), растворов солей, кислот, вспомогательных реагентов (например, при окислении KI можно получить I_2), твердых электроактивных рабочих электродов; непосредственно в ячейке для кулонометрического титрования (*внутренняя генерация*) или в отдельном устройстве (*внешняя генерация*), а затем вводить его в кулонометрическую ячейку.



Измерения в кулонометрическом титровании проводятся при постоянной силе тока. Количество электричества при таком режиме измерения равно произведению силы тока на время электролиза (рис. 31).

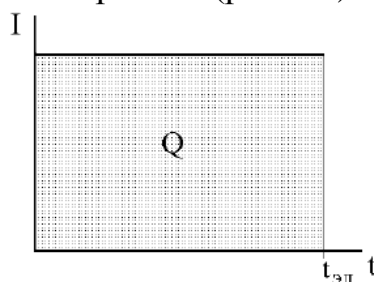


Рис. 31. Зависимость I от t в гальваностатической кулонометрии

В кулонометрическом титровании используются химические реакции различных типов: кислотно-основные, окислительно-восстановительные, комплексообразования и др. Различные восстановители Fe^{2+} , Sn^{2+} , Sb^{3+} , As^{3+} и др. могут быть оттитрованы, например, перманганатом, который легко генерируется из MnSO_4 в ячейке с платиновым анодом. При анодном растворении хрома в серной кислоте получается дихромат-ион, который также может быть использован для этого титрования. В кулонометрическом титровании широко применяют также свободный бром, генерируемый на платиновом аноде из бромида калия в соляной кислоте.

Для определения конца кулонометрического титрования пригодны практически все способы установления конечной точки в титриметрии: использование визуальных индикаторов (крахмала, фенолфталеина) и инструментальных методов. Наибольшее распространение получили потенциометрический и амперометрический методы с двумя индикаторными электродами.

К достоинствам кулонометрического титрования относится то, что нет необходимости в приготовлении, стандартизации и хранении титранта, т.к. он образуется в процессе титрования и сразу же расходуется; высокая чувствитель-

ность и точность (0,05-0,1%); концентрации определяемых веществ в растворе до 10^{-6} моль/л; легкая автоматизация процесса.

Недостаток метода – использование сравнительно сложной и дорогостоящей аппаратуры.

3.9 Вольтамперометрический анализ

Вольтамперометрия – совокупность электрохимических методов анализа, основанных на исследовании зависимости силы тока в электролитической ячейке от потенциала, погружённого в анализируемый раствор индикаторного микроэлектрода, на котором протекает электрохимическая реакция с участием определяемого вещества. Графическое изображение этой зависимости называется *вольтамперограммой*.

Вольтамперограмма позволяет одновременно получить качественную и количественную информацию о веществах, восстанавливаемых или окисляющихся на микроэлектроде (деполяризаторах), а также о характере электродного процесса.

В вольтамперометрии применяют двух- или трёх-электродные (более совершенные!) ячейки (рис. 32).

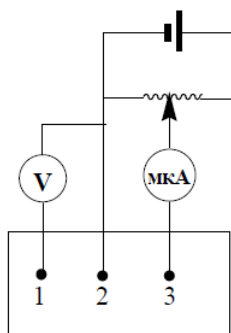


Рис. 32. Трёхэлектродная ячейка для вольтамперометрических измерений
1) электрод сравнения; 2) измерительный электрод; 3) вспомогательный электрод

На индикаторном микроэлектроде происходит электрохимическая реакция: окисление (на аноде) или восстановление (на катоде) определяемого вещества. В зависимости от природы индикаторного электрода вольтамперометрические методы анализа разделяют на:

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ	
Полярография в качестве индикаторного используется ртутный капающий электрод	Собственно вольтамперометрия другие электроды вращающиеся стационарные

В классическом *полярографическом* методе в качестве рабочего электрода используют **ртутный капающий электрод**, который представляет собой толстостенный стеклянный капилляр диаметр 0,05 – 0,1 мм, связанный шлангом с капилляром для ртути, электродом сравнения служит насыщенный каломельный электрод или донная ртуть. Преимуществом ртутного капельного электрода является то, что благодаря его постоянному обновлению, всё время происходит на незагрязнённой продуктами реакции поверхности, поэтому даже при

длительном проведении процесса получают хорошо воспроизводимые результаты. Ртутный капаящий электрод может быть использован в достаточно широком интервале потенциалов.

Если в растворе присутствуют вещества, способные электрохимически восстанавливаться или окисляться (так называемые деполяризаторы), то при наложении на электрохимическую ячейку линейно-меняющегося потенциала регистрируется вольтамперная кривая в виде волны (рис.33).

При низких значениях потенциала (участок 1 на рис. 33), величина которого не достаточна для того, чтобы на рабочем микроэлектроде проходила электрохимическая реакция, через ячейку проходит очень незначительный *остаточный ток*. Остаточный ток обусловлен прежде всего током заряжения двойного электрического слоя, который образуют ионы раствора на катоде, когда потенциал электрода недостаточен для их разряда, и присутствием в растворе более электрохимически активных, чем определяемое вещество, примесей.

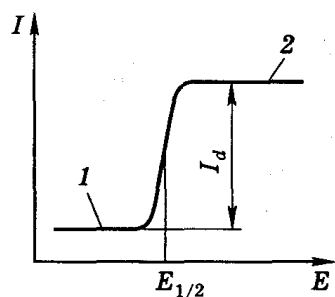


Рис. 33.Классическая полярограмма:

1 – остаточный ток, 2 – диффузионный ток в растворе восстанавливающихся веществ А, В и С

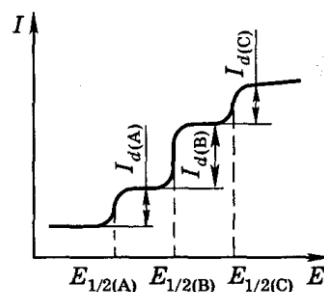


Рис. 34.Полярограмма при наличии

При увеличении потенциала электрохимически активное вещество – деполяризатор вступает в электрохимическую реакцию на электроде, например, $\text{Cd}^{2+} + 2e + \text{Hg} \rightleftharpoons \text{Cd}(\text{Hg})$, и в результате этого ток резко возрастает. Это так называемый фарадеевский ток. С ростом потенциала ток возрастает до некоторого предельного значения, оставаясь затем постоянным (участок 2, рис. 33). Предельный ток обусловлен тем, что в данной области потенциалов практически весь деполяризатор из приэлектродного слоя исчерпан в результате электрохимической реакции, а обедненный слой обогащается за счет диффузии деполяризатора из объема раствора. Скорость диффузии деполяризатора в этих условиях контролирует скорость электрохимического процесса в целом, и ток перестает зависеть от наложенного напряжения. Такой ток называют *предельным диффузионным*.

Для того, чтобы исключить электростатическое перемещение деполяризатора (миграцию) в поле электродов и понизить сопротивление ячейки, измерения проводят в присутствии большого избытка сильного электролита, называемого *фоновым* или *фоном*. Являясь электрохимически индифферентным, он не принимает участия в электродной реакции, но его ионы экранируют электрод, уменьшая тем самым движущую силу миграции под действием электрического поля практически до нуля.

Полярограмма содержит ценную аналитическую информацию: качественной характеристикой деполяризатора является *потенциал полуволны* ($E_{1/2}$) – потенциал, при котором ток равен половине величины диффузионного тока. Потенциал полуволны $E_{1/2}$ не зависит от силы тока и концентрации восстанавливающегося иона, зависит от его природы. Определение $E_{1/2}$ составляет основу качественного полярографического анализа.

Зависимость тока I от приложенного напряжения E при обратимом электродном процессе передается *уравнением полярографической волны*:

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{I_d - I}{I},$$

где $E_{1/2}$ – потенциал полуволны; I_d – диффузионный ток.

При $I = I_d / 2$ уравнение принимает вид $E = E_{1/2}$.

Это соотношение показывает независимость потенциала полуволны от тока и, следовательно, от концентрации восстанавливающегося иона. *Потенциал полуволны* является качественной характеристикой иона в растворе данного фонового электролита, и определение потенциала полуволны составляет основу качественного полярографического анализа.

Количественный полярографический анализ основан на *уравнении Ильковича*, которое связывает диффузионный ток I_d с концентрацией иона c и рядом других величин:

$$I_d = 605zD^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} c,$$

где z – заряд иона; D – коэффициент диффузии; m – масса ртути, вытекающей из капилляра за 1 с, мг; t – время образования капли (периода капания), с.

В практике количественного полярографического анализа коэффициент пропорциональности между концентрацией вещества и силой диффузионного тока обычно устанавливают с помощью стандартных растворов. При постоянных условиях полярографирования D , m , и t постоянны, поэтому уравнение принимает вид:

$$I_d = kc$$

Если в растворе находится несколько электрохимически активных соединений, на полярограмме будет не одна волна, а несколько – по числу восстанавливаемых ионов (рис. 34). Можно получить полярографический спектр ионов и затем по измеренному $E_{1/2}$ идентифицировать неизвестное вещество.

При анализе получаемых полярограмм концентрацию определяемого вещества находят методами градуировочного графика, добавок стандарта, стандартных растворов.

Метод градуировочного графика используют чаще всего. По этому методу готовят серию стандартных растворов, каждый из которых содержит точно известную концентрацию c определяемого вещества. Проводят полярографирование каждого раствора (после продувания через него тока инертного газа) в одинаковых условиях, получают полярограммы и находят значения $E_{1/2}$ (одинаковые для всех растворов) и диффузионного тока i_D (разные для всех растворов). По полученным данным строят градуировочный график в координатах i_D – c , представляющий собой обычно прямую линию в соответствии с уравнением Ильковича.

Затем проводят полярографирование анализируемого раствора с неизвестной концентрацией $c(X)$ определяемого вещества, получают полярограмму, измеряют величину диффузионного тока $i_D(X)$ и по градуировочному графику находят концентрацию $c(X)$.

Метод добавок стандарта. Получают полярограмму анализируемого раствора с неизвестной концентрацией $c(X)$ определяемого вещества и находят величину диффузионного тока, т.е. высоту h полярограммы. Затем к анализируемому раствору прибавляют точно известное количество определяемого вещества, повышающее его концентрацию на величину $c(st)$, снова проводят полярографирование и находят новое значение диффузионного тока - высоту полярограммы $h + \Delta h$, где Δh – прирост диффузионного тока за счет увеличения концентрации анализируемого раствора на величину $c(st)$.

В соответствии с уравнением Ильковича: $h = Kc(X)$, $\Delta h = Kc(st)$,

Откуда
$$\frac{h}{\Delta h} = \frac{c(X)}{c(st)} \quad c(X) = \frac{h}{\Delta h} c(st)$$

Метод стандартных растворов. В одинаковых условиях проводят полярографирование двух растворов: анализируемого раствора с неизвестной концентрацией $c(X)$ и стандартного раствора с точно известной концентрацией $c(st)$ определяемого вещества. На полученных полярограммах находят высоты полярографических волн $h(X)$ и $h(st)$, отвечающие диффузионному току при концентрациях соответственно $c(X)$ и $c(st)$. Согласно уравнению Ильковича:

$$h(X) = Kc(X), \quad h(st) = Kc(st),$$

откуда

$$\frac{h(X)}{h(st)} = \frac{c(X)}{c(st)} \quad c(X) = \frac{h}{h(st)} c(st)$$

Стандартный раствор готовят так, чтобы его концентрация была бы как можно ближе к концентрации определяемого раствора. При этом условии ошибка определения минимизируется.

Метод обладает высокой чувствительностью (до 10^{-5} – 10^{-6} моль/л); селективностью; сравнительно хорошей воспроизводимостью результатов (до ~2%); широким диапазоном применения; позволяет анализировать смеси веществ без их разделения, окрашенные растворы, небольшие объемы растворов (объем полярографической ячейки может составлять всего 1 мл); вести анализ в потоке раствора; автоматизировать проведение анализа.

К недостаткам метода относятся токсичность ртути, ее довольно легкая окисляемость в присутствии веществ-окислителей, относительная сложность используемой аппаратуры.

3.10 Амперометрическое титрование

Амперометрическое титрование представляет собой разновидность полярографического метода анализа.

Измерения проводят при величине потенциала, соответствующей достижению предельного тока для соответствующего электроактивного вещества (рис. 35, а). В амперометрическом титровании могут быть использованы раз-

личные окислительно-восстановительные реакции, а также реакции комплексообразования и осаждения.

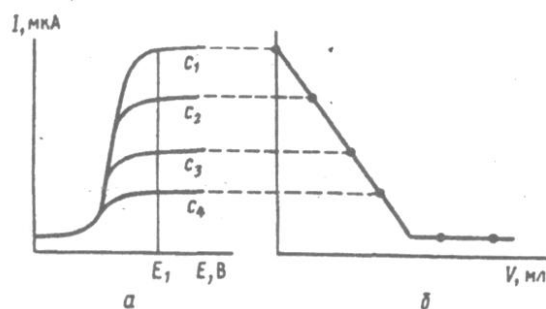


Рис. 35. Вольтамперограммы электроактивного вещества при концентрациях $C_1 > C_2 > C_3 > C_4$ (а), кривая амперометрического титрования этого вещества при потенциале индикаторного электрода E_1 (б)

В ходе амперометрического титрования регистрируют величину *диффузионного тока* в зависимости от объема добавленного титранта. Кривая амперометрического титрования в координатах: сила тока - объем титранта (I_d - V) состоит из двух линейных участков, точку эквивалентности находят графически (рис. 35, б) В качестве индикаторных электродов в амперометрическом титровании обычно применяют платиновые, графитовые и другие твердые электроды, чаще всего вращающиеся.

Следует различать *электрохимическую реакцию*, протекающую на границе раздела фаз электрод-раствор, и *химическую реакцию*, протекающую в растворе между определяемым веществом и титрантом.

Вид кривой амперометрического титрования зависит от того, какой компонент химической реакции участвует в электродном процессе (является деполляризатором): определяемое вещество, титрант или продукт реакции. Основные типы кривых амперометрического титрования (рис. 36):

а) *определяемое вещество* электрохимически активно. До точки эквивалентности уменьшается концентрация определяемого вещества в растворе, диффузионный ток падает;

б) *титрант* электрохимически активен. Концентрация электрохимически активного титранта в растворе увеличивается после достижения точки эквивалентности; это приводит к возрастанию силы тока I_d ;

в) *определяемое вещество и титрант* электрохимически активны. До точки эквивалентности диффузионный ток уменьшается с уменьшением концентрации определяемого вещества. После точки эквивалентности диффузионный ток возрастает с увеличением концентрации титранта в растворе;

г) *продукт химической реакции* электрохимически активен. В ходе химической реакции образуется продукт, концентрация которого возрастает до точки эквивалентности, после чего остается постоянной. Диффузионный ток возрастает до точки эквивалентности.

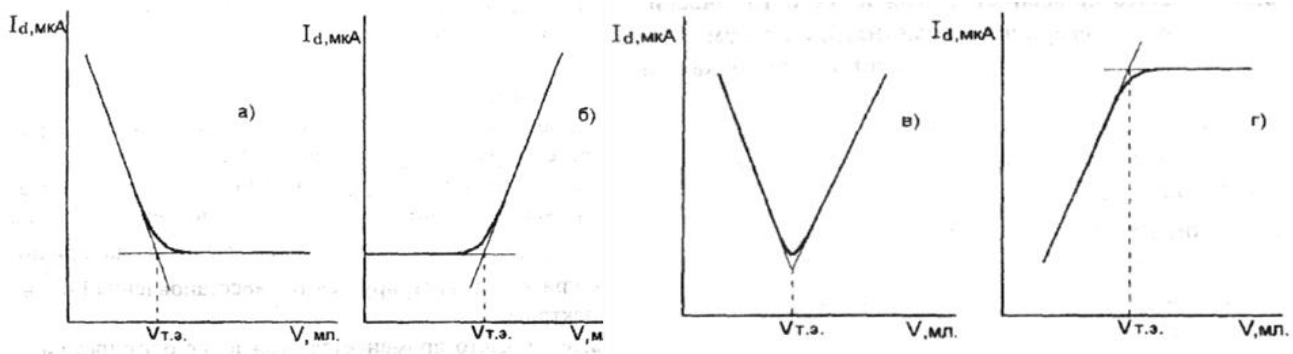


Рис. 36. Виды кривых амперометрического титрования

а) деполяризатор - определяемое вещество; б) деполяризатор - титрант; в) деполяризаторы - определяемое вещество и титрант; г) деполяризатор - продукт реакции

При амперометрическом титровании индикаторными электродами могут быть ртутный капельный электрод, платиновый вращающийся и другие электроды. В качестве электродов сравнения применяют насыщенный каломельный, хлорсеребряный и другие электроды.

Вид кривой амперометрического титрования будет зависеть от того, какой компонент реакции титрования вступает в электродную реакцию и при каком потенциале ведется титрование. Сама реакция титрования, естественно, будет протекать независимо от этих условий.

Амперометрическое титрование следует проводить при потенциале, отвечающем области диффузионного тока. Обычно титруют при потенциале на 0,2-0,3 В более отрицательном, чем потенциал полуволны полярографически активного соединения.

3.11 Применение электрохимических методов в фармации

Метод прямой кондуктометрии применим только для анализа однокомпонентных растворов электролитов из-за его неселективности. Метод нашел широкое применение для оценки качества дистиллированной воды, технической воды в фармацевтических производствах, в технологии очистки и водоподготовки путем измерения величины общей электрической проводимости раствора анализируемого объекта.

Кондуктометрическое титрование широко применяют при анализе комбинированных лекарственных препаратов, представляющих собой многокомпонентные системы, в контроле производства и количественного определения лекарственных веществ (фенобарбитала, сульфадимезина, кофеина, салицилата натрия, дибазола и др.).

Метод прямой потенциометрии применяется для определения рН растворов, анионов, ионов металлов (ионометрия). В фармацевтическом анализе по значению рН судят о наличии примесей кислых или щелочных продуктов лекарственного препарата, то есть о степени его чистоты. От значений рН растворов зависят сроки хранения лекарственных веществ, а также особенности их применения.

Методами потенциометрического титрования анализируют лекарственные вещества, например, аскорбиновую кислоту, сульфамидные препараты, барбитураты, алкалоиды и др.

Прямая кулонометрия используется для определения соединений Cu, Au, Ag, Tl, Sb и других элементов, а также для хинонов и гидрохинонов, многоатомных фенолов, нитро-, нитрозо- и азосоединений, галогенопроизводных и т.д. В фармацевтическом анализе прямую кулонометрию применяют для определения аскорбиновой и пикриновой кислот, новокаина, оксихинолина и в некоторых других случаях.

Кулонометрическое титрование применяют для определения малых количеств веществ, соединений мышьяка (III), сурьмы (III), иодидов, гидразина, фенола и других органических соединений, малостойких соединений меди(I), серебра(II), олова(II), марганца(III) и др.

Метод полярографии – фармакопейный, применяется для определения салициловой кислоты, норсульфазола, витамина B₁, алкалоидов, фолиевой кислоты, келлина в порошке и в таблетках, никотинамида, пиридоксина гидрохлорида, препаратов мышьяка, гликозидов сердечного действия, а также кислорода и различных примесей в фармацевтических препаратах.

Обучающие задачи

Задача 1

Рассчитайте потенциал стеклянного электрода в растворе с pH = 5,0 по отношению к хлорсеребряному электроду. Константа стеклянного электрода равна 0,350 В. $\varphi^0(\text{AgCl}/\text{Ag}) = +0,222$ В. Составьте схему гальванического элемента.

Решение:

$$\varphi_{(\text{стекл. эл-д})} = \text{const} + 0,059 \lg a(\text{H}^+) = \text{const} + 0,059 \text{pH}$$

$$\varphi_{(\text{стекл. эл-д})} = 0,350 \text{ В} + 0,059 \cdot 5,0 = 0,645 \text{ В}$$

Схема гальванического элемента:

Ag, AgCl | HCl | стекло | исследуемый раствор || KCl | AgCl, Ag

Задача 2

При полярографировании 10,0 см³ раствора никотинамида получена волна высотой 38 мм. После добавления к этому раствору 1,50 см³ стандартного раствора, содержащего 2,00 мг/см³ никотинамида, волна увеличилась до 80,5 мм. Рассчитайте содержание препарата (мг/см³) в анализируемом растворе.

Решение:

$$c(X) = \frac{c_{cm} \cdot h_x}{h_x + c_m \cdot h_x} \cdot \frac{V_{cm}}{(V_x + V_{cm})}$$

$$c(\text{никотинамида}) = \frac{c_{cm} \cdot h_{\text{никотинамида}}}{h_{\text{никотинамида}} + c_{cm} \cdot h_x} \cdot \frac{V_{cm}}{(V_{\text{никотинамида}} + V_{cm})}$$

$$c(\text{никотинамида}) = \frac{2,00 \text{ мг/см}^3 \cdot 38 \cdot 10^{-1} \text{ см}}{80,5 \cdot 10^{-1} \text{ см} - 38 \cdot 10^{-1} \text{ см}} \cdot \frac{1,50 \text{ см}^3}{(10,0 \text{ см}^3 + 1,50 \text{ см}^3)} = 0,125 \text{ мг/см}^3.$$

Ответ: $c(\text{никотинамида}) = 0,125 \text{ мг/см}^3$

Задача 3

Определение тиосульфата натрия в растворе проводили методом кулонометрического титрования электрогенерированным иодом при постоянном токе $2,5 \cdot 10^{-3} \text{ А}$ в течение 5 мин 25 секунд. Рассчитайте массу натрия тиосульфата в анализируемом растворе.

Решение:

$$m = \frac{M \cdot Q}{n \cdot F} = \frac{M_{\text{экв}} \cdot I \cdot t}{F}$$

$$m(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = \frac{79 \cdot 2,5 \cdot 10^{-3} \cdot 325 \text{ с}}{96500} = 6,65 \cdot 10^{-3} \text{ г}.$$

Ответ: $m(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 6,65 \cdot 10^{-3} \text{ г}.$



Задачи для самостоятельного решения

1. Рассчитайте равновесную концентрацию ионов Ag^+ в растворе соли серебра, если потенциал серебряного электрода в этом растворе равен 0,434 В.
(*Ответ:* $6,3 \cdot 10^{-7} \text{ моль/дм}^3$)
2. Рассчитайте сколько граммов меди выделится при электролизе раствора медного купороса при силе тока в 0,2 А в течение 75 мин и при выходе по току 90%. (*Ответ:* 0,2668 г)
3. Для определения содержания фенола часто используют кулонометрическое титрование по реакции бромирования. Для выполнения определения 100,00 мл подкислили до $\text{pH} = 4,0$, ввели избыток KBr и оттитровали фенол электрогенерированным на платиновом аноде Br_2 . При силе тока 0,0515 А на титрование затрачено 7 мин. 35 сек. Рассчитайте содержание (мкг/мл) фенола, полагая ее плотность равной 1 г/мл. (*Ответ:* 38 мкг/мл)

Учебно-исследовательская лабораторная работа

Тема: Потенциометрическое титрование.

Определение HCl и CH_3COOH при их совместном присутствии

Цели работы: ознакомиться с методом потенциометрического титрования, научиться определять содержание соляной и уксусной кислот при их совместном присутствии.

Сущность метода:

Дифференциальное определение HCl и CH₃COOH основано на потенциометрическом титровании их 0,1 н. раствором щелочи до достижения рН раствора, отвечающих конечным точкам титрования хлороводородной и уксусной кислот. Титрование проводят со стеклянным индикаторным электродом и насыщенным хлорсеребряным электродом сравнения или комбинированным электродом.

Константа диссоциации уксусной кислоты имеет небольшое значение ($K_d = 1,74 \cdot 10^{-5}$), поэтому сильная кислота в ее присутствии практически без осложнения может быть количественно оттитрована щелочью. По завершении титрования HCl титруют уксусную кислоту. Таким образом, при последовательном титровании смеси кислот на кривой титрования наблюдается две точки эквивалентности: первая для соляной кислоты, а вторая для уксусной.

Оборудование и реактивы: Установка для потенциометрического титрования, груша резиновая, пипетка градуированная 10 см³, цилиндр мерный 100 см³, бюретка 25 см³, раствор HCl 0,1 моль/дм³, раствор CH₃COOH 0,1 моль/дм³, раствор NaOH 0,1 моль/дм³.

Методика определения

1. Получают у преподавателя объемы хлороводородной и уксусной кислот, которые необходимо проанализировать.
2. В химический стакан емкостью 100,0 мл градуированными пипетками емкостью 10,0 мл вносят полученные аликвоты растворов анализируемых хлороводородной и уксусной кислот (суммарный объем ($V(\text{HCl}) + V(\text{CH}_3\text{COOH})$) должен составить 10 см³) и добавляют 40 см³ воды.
3. Бюретку дважды промывают небольшим объемом 0,1 М раствора NaOH и заполняют её этим раствором. Удаляют воздух из носика бюретки. Убирают воронку и устанавливают уровень жидкости на ноль.
4. Электрод закрепить в штативе и подключить к гнезду «ИЗМ».
Внимание! Разъем датчика можно подключать только к выключенному прибору!
5. Термодатчик закрепить в штативе и подключить к гнезду «ТД».
6. Для включения прибора нажать кнопку и **удерживать ее в течение 1-2 сек.** При включении на дисплее кратковременно высвечивается номер версии программного обеспечения прибора, например «v1.08», после чего прибор переходит в рабочий режим.
7. Для измерения рН кнопкой ВЫБОР следует установить режим измерений и «рН». При этом в правой части дисплея высвечивается символ «рН».
8. Промыть электрод и термодатчик дистиллированной водой, осушить их фильтровальной бумагой и погрузить в анализируемый раствор. (Глубина погружения термодатчика в анализируемый раствор должна быть не менее 30 мм.)
9. Устанавливают бюретку так, чтобы раствор из носика бюретки попадал в центр анализируемого раствора.

10. Проводят титрование 0,1 М раствором NaOH, добавляя титрант по 0,2 см³, а вблизи точки эквивалентности по 0,1 см³.
11. Экспериментальные данные заносят в табл.

Таблица

$V(\text{NaOH}), \text{см}^3$	$\Delta V, \text{см}^3$	pH	ΔpH	$\frac{\Delta \text{pH}}{\Delta V}$

12. По полученным данным строят дифференциальную кривую титрования в координатах $\frac{\Delta \text{pH}}{\Delta V} - V(\text{NaOH}), \text{см}^3$.
13. Определяют концентрацию соляной и уксусной кислот по формулам объемного анализа.

Контрольные вопросы

1. Сущность потенциометрического титрования.
2. Условия проведения потенциометрического титрования.
3. Какие электроды применяются в потенциометрическом титровании?
4. Как определить точку эквивалентности?
5. Как определить объем титранта, пошедший на титрование и рассчитать концентрацию щелочи?

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. Основные физические постоянные

Величина	Символ	Значение	Размерность
Постоянная Авогадро	N_A	$6,022137 \cdot 10^{23}$	моль ⁻¹
Газовая постоянная	R	8,314510	Дж/(моль·К)
Постоянная Фарадея	F	96485,31	Кл·моль ⁻¹
Постоянная Планка	h	$6,626075 \cdot 10^{-34}$	Дж·с
Константа Больцмана	k_B	$1,380658 \cdot 10^{-23}$	Дж·К ⁻¹
Стандартное ускорение свободного падения	g	9,80665 (точно)	м·с ⁻²

2. Предельные молярные подвижности ионов в водном растворе при 25°C

Катионы	λ_i^0 , Ом ⁻¹ ·см ² ·моль ⁻¹	Анионы	λ_i^0 , Ом ⁻¹ ·см ² ·моль ⁻¹
H ⁺	349,8	Br ⁻	78,14
Li ⁺	36,68	I ⁻	78,84
Na ⁺	50,10	ClO ₄ ⁻	67,36
K ⁺	73,50	NO ₃ ⁻	71,46
Rb ⁺	77,81	NO ₂ ⁻	72,0
Ag ⁺	61,90	1/2CO ₃ ²⁻	69,3
NH ₄ ⁺	73,55	1/2SO ₄ ²⁻	79,8
CH ₃ NH ₃ ⁺	58,7	HCOO ⁻	54,6
(CH ₃) ₂ NH ₂ ⁺	51,9	CH ₃ COO ⁻	40,9
(CH ₃) ₃ NH ⁺	47,25	C ₂ H ₅ COO ⁻	35,8
(CH ₃) ₄ N ⁺	44,92	C ₃ H ₇ COO ⁻	32,6
1/2Mg ²⁺	53,05	C ₄ H ₉ COO ⁻	28,8
1/2Ca ²⁺	59,50	C ₆ H ₅ COO ⁻	35,8
1/2Ba ²⁺	63,63	CH ₂ ClCOO ⁻	39,8
OH ⁻	198,3	CHCl ₂ COO ⁻	38,3
F ⁻	55,4	CCl ₃ COO ⁻	36,6
Cl ⁻	76,35	CH ₂ CNCOO ⁻	39,8

3. Предельная молярная электрическая проводимость ионов
(Λ_{∞} , $\text{См}\cdot\text{м}^2\cdot\text{моль}^{-1}$)

Ион	$\lambda^{\circ}\cdot 10^4$		Ион	$\lambda^{\circ}\cdot 10^4$	
	291 К	298 К		291 К	298 К
H ⁺	315,0	349,8	OH ⁻	171,0	198,3
Na ⁺	42,8	50,1	Cl ⁻	66,0	76,35
K ⁺	63,9	73,5	NO ₃ ⁻	62,3	71,46
NH ₄ ⁺	63,9	73,5	HCOO ⁻	47,0	54,6
Ag ⁺	53,5	61,9	CH ₃ COO ⁻	34,0	40,9
1/2Mg ²⁺	44,9	53,0	C ₂ H ₅ COO ⁻	—	35,8
1/2Ca ²⁺	—	60,0	C ₃ H ₇ COO ⁻	—	32,6
1/2Ba ²⁺	54,6	63,6	1/2CO ₃ ²⁻	60,5	69,3
1/2Pb ²⁺	60,5	70,0	1/2SO ₃ ²⁻	68,4	80,0

4. Стандартные окислительно-восстановительные потенциалы некоторых редокс-пар ($t^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$)

Элемент	Окисленная форма	+ne	Восстановленная форма	E° , В
As	H ₃ AsO ₄ + 2H ⁺	+2e	HAsO ₂ + 2H ₂ O	+0,56
	AsO ₄ ³⁻ + 2H ₂ O	+2e	AsO ₂ ⁻ + 4OH ⁻	-0,71
Bi	NaBiO ₃ ↓ + 4H ⁺	+2e	BiO ⁺ + Na ⁺ + 2H ₂ O	+1,8
Br	Br ₂	+2e	2Br ⁻	+1,087
	BrO ₃ ⁻ + 6H ⁺	+6e	2Br ⁻ + 3H ₂ O	+1,45
	BrO ₃ ⁻ + 3H ₂ O	+6e	Br ⁻ + 6OH ⁻	+0,61
Ce	Ce ⁴⁺	+e	Ce ³⁺	+1,74
	[Ce(SO ₄) ₃] ²⁻	+e	Ce ³⁺ + 3SO ₄ ²⁻	+1,44
Cl	Cl ₂	+2e	2Cl ⁻	+1,359
	HClO + H ⁺	+2e	Cl ⁻ + H ₂ O	+1,50
	ClO ₃ ⁻ + 6H ⁺	+6e	Cl ⁻ + 3H ₂ O	+1,45
	ClO ₃ ⁻ + 3H ₂ O	+6e	Cl ⁻ + 6OH ⁻	+0,63
Cr	Cr ³⁺	+e	Cr ²⁺	-0,41
	Cr ₂ O ₇ ²⁻ + 14H ⁺	+6e	2Cr ³⁺ + 7H ₂ O	+1,33
Cu	Cu ²⁺ + I ⁻	+e	CuI↓	+0,86
Fe	Fe ³⁺	+e	Fe ²⁺	+0,771
	[Fe(CN) ₆] ³⁻	+e	[Fe(CN) ₆] ⁴⁻	+0,36
H	2H ⁺	+2e	H ₂ ↑	0,0000
I	I ₂ ↓	+2e	2I ⁻	+0,54
	I ₃ ⁻	+2e	3I ⁻	+0,545

Эле- мент	Окисленная форма	+ne	Восстановленная форма	E°, В
	2ICl	+2e	I ₂ ↓ + 2Cl ⁻	+1,19
	HIO + H ⁺	+2e	Γ + H ₂ O	+0,99
	IO ⁻ + H ₂ O	+2e	Γ + 2OH ⁻	+0,49
	IO ₃ ⁻ + 6H ⁺	+6e	Γ + 3H ₂ O	+1,08
	IO ₃ ⁻ + 3H ₂ O	+6e	Γ + 6OH ⁻	+0,26
Mn	MnO ₂ ↓ + 4H ⁺	+2e	Mn ²⁺ + 2H ₂ O	+1,23
	MnO ₄ ⁻	+e	MnO ₄ ²⁻	+0,56
	MnO ₄ ⁻ + 8H ⁺	+5e	Mn ²⁺ + 4H ₂ O	+1,51
	MnO ₄ ⁻ + 2H ₂ O	+3e	MnO ₂ ↓ + 4OH ⁻	+0,60
N	HNO ₂ + H ⁺	+e	NO + H ₂ O	+0,98
	NO ₃ ⁻ + 3H ⁺	+2e	HNO ₂ + H ₂ O	+0,94
	NO ₃ ⁻ + 4H ⁺	+3e	NO↑ + 2H ₂ O	+0,96
	NO ₃ ⁻ + 6H ₂ O	+8e	NH ₃ ↑ + 9OH ⁻	-0,12
O	H ₂ O ₂ + 2H ⁺	+ 2e	2H ₂ O	+1,77
	O ₂ ↑ + 2H ⁺	+ 2e	H ₂ O ₂	+0,68
Pb	PbO ₂ ↓ + 4H ⁺	+ 2e	Pb ²⁺ + 2H ₂ O	+1,455
S	S ₄ O ₆ ²⁻	+ 2e	2S ₂ O ₃ ²⁻	+0,09
	SO ₄ ²⁻ + 4H ⁺	+2e	H ₂ SO ₃ + 2H ₂ O	+0,17
	SO ₄ ²⁻ + 10H ⁺	+8e	H ₂ S + 4H ₂ O	+0,31
Sb	Sb ₂ O ₃ ↓ + 6H ⁺	+4e	2SbO ⁺ + 3H ₂ O	+0,58
	SbO ₃ ⁻ + H ₂ O	+2e	SbO ₂ ⁻ + 2OH ⁻	-0,43
Sn	Sn ⁴⁺	+2e	Sn ²⁺	+0,15
	[Sn(OH) ₆] ²⁻	+2e	H ₂ SnO ₂ ⁻ + 3OH ⁻ + H ₂ O	-0,93
Ti	Ti ⁴⁺	+e	Ti ³⁺	+0,092
	Ti ³⁺	+e	Ti ²⁺	-0,37
V	V ³⁺	+e	V ²⁺	-0,255
	VO ₂ ⁺	+2e	VO ²⁺ + H ₂ O	+0,9996

Условные обозначения: ↓ – насыщенный раствор в присутствии твердого или жидкого вещества; ↑ – раствор, насыщенный газом при 101,3 кПа

5. Потенциалы электродов сравнения

Электрод	с(KCl) моль/л	Потенциалы (В) при различных температурах (°C)				
		18	20	25	30	37
Каломельный	0,1	0,337	0,337	0,337	0,336	0,336
	1,0	0,285	0,284	0,283	0,282	0,280
	насыщ.	0,248	0,447	0,244	0,241	0,236
Хлорсеребряный	0,1	–	0,290	0,290	–	–
	1,0	–	0,237	0,238	–	–
	насыщ.	0,199	0,200	0,201	0,202	0,204

Расчетные формулы

Оптические методы анализа

$$A = \lg \frac{I_0}{I} \quad T = \frac{I}{I_0} \quad A = -\lg T$$

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon \cdot c \cdot l} \quad A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad A = E^{1\%} \cdot \omega\% \cdot l \quad \varepsilon = E^{1\%} \cdot \frac{M}{10}$$

$$c(X) = \frac{A(X) \cdot c_{cm}}{A_{cm}} \quad c(X) = \frac{(I(X) - I_0') \cdot c_{cm}}{(I_{cm} - I_0'')}$$

Хроматографические методы анализа

$$S(X) = 1/2 \cdot a \cdot h$$

Метод нормировки

$$\omega(X), \% = \frac{S(X)}{\sum S_i} \cdot 100\% \quad \omega(X), \% = \frac{S(X) \cdot K(X)}{\sum S_i \cdot K_i} \cdot 100\%$$

Метод внутреннего стандарта

$$m(X) = \frac{S(X) \cdot q_{cm}}{S_{cm} \cdot K} \quad \omega(X), \% = \frac{m(X)}{m_{обр.}} \cdot 100$$

Электрохимические методы анализа

Кулонометрия $m = \frac{M \cdot Q}{n \cdot F} = \frac{M_{экв} \cdot I \cdot t}{F}$

Полярография $I_D = K \cdot c(X)$ $K = 607 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6}$

$$c(X) = \frac{c_{cm} \cdot h_x}{h_{cm}} \quad c(X) = \frac{c_{cm} \cdot h_x}{h_{x+cm} - h_x} = \frac{c_{cm} \cdot h_x}{h_{x+cm} - h_x} \cdot \frac{V_{cm}}{(V_x + V_{cm})}$$

Потенциометрия

$$\varphi(\text{Me}^{n+}/\text{Me}) = \varphi^\circ(\text{Me}^{n+}/\text{Me}) + \frac{0,059}{n} \lg a(\text{Me}^{n+})$$

$$\varphi(\text{Ox/Red}) = \varphi^\circ(\text{Ox/Red}) + \frac{0,059}{n} \cdot \lg \frac{a(\text{Ox})}{a(\text{Red})}$$

$$\varphi(\text{H}^+/\text{H}_2) = -0,059\text{pH}$$

$$\varphi(\text{Cl}^-/\text{AgCl, Ag}) = \varphi^\circ(\text{Cl}^-/\text{AgCl, Ag}) - 0,059 \cdot \lg a(\text{Cl}^-)$$

$$\varphi_{\text{(стекл. эл-д)}} = \text{const} + 0,059 \lg a(\text{H}^+) = \text{const} + 0,059\text{pH}$$

$$E = \varphi(\text{катода}) - \varphi(\text{анода})$$

Кондуктометрия

$$\Lambda_c = \frac{\chi}{c \cdot 1000} \quad \Lambda_c = \lambda_{\text{к}}^\circ + \lambda_{\text{а}}^\circ \quad \alpha = \frac{\Lambda_c}{\Lambda^\circ} \quad K = \frac{\Lambda_c^2 \cdot c}{\Lambda^\circ (\Lambda^\circ - \Lambda_c)}$$

Оглавление

Предисловие.....	3
Введение.....	4
Тема 1. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА.....	6
1.1 Параметры электромагнитной волны.....	7
1.2 Классификация оптических методов анализа	8
1.3 Абсорбционная спектроскопия.....	8
1.4 Эмиссионный спектральный анализ	13
1.5 Пламенная эмиссионная спектроскопия.....	14
1.6 Атомно-абсорбционный анализ.....	14
1.7 Нефелометрический и турбидиметрический анализ	15
1.8 Люминесцентный анализ.....	16
1.9 Применение оптических методов в фармации.....	17
Обучающие задачи	18
Задачи для самостоятельного решения	19
УИЛР. Фотоэлектроколориметрическое определение железа(III) в виде тиоцианата железа(III)	20
УИЛР. Дифференциальное фотоэлектроколориметрическое определение железа(III) в растворе в виде тиоцианата железа	24
Тема 2. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	28
2.1 Классификация методов хроматографии Ошибка! Закладка не определена.	
2.2 Способы получения хроматограммы	31
2.3 Хроматографические параметры.....	32
2.4 Теории хроматографического разделения.....	34
2.5 Обработка хроматографических данных	36
2.6 Газовая хроматография.....	40
2.7 Сорбенты газовой хроматографии	41
2.8 Подвижная фаза (газ-носитель)	41
2.9 Хроматографические колонки	42
2.11 Ионообменная хроматография.....	43
2.12 Ионообменное равновесие	45
2.13 Плоскостная хроматография.....	46
2.14 Этапы получения плоскостных хроматограмм.....	47
2.15 Способы получения плоскостных хроматограмм.....	48
2.16 Анализ плоскостной хроматограммы	49
2.17 Колоночная жидкостная хроматография	50
2.18 Эксклюзионная хроматография	51
2.19 Жидкостно-адсорбционная хроматография на колонке	52
2.20 Высокоэффективная жидкостная хроматография	53
2.21 Применение хроматографических методов в фармации.....	55
Обучающие задачи	56
Задачи для самостоятельного решения	57
УИЛР. Разделение смеси аминокислот методом тонкослойной хроматографии.....	57

УИЛР. Раздельное определение борной кислоты и сульфата никеля методом ионообменной хроматографии.....	60
Тема 3.ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	62
3.1 Классификация основных электрохимических методов анализа в зависимости от измеряемого параметра	63
3.2 Кондуктометрический анализ.....	63
3.3 Методы кондуктометрического анализа.....	64
3.4 Потенциометрический анализа.....	67
3.5 Методы потенциометрического анализа	70
3.6 Кулонометрический анализа.....	74
3.7 Прямая кулонометрия	75
3.8 Кулонометрическое титрование	77
3.9 Вольтамперометрический анализ	79
3.10 Амперометрическое титрование.....	82
3.11 Применение электрохимических методов в фармации.....	84
Обучающие задачи	85
Задачи для самостоятельного решения.....	86
УИЛР. Потенциометрическое титрование. Определение HCl и CH ₃ COOH при их совместном присутствии	86
Приложение	89
Расчетные формулы	92