

**Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова**



Химический факультет

Кафедра аналитической химии

С.В. Мугинова

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К КУРСУ
АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**для студентов I-го курса
факультета фундаментальной медицины МГУ**

Ответственный редактор
профессор Т.Н. Шеховцова

Москва-2007 г.

Глава 6. Хроматографические методы анализа

6.1. Введение

Хроматография — универсальный и эффективный физико-химический метод разделения, обнаружения и определения соединений в их смеси. Хроматографические методы используют в различных областях аналитической химии для решения широкого круга задач: разделения сложных систем органического и неорганического происхождения на составные компоненты (например, для выделения растительных и животных пигментов); концентрирования веществ из сильно разбавленных растворов (например, микроэлементов из природной, морской воды, почв и т.п.); очистки от примесей веществ, таких как витамины, антибиотики и пр. Вещества при хроматографировании не изменяются химически, что особенно важно при многих биологических исследованиях.

Хроматографические методы основаны на распределении вещества между двумя фазами, одна из которых *неподвижная* (стационарная), другая (*подвижная*) перемещается относительно первой. Неподвижной фазой может быть твердое вещество, жидкость, нанесенная на твердый носитель, или гель, подвижной фазой — жидкость или газ.

По агрегатному состоянию подвижной фазы хроматография подразделяется на жидкостную и газовую. В зависимости от природы твердой фазы различают газотвердофазную и газожидкостную хроматографию, а также жидкостно-твердофазную и жидкостно-жидкостную. *По механизму разделения* различают адсорбционную, распределительную, ионообменную, ионную и гель-фильтрационную хроматографию. Хроматографические методы с жидкой подвижной фазой различают *по технике выполнения*, в зависимости от того, помещена неподвижная фаза в колонку (*колоночная хроматография*), нанесена в виде слоя на пластину (*тонкослойная хроматография*) или распределена в виде пленки на бумаге (*бумажная хроматография*).

Растворитель, проходящий через колонку, называют *элюентом*, процесс перемещения вещества вместе с элюентом — *элюированием*. В результате образуются отдельные хроматографические зоны компонентов смеси, т.е. получается *хроматограмма*.

В настоящем пособии более подробно рассмотрены методы бумажной и тонкослойной хроматографии, широко используемые для разделения и обнаружения неорганических и органических веществ и отличающиеся простотой выполнения.

6.2. Основные понятия бумажной и тонкослойной хроматографии

Бумажная (БХ) и тонкослойная хроматография (ТСХ) по механизму разделения относятся к распределительной хроматографии, по технике выполнения — к плоскостной.

В методе БХ инертным носителем является специальная хроматографическая бумага с определенными заданными свойствами. Неподвижной фазой служит вода, адсорбированная на поверхности бумаги, подвижной — органический растворитель, смешивающийся или несмешивающийся с водой, вода или растворы электролитов.

Механизм хроматографического разделения на бумаге довольно сложен. В стационарной фазе вещество может удерживаться не только вследствие растворения в адсорбированной бумагой воде, но и адсорбироваться бумагой. Нанесенные на бумагу разделяемые компоненты переходят в подвижную фазу и по капиллярам бумаги перемещаются с различными скоростями в соответствии с коэффициентом распределения каждого из них. В начальный момент хроматографирования некоторая часть вещества из бумаги переходит в подвижную фазу. Когда органический растворитель достигает участка бумаги, несодержащего растворенное вещество, снова происходит перераспределение: из органической фазы вещество переходит в водную, фиксированную на бумаге. В результате каждый компонент концентрируется на определенном участке бумажного листа — образуются соответствующие зоны отдельных компонентов на хроматограмме.

В методе ТСХ разделение обеспечивается движением подвижной фазы через нанесённый на подложку тонкий слой сорбента. В качестве сорбентов чаще всего применяют диоксид кремния — силикагель SiO_2 и оксид алюминия — Al_2O_3 , а также другие материалы (активированный уголь, сахарозу, карбонат

кальция, тальк и др.). Важнейшей характеристикой сорбента является его активность, т.е. способность сорбировать (удерживать) компоненты разделяемой смеси. Выбор растворителя (подвижной фазы) определяется природой сорбента и свойствами разделяемых веществ. Продвижение органического растворителя по пластине так же, как и в БХ, обеспечивается капиллярными силами.

Хроматографическое разделение методами БХ и ТСХ проводят в разделительной камере или цилиндре с притёртой крышкой. Положение зоны хроматографируемого компонента устанавливают по величине коэффициента R_f , равной отношению скорости движения его зоны к скорости движения фронта растворителя. На практике величину R_f рассчитывают как отношение расстояния l , пройденного веществом, к расстоянию L , пройденному растворителем:

$$R_f = \frac{l}{L} \quad (6.1)$$

Обычно для расчета выбирают точку в центре пятна (рис. 6.1).

Величина R_f зависит от многих факторов: типа хроматографической бумаги (ее пористости, плотности, толщины, степени гидратации) и сорбента (размера зерна, природы групп на поверхности, толщины слоя, его влажности), природы вещества, растворителей, состава подвижной фазы, условий эксперимента (температуры, времени хроматографирования и т.п.). При постоянстве всех параметров хроматографирования значение коэффициента R_f определяется только индивидуальными свойствами каждого компонента. Эффективность БХ и ТСХ также зависит от селективности и чувствительности реакций, используемых для обнаружения компонентов анализируемой смеси. Обычно используют реагенты, образующие с определяемыми компонентами окрашенные соединения — проявители.

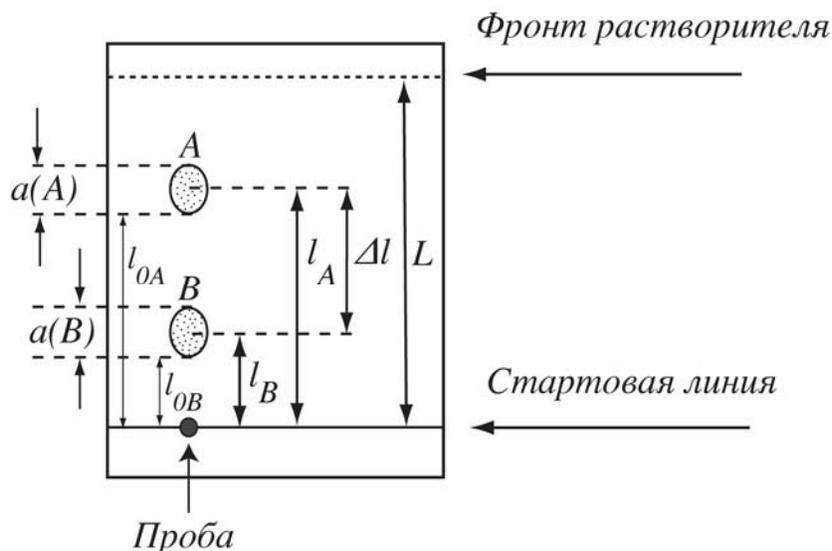


Рис. 6.1. Определение на хроматограмме величин R_f для компонентов A и B, степени их разделения R_s и числа теоретических тарелок N

Для более надёжной идентификации разделяемых компонентов применяют «свидетели» — растворы стандартных веществ (в том же растворителе, что и проба), наличие которых предполагается в анализируемом образце. Стандартное вещество наносят на стартовую линию рядом с анализируемой пробой и хроматографируют в одних условиях. На практике часто используют относительную величину:

$$R_{f,rel} = \frac{R_{f,x}}{R_{f,stand.}}, \quad (6.2)$$

где $R_{f,stand.}$ также рассчитывают по формуле (6.1).

Эффективность хроматографического разделения характеризуют числом эквивалентных теоретических тарелок и их высотой. Так, в методе ТСХ число эквивалентных теоретических тарелок N для компонента A разделяемой смеси рассчитывают по формуле:

$$N_A = 16 \left(\frac{l_{0A}}{a(A)} \right)^2. \quad (6.3)$$

Значения l_{0A} и $a(A)$ определяют, как показано на рис. 6.1. Тогда высота эквивалентной теоретической тарелки H_A составляет:

$$H_A = \frac{l_{OA}}{n} = \frac{a(A)^2}{16l_{OA}}. \quad (6.4)$$

Разделение практически возможно, если $R_f(A) - R_f(B) \geq 0,1$. Для характеристики разделения двух компонентов А и В используют *степень (критерий) разделения* R_s :

$$R_s = \frac{\Delta l}{[a(A)/2 + a(B)/2]} = \frac{2\Delta l}{[a(A) + a(B)]}, \quad (6.5)$$

где Δl — расстояние между центрами пятен компонентов А и В; $a(A)$ и $a(B)$ — диаметры пятен А и В на хроматограмме соответственно (рис. 6.1). Чем больше R_s , тем чётче разделены пятна компонентов А и В на хроматограмме. Условия хроматографирования подбирают так, чтобы величина R_s отличалась от нуля и единицы, оптимальное значение R_s составляет 0,3 — 0,7.

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

$$\alpha = \frac{l_B}{l_A}. \quad (6.6)$$

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

В зависимости от направления движения подвижной фазы различают:

а) *восходящую хроматографию* — подвижную фазу наливают на дно разделительной камеры, бумага (пластинка) ставится вертикально;

б) *нисходящую хроматографию* — подвижная фаза подаётся сверху и перемещается вниз вдоль слоя сорбента пластинки или бумаги;

в) *радиальную хроматографию* — горизонтальное продвижение фронта растворителя: подвижная фаза подводится к центру бумажного диска (пластины), куда нанесена разделяемая смесь.

Оформление работы. В лабораторном журнале следует записать условия хроматографирования: растворитель, время хроматографирования, проявители. После проявления хроматограммы нужно рассчитать величины R_f , R_s , α , N , H и занести их в журнал, туда же вклеить хроматограмму. Следует помнить, что окраска зон, полученных при помощи летучих

реагентов (NH_3 , ацетон), со временем исчезает, поэтому рекомендуется такие зоны раскрасить цветными карандашами.

Работа 1

Разделение и обнаружение катионов методом одномерной бумажной хроматографии

Реагенты и аппаратура

Разделительная камера или цилиндр с притёртой крышкой. Капилляры.

Хроматографическая бумага шириной 2 см и длиной 20 см.

Подвижная фаза: HCl — ацетон (8 об.% конц. HCl , 5% воды, 87% ацетона).

Анализируемая смесь катионов:

1. Al(III) , Mn(II) , Pb(II)	5. Mn(II) , Co(II) , Cu(II)
2. Cr(III) , Al(III) , Cu(II)	6. Ni(II) , Mn(II) , Pb(II) , Zn(II)
3. Cr(III) , Co(II) , Cu(II)	7. Ni(II) , Co(II) , Cu(II) , Cd(II)
4. Cr(III) , Ni(II) , Pb(II)	8. Ni(II) , Co(II) , Pb(II) , Zn(II)

Реагенты-проявители.

Цель работы: на основании величин R_f идентифицировать катионы, присутствующие в одной из указанных выше комбинаций. Для данной смеси растворителей установлены значения R_f , приведенные в табл. 6.1.

Разделение проводят в закрытых камерах, так как необходимо избегать испарения растворителя с полоски бумаги.

Таблица 6.1. Значения R_f некоторых катионов

Катионы	R_f	Катионы	R_f
Cr(III)	0,02	Pb(II)	0,70
Ni(II)	0,13	Cu(II)	0,77
Al(III)	0,15	Zn(II)	0,94
Mn(II)	0,25	Cd(II)	1,0
Co(II)	0,54	Fe(III)	1,0

Можно использовать цилиндр с притертой крышкой, к которой с помощью крючка крепится полоска

хроматографической бумаги. *Внимание, бумагу следует брать аккуратно за края, не захватывая при этом её центральную часть!* Смесь растворителей (HCl — ацетон) вносят в цилиндр заранее для насыщения его атмосферы парами растворителя.

Приготовление анализируемой смеси. В пробирку вносят *только по одной капле* растворов хлоридов соответствующих солей катионов (анион минеральной кислоты в составе подвижной фазы и анион хроматографируемого соединения должны быть одинаковыми, иначе произойдет размывание зон). Катионы свинца используют в виде азотнокислых солей. Анализируемый раствор может быть с осадком.

Нанесение образца на полоску хроматографической бумаги. На расстоянии 2 см от края бумажной полоски *карандашом* проводят стартовую линию. Из капилляра в середину этой линии наносят каплю анализируемого раствора или раствора с осадком. При этом необходимо прижать капилляр к бумаге, т.е. раствор следует наносить так, чтобы капля не расплывалась (чем меньше диаметр капли, тем более четкой будет хроматограмма). Диаметр пятна обычно составляет 2-3 мм. Пятно обводят карандашом, высушивают *над песчаной баней, не касаясь* ее. Эту операцию проводят 2-3 раза.

Получение хроматограммы. Полоску хроматографической бумаги с нанесенной каплей анализируемого раствора опускают вертикально в цилиндр так, чтобы ее конец был погружен в растворитель не более, чем на 0,5 см. *Пятно не должно погружаться в растворитель, а бумажная полоска не должна касаться стенок цилиндра.* Время хроматографирования составляет 1,5 - 2 часа. Процесс прекращают после того, как растворитель пройдет от линии старта *не менее 10 см.* После этого бумажную полоску вынимают, отмечают на ней положение фронта растворителя и тщательно высушивают *над песчаной баней.* Измеряют расстояние между стартовой линией и фронтом растворителя L . Затем по табличным значениям R_f и экспериментально найденной величине L вычисляют l — высоту подъема зоны каждого катиона из заданной комбинации. Вычисляют величины R_s и α для двух катионов разделяемой смеси (рис. 6.1) по формулам 6.5 и 6.6 соответственно. Делают вывод о качественном составе анализируемой смеси и селективности разделения катионов.

Обнаружение катионов. Большинство катионов образует невидимые зоны, поэтому для их обнаружения хроматограмму обрабатывают растворами органических и неорганических реагентов-проявителей (табл. 6.2).

Таблица 6.2. Реагенты для обнаружения катионов

Катион	Реагенты	Цвет зоны
Ni(II)	Диметилглиоксим, пары аммиака	Красный
Mn(II)	Бензидин, 2 М раствор NaOH	Синий
Co(II)	Тиоцианат калия, насыщенный раствор	Синий
Cu(II)	Гексацианоферрат(II) калия	Буро-красный
Pb(II)	Иодид калия	Желтый
Zn(II)	Дитизон в CCl ₄	Красный
Cd(II)	Сульфид натрия	Желтый
Cr(III)	2 М раствор NaOH, 3%-ный раствор H ₂ O ₂ , бензидин	Синий
Al(III)	Ализарин, пары аммиака	Розовый

Капилляром с реагентом для обнаружения катиона прикасаются только к участку хроматограммы на высоте зоны размещения данного катиона (*l*). Появление характерной окраски подтверждает наличие катиона в исследуемой смеси. Обнаружение ионов марганца, кобальта и хрома проводят в условиях, указанных ниже.

Обнаружение марганца. Соответствующий участок хроматограммы обрабатывают 2 М раствором NaOH, образующийся MnO(OH)₂ быстро окисляется кислородом воздуха или H₂O₂, затем добавляют каплю раствора бензидина; MnO(OH)₂ окисляет бензидин, и пятно синеет.

Обнаружение кобальта. При выполнении реакции на кобальт следует учитывать, что комплекс Co(SCN)₄²⁻ неустойчив, поэтому рекомендуется вводить большой избыток тиоцианата. Для проявления зоны, содержащей кобальт, на определенный участок хроматографической полоски наносят каплю насыщенного раствора NH₄SCN и каплю ацетона. Образуется пятно синего цвета.

Обнаружение хрома. Окисляют Cr(III) в Cr(VI). Для этого готовят в пробирке окислительную смесь: к 1 капле 2 М раствора

NaOH прибавляют 1 каплю раствора бензидина. В присутствии хрома пятно синее.

Работа 2

Разделение и идентификация аминокислот методами бумажной и тонкослойной хроматографии

Разделение аминокислот выполняют методами одномерных восходящих БХ и ТСХ. Указанные методы с успехом применяют для разделения и обнаружения аминокислот в различных смесях. Ниже приведены формулы соединений:

Моноаминокарбоновые кислоты

Глицин	$\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{COOH}$
Валин	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
Лейцин	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$

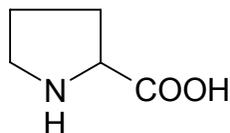
Диаминокарбоновые кислоты

Лизин	$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
Аргинин	$\text{H}_2\text{NCNH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$



Гетероциклические аминокислоты

Пролин



Реагенты и аппаратура

Разделительная камера или цилиндр с притёртой крышкой. Капилляры.

Хроматографическая бумага шириной 2 см и длиной 20 см. Пластика для ТСХ «UV-Silufol» (Чехия) шириной 1-1,5 см и длиной до 12-15 см.

Подвижная фаза: смесь изопропанол – H_2O (об. %: I — 70:30; II — 50:50).

Анализируемые индивидуальные растворы аминокислот в подвижной фазе с концентрацией 1 мг/мл или модельные смеси в комбинациях: для разделения методом БХ — лизин-глицин-лейцин, глицин-пролин-лейцин, лизин-валин-лейцин или двухкомпонентные смеси; для разделения методом ТСХ — аргинин-пролин-лейцин, лизин-пролин-

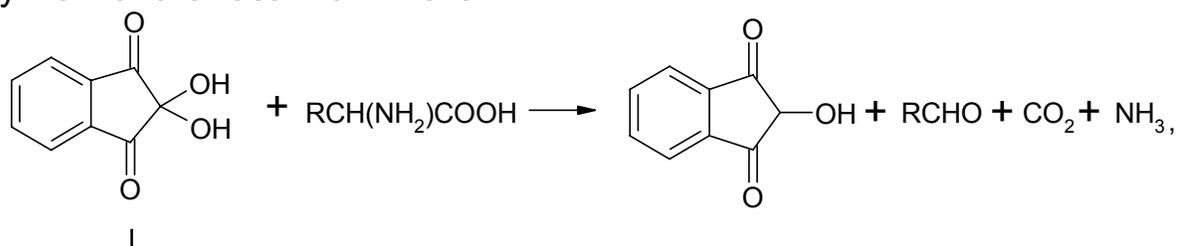
лейцин, лизин-глицин-лейцин, аргинин-глицин-лейцин или двухкомпонентные смеси.

Реагент-проявитель, 0,2%-ный раствор нингидрина в ацетоне.

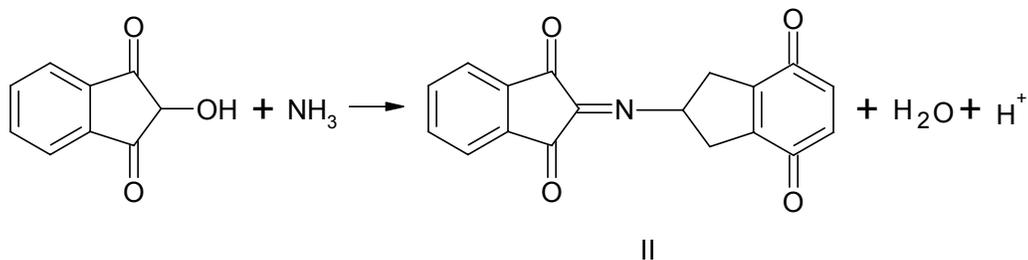
Техника выполнения эксперимента методом БХ подробно описана в *работе 1*. На пластинке для ТСХ проводят карандашом линию старта (*ни в коем случае в этих целях нельзя использовать гелевую или шариковую ручку!*) на расстоянии 1 см от края. На стартовую линию наносят капилляром раствор смеси аминокислот так, чтобы диаметр пятна не превышал 4-5 мм, а центр пятна находился на линии старта. Подсушивают пластинку над песчаной баней или плиткой и вновь наносят анализируемую смесь на линию старта. Внимание, пластинки для ТСХ надо брать аккуратно за края, не захватывая при этом центральную часть!

Пластинку с нанесенной пробой помещают вертикально в цилиндр так, чтобы она погружалась в подвижную фазу не более чем на 5 мм. Хроматографирование прекращают, когда фронт растворителя пройдет 8-10 см. В случае разделения методом БХ время хроматографирования составляет 1,5–2 ч, для ТСХ не превышает 15-25 мин. Далее пластинку аккуратно вынимают из камеры, карандашом отмечают линию фронта растворителя, подсушивают пластинку над песчаной баней или плиткой и обрабатывают раствором нингидрина.

Нингидрин (I) расщепляет α -аминокислоту до альдегида, углекислого газа и аммиака:



а аммиак образует с нингидрином краситель фиолетового цвета (фиолетовый Руэманна) (II):



Пролин, у которого нет α -аминогруппы, в реакции с нингидрином образует производное желтого цвета. После обработки пластинки раствором нингидрина её снова подсушивают: при нагревании при 70-80°C для проявления пятен на хроматограмме достаточно 3-5 мин.

Рассчитывают величины R_f для каждого пятна. Затем по величинам R_f и окраске пятен идентифицируют компоненты анализируемой смеси, используя данные табл. 6.3.

Таблица 6.3. Величины R_f и окраска пятен аминокислот на хроматограмме при разделении их методами бумажной хроматографии (I) и ТСХ (II) ($n = 5$, $R = 0,95$)

Аминокислота	R_f		Цвет пятна	
	I	II	I	II
Аргинин	—	0,07 ± 0,01	—	Красно-фиолетовый
Лизин	0,10	0,08 ± 0,02	Красно-фиолетовый	Сине-фиолетовый
Пролин	0,53	0,56 ± 0,04	Желто-синяя	Сине-желтый
Глицин	0,35	0,63 ± 0,06	Фиолетовый	Сине-фиолетовый
Лейцин	0,81	0,83 ± 0,07	Фиолетовый	Сине-фиолетовый
Валин	0,66	—	Фиолетовый	—

Вычисляют величины R_s и α для двух компонентов разделяемой смеси (рис. 6.1) по формулам 6.5 и 6.6 соответственно. Оценивают величины N и H для каждой аминокислоты (рис. 6.1; формулы 6.3 и 6.4). Делают вывод о качественном составе анализируемой смеси, эффективности и селективности разделения аминокислот. Хроматограмму вклеивают в лабораторный журнал.

?

 **Вопросы для самоконтроля**

1. Классифицируйте хроматографические методы анализа по природе подвижной фазы, по механизму разделения и по способу хроматографирования. Приведите примеры использования хроматографических методов анализа в фармакологических и медицинских исследованиях.
2. В чем преимущества элюентной хроматографии перед фронтальной и вытеснительной?
3. Что такое внутренняя и внешняя хроматограмма? Перечислите хроматографические параметры, позволяющие оценить эффективность и селективность колонки, а также степень разделения различных веществ в смеси по полученной хроматограмме.
4. Каков физический смысл величины N ? Какие числовые значения она может принимать? Каково её теоретически минимальное значение?
5. От каких факторов зависит эффективность хроматографической колонки по концепции теоретических тарелок? Как повысить эффективность колонки?
6. Почему в количественном хроматографическом анализе предпочитают измерять высоту узких и площадь широких пиков? Перечислите способы измерения площади хроматографического пика.
7. Пользуясь кинетической теорией, объясните асимметричность пиков при нелинейности изотермы адсорбции. Почему асимметричные пики мало пригодны для количественных измерений?
8. Что характеризует величина R_f в хроматографии и как ее определяют? Перечислите факторы, влияющие на величину R_f .
9. Почему следует избегать нанесения больших объемов пробы при хроматографировании на бумаге? Почему пятно пробы на стартовой линии в бумажной хроматографии должно иметь минимальные размеры? Что будет при слишком малом времени хроматографирования на бумаге и при слишком большом?
10. Как идентифицируют компоненты на бумажных и тонкослойных хроматограммах?

 [2]. Кн. 1. Гл. 8. С. 260-335; [3]. Гл. 3.3. С. 155-168; [5]. Кн. 2. Гл. 17. С. 292-341; [6]. Гл. 13. С. 212 - 229.

Раздел III

Типовые задачи рубежных контрольных работ и домашние задания

Контрольная работа №1

1. Выведите формулы и рассчитайте pH водных растворов:
а) 0,1000 М NH_4NO_3 ($K_b(\text{NH}_3)=1,8 \cdot 10^{-5}$); б) 0,1000 М H_3PO_4 (для H_3PO_4 : $K_{a,1}=7,08 \cdot 10^{-3}$; $K_{a,2} = 6,17 \cdot 10^{-8}$; $K_{a,3} = 4,68 \cdot 10^{-13}$); в) 0,1000 М Na_3PO_4 ; г) 0,1000 М $\text{C}_6\text{H}_5\text{ONa}$ (для $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$: $K_a=1 \cdot 10^{-10}$).
Ответ: а) 5,12; б) 1,63; в) 12,77; г) 11,51.
2. Рассчитайте pK_a водного раствора HNO_2 , если у 0,1000 М раствора NaNO_2 $\text{pH}=8,15$. *Ответ:* $pK_a=3,30$.
3. Рассчитайте pH водного 0,0100 М раствора хлористоводородного пиридина $\text{C}_5\text{H}_5\text{NH}^+\text{Cl}^-$, если $pK_b(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}) = 8,8$. *Ответ:* 2,6.
4. Рассчитайте pH водного 0,05 М раствора кислоты HA с $pK_a=5,00$. *Ответ:* 3,14.
5. Выведите формулы и рассчитайте pH смесей, состоящих из а) 0,1000 М раствора Na_2CO_3 и 0,2000 М раствора NaHCO_3 . (для H_2CO_3 : $K_{a,1} = 4,5 \cdot 10^{-7}$, $K_{a,2} = 5,0 \cdot 10^{-11}$); б) 0,1000 М кислоты HA и 0,0020 М основания A^- ($K_a=10^{-5}$). *Ответ:* а) 10,00; б) 3,30.
6. Каковы тип и знак индикаторной погрешности при титровании 0,1 М раствора слабой кислоты ($K_a=10^{-5}$) 0,1 М раствором NaOH с индикатором, pT которого равен а) 10,0; б) 8,0?
Ответ: а) + "ОН"-ошибка; б) - "НА" ошибка.
7. Каковы тип и знак индикаторной погрешности при титровании 0,1 М раствора слабого основания ($K_b=10^{-5}$) 0,1 М раствором

HCl с индикатором, рТ которого равен а) 5,0; б) 6,0? Ответ: а) + "Н" ошибка; б) - "В" ошибка.

8. Напишите выражения для K_4 и β_6 при образовании комплексов:
а) $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3-}$; б) $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$.
9. Теоретические вопросы по комплексным соединениям и органическим реагентам в химическом анализе (см. лекции).

Контрольная работа №2

1. Выведите формулы и напишите выражения для стандартных и формальных потенциалов систем: а) $\text{Cu}^{2+}/\text{CuI}$; б) $\text{FeF}_5^{2-}/\text{Fe}^{2+}$, если известны $E^0(\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+)$ и $E^0(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+})$.
2. Пользуясь выведенными в задании 1 формулами, рассчитайте величины стандартных и формальных потенциалов пар:
а) $\text{Cu}^{2+}/\text{CuI}$ в 2 М растворе KI
($E^0_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+} = 0,16 \text{ В}$, $K_{\text{s,CuI}} = 1,1 \cdot 10^{-12}$);
б) $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ в 2 М растворе NaF
($E^0_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} = 0,77 \text{ В}$, $\beta(\text{FeF}_5^{2-}) = 1,26 \cdot 10^{16}$).
- Ответ*: а) 0,85 В; 0,87; б) - 0,16 В, -0,25 В.
3. Рассчитайте формальный потенциал в системе $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ в 2 М растворе KCN, исходя из констант устойчивости цианидных комплексов железа: $\beta(\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}) = 10^{24}$, $\beta(\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}) = 10^{31}$. Ответ: 0,36 В.
4. Напишите уравнения реакций в водном растворе, определите их направление в стандартных условиях и рассчитайте константу равновесия: а) $\text{H}_2\text{SeO}_3 + \text{Br}^- \rightarrow \text{Se} + \text{Br}_2$, если $E^0(\text{H}_2\text{SeO}_3/\text{Se}) = 0,74 \text{ В}$, $E^0(\text{Br}_2/2\text{Br}^-) = 1,09 \text{ В}$. Как будет влиять рН на направление реакций? Ответ аргументируйте. Ответ: реакция не протекает, $K_p = 7,24 \cdot 10^{-25}$.
5. При каком значении рН константа равновесия реакции между нитрит-ионом и йодидом калия принимает значения больше 10? $E^0(\text{NO}_2^-/\text{NO}) = 1,202 \text{ В}$, $E^0(\text{I}_2/2\text{I}^-) = 0,535 \text{ В}$? Ответ: при $\text{pH} \leq 5,5$.

6. Теоретические вопросы по методам окислительно-восстановительного титрования (дихроматометрия, перманганатометрия, иодометрия, аскорбинометрия, ферриметрия): первичные и вторичные стандартные растворы указанных методов, уравнения реакций, положенных в основу методов, условия определения железа(II, III), меди(II), аскорбиновой кислоты (рН, индикаторы).

Каждая контрольная работа включает 5 заданий: 3 расчетных задачи и 2 теоретических вопроса.

**Потенциалы во всех задачах рассчитаны для 20 °С.*

Домашнее задание №1

Рассчитайте и постройте кривую титрования 100,0 мл 0,1 М раствора аскорбиновой кислоты ($C_6H_8O_6$) 0,1000 М раствором NaOH ($pK_{a,1}=4,2$; $pK_{a,2}=11,6$). Выберите подходящий индикатор для фиксации конечной точки титрования. Укажите тип и знак индикаторной погрешности, если в качестве индикаторов использовали: а) тимоловый синий (рТ=10,0); б) фенолфталеин (рТ=9,0); в) метиловый оранжевый (рТ=4,0); г) метиловый красный (рТ=5,0).

Методические рекомендации: 1) для построения кривой титрования необходимо привести формулы для расчета и рассчитать рН в следующие моменты титрования: $f = 0$; 10; 50; 90; 99; 99,9; 100; 101; 110 %. Расчеты представить в виде таблицы. *Обратите внимание, в каких случаях можно пользоваться упрощенными формулами для расчета, а в каких случаях следует рассчитывать рН по точным формулам;* 2) кривая титрования строится на миллиметровой бумаге карандашом в масштабе 1 ед. рН – 1 см, $f=10\%$ – 1 см. На кривой титрования следует нанести пунктирными линиями интервал перехода окраски выбранного индикатора.

?



Вопросы для самоконтроля

1. Что такое кривая титрования? В каких координатах строится кривая титрования в методе кислотно-основного

- титрования? Обоснуйте необходимость построения кривых титрования.
2. Что такое скачок титрования? Какие факторы влияют на его величину? Чем определяется величина скачка титрования?
 3. Дайте анализ кривых титрования (обратите внимание на симметрию кривой, положение точки эквивалентности, область буферного действия, величину скачка) сильных и слабых кислот и оснований.
 4. Как меняется вид кривой (величина скачка, положение точки эквивалентности) при изменении: а) констант кислотности и основности; б) концентрации растворов; в) температуры?

 [1]; [2]. Кн. 2. Гл. 9. С. 36-42; [5]. Кн. 1. Гл. 7. С. 125-156; [7]. Гл. 5.2, С. 135-143.

Домашнее задание №2

Обработайте результаты (ω , %) кислотно-основного и окислительно-восстановительного титрования аскорбиновой кислоты с применением методов математической статистики.

Методические рекомендации: каждую выборку результатов титрований (содержание аскорбиновой кислоты в фармацевтическом препарате, ω , %, полученное методами кислотно-основного и окислительно-восстановительного титрований) необходимо проверить на наличие промахов (по Q-критерию); рассчитать среднее, дисперсию, стандартное отклонение, относительное стандартное отклонение. Проверить возможность объединения результатов титрования аскорбиновой кислоты двумя методами по критерию Фишера и t -критерию. В случае однородности результатов двух выборок рассчитать среднее и доверительный интервал для объединенной выборки.

?

Вопросы для самоконтроля

1. Как классифицируют погрешности в химическом анализе?

2. Что такое генеральная и выборочная совокупность результатов анализа? С какого рода выборкой приходится иметь дело на практике?
3. Что такое правильность и точность анализа? Какими величинами они определяются?
4. Что такое доверительная вероятность и доверительный интервал? Как рассчитывают доверительный интервал для конечной выборки результатов анализа?
5. Как проверить однородность результатов двух выборок, пользуясь критерием Фишера (t -критерием)?

 [1]; [2]. Кн. 1. Гл. 2.2-2.6. С. 27-56; [5]. Кн. 1. Гл. 2. С. 24-46; [7]. Гл. 1.2, С. 10-43.

Раздел IV

Рейтинговая оценка

Рейтинговая оценка знаний студентов по аналитической химии проводится по следующим позициям:

Позиция (оценивает)	Количество	Баллы	Всего	
Модуль I			55	
Самостоятельные работы на лекциях и семинарах (лектор)	5	3	15	
Рубежные контрольные работы (лектор)	2	15	30	
Домашние задания (преподаватель)	2	5	10	
Модуль II			43	
Практические работы (преподаватель)	Выполнение	Оформление	Теория	Всего
<i>Кислотно-основное титрование.</i> Определение аскорбиновой кислоты Определение формальдегида (солей аммония)	3	1	3	7
	3	1	3	7
<i>Комплексонометрия</i>	4	1	3	8
<i>Окислительно-восстановительное титрование</i>	3	1	3	7
<i>Атомная спектроскопия</i>	2	1	4	7
<i>Спектрофотометрия или люминесценция</i>	2,5	1,5	3	7
<i>Потенциометрия</i>	2,5	1,5	3	7
<i>Хроматография</i>	2	1	4	8
Общая сумма баллов - 98				

Пояснения

- При несвоевременном выполнении студентом календарного плана без уважительной причины при оценке вводится коэффициент 0,8.
- Списывание во время рубежной контрольной работы оценивается нулевым баллом.

- Преподаватель вносит сведения в итоговую ведомость не позднее, чем через неделю после срока, установленного календарным планом.

Условия получения «дифференцированного» зачета по курсу аналитической химии: студент должен полностью выполнить календарный план и набрать не менее 40% от максимальной суммы баллов, т.е. **39 баллов**.

Студенты выполняют **две задачи по инструментальным методам анализа**, поэтому зачет выставляется, исходя из максимальной суммы баллов – **98**, а оценка в соответствии со шкалой баллов: **79 – 98 «отлично»;**

59 – 78 «хорошо»;

39 – 58 «удовлетворительно».

Раздел V

Правила техники безопасности в химической лаборатории

Студенты должны знать и выполнять следующие правила.

1. Содержать закрепленное рабочее место в чистоте и порядке. □
2. После окончания работы дежурный принимает рабочее место и сдает преподавателю или лаборанту. □
3. Соблюдать тишину. Запрещается принимать пищу. □
4. Приступать к выполнению задания лишь тогда, когда отчетливо уяснены его цели и задачи, обдуманы отдельные этапы проведения эксперимента и на рабочем месте есть всё необходимое для работы. □
5. Для выполнения практической работы необходимы четкость, собранность, внимание и предельная аккуратность. □
6. Реактивами пользоваться следующим образом: сухое вещество брать шпателем, жидкие реактивы – капельницей; наливая раствор из склянки, держать склянку этикеткой к ладони (чтобы капли раствора не повредили надпись); избыток взятого вещества не сыпать и не сливать обратно, а удалять в санитарную склянку или слив; все работы с вредными веществами проводить в вытяжном шкафу; остатки неагрессивных реактивов и продукты их взаимодействия после разбавления выливать (жидкие) в канализацию или выбрасывать (твердые) в отведенные места. □
7. *Работать в халате. После*

окончания работы тщательно вымыть руки. □ 8. Наблюдения и выводы заносить в рабочий журнал, записи вести так, чтобы они кратко и логично описывали работу, используемые приборы и реактивы. Работа должна иметь заголовок (тема практической работы) и дату, следует привести уравнения реакций, необходимые формулы и расчеты (с указанием единиц измерения), написать выводы. □ 9. Соблюдать максимальную осторожность, все эксперименты с токсичными и летучими веществами, упаривание растворов проводить только в вытяжном шкафу. □ 10. Не наклоняться над сосудом с кипящей жидкостью, нагреваемую пробирку держать отверстием в сторону от себя и соседа, во избежание выброса жидкости прогревать все содержимое пробирки. □ 11. Нюхать, не вдыхая пары полной грудью, а направляя к себе плавным движением ладони. □ 12. Работу с кислотами и щелочами проводить, наливая их растворы в пробирку на расстоянии от себя, не допускать попадания агрессивных веществ на одежду, лицо и руки. □ 13. При обращении с неизвестными или недостаточно изученными веществами проявлять повышенную осторожность. Ни в коем случае нельзя пробовать вещество на вкус. □ 14. Необходимо тотчас убирать все пролитое, разбитое и просыпанное на столах и на полу. При пролипании кислоты на пол это место засыпать песком, собрать его и вынести, вымыть этот участок пола раствором соды. □ 15. Нельзя набирать ртом при помощи пипетки ядовитые и едкие жидкости, следует пользоваться резиновой грушей или пипетатором. □ 16. Запрещается работать с легковоспламеняющимися веществами вблизи огня. □ 17. Для измельчения сухих щелочей следует надевать защитные очки. Брать твердую щелочь только пинцетом или щипцами. □ 18. Не использовать для эксперимента вещества из склянок и банок без этикеток и с неразборчивыми надписями. □ 19. При приготовлении растворов серной кислоты следует лить кислоту в воду, а не наоборот (вследствие сильного местного разогревания возможно разбрызгивание концентрированной кислоты). Пользоваться толстостенной склянкой или фарфоровой посудой. □ 20. Запрещается брать вещества из лаборатории домой. □ 21. В целях противопожарной безопасности рекомендуется уметь пользоваться асбестом, песком и огнетушителем. □ 22. При необходимости уметь пользоваться содержимым аптечки, согласно приведенной ниже инструкции оказать первую помощь при ожогах и

отравлениях. □23. К работе в практикуме допускаются студенты, усвоившие приведенные выше правила и правильно ответившие на контрольные вопросы преподавателя по технике безопасности в химическом практикуме.

Первая медицинская помощь при ожогах и отравлениях

Происшествия	Первая помощь
Ожоги огнем, паром, горячими предметами: а) первой степени (краснота); б) второй степени (пузыри); в) третьей степени (разрушение тканей)	а) Наложить вату, смоченную этиловым спиртом, повторить наложение со смачиванием; б) обработать, как при ожоге первой степени, а затем 3–5%-ным раствором KMnO_4 или 5%-ным раствором таннина; в) покрыть рану стерильной повязкой и вызвать врача
Ожоги кислотами (серной, азотной, фосфорной), хлором или бромом	Промыть ожог большим количеством воды, затем 5%-ным раствором NaHCO_3
Ожоги щелочами	Промыть обильно водой
Ожоги глаз	Промыть глаза струей воды. При ожоге кислотами промыть 3%-ным раствором NaHCO_3 , щелочами – 2%-ным раствором H_3BO_3
Отравления, вызванные попаданием едких веществ в рот и пищеварительный тракт	При попадании в организм кислот следует пить кашицу из оксида магния. При попадании щелочей – пить раствор лимонной или очень разбавленной уксусной кислоты
Отравление твердыми или жидкими веществами	Вызвать рвоту (например, выпив 1%-ный раствор CuSO_4)
Отравление газами	Немедленно выйти на свежий воздух

При порезах стеклом рану продезинфицировать раствором KMnO_4 или спиртом, смазать йодом и перевязать бинтом. После оказания первой помощи пострадавшего направить к врачу.

Приложение

Значения Q-критерия (доверительная вероятность 0,90)

n	$Q_{крит}$	n	$Q_{крит}$
3	0,94	7	0,51
4	0,76	8	0,47
5	0,64	9	0,44
6	0,56	10	0,41

Значения коэффициентов Стьюдента (t) для доверительной вероятности 0,95

$f=n-1$	$t_{0,95, f}$	$f=n-1$	$t_{0,95, f}$
1	12,7	6	2,45
2	4,30	7	2,37
3	3,18	8	2,31
4	2,78	9	2,26
5	2,57	10	2,23

Значения F для уровня значимости $p=0,05$

f_2	f_1						
	1	2	3	4	5	6	12
1	164,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	244,9
2	18,5	19,2	19,2	19,3	19,3	19,3	19,4
3	10,1	9,6	9,3	9,1	9,0	8,9	8,7
4	7,7	6,9	6,6	6,4	6,3	6,2	5,9
5	6,6	5,8	5,4	5,2	5,1	5,0	4,7
6	6,0	5,1	4,8	4,5	4,4	4,3	4,0
7	5,6	4,7	4,4	4,1	4,0	3,9	3,6
8	5,3	4,5	4,1	3,8	3,7	3,6	3,3
9	5,1	4,3	3,9	3,6	3,5	3,4	3,1
10	5,0	4,1	3,7	3,5	3,3	3,2	2,9

Содержание

	С.
Введение	2
Раздел I. Программа курса и календарный план	3
Раздел II. Практикум по аналитической химии	8
Глава 1. Титриметрические методы	8
1.1. Введение	8
1.2. Кислотно-основное титрование в водных средах	11
Работа 1. Стандартизация раствора соляной кислоты по карбонату натрия	12
Работа 2. Стандартизация раствора гидроксида натрия по щавелевой кислоте	13
Работа 3. Стандартизация раствора гидроксида натрия по соляной кислоте	14
Работа 4. Определение аскорбиновой кислоты	15
Работа 5. Определение формальдегида	17
Работа 6. Определение солей аммония формальдегидным методом	19
1.3. Комплексонометрическое титрование	21
Работа 7. Определение меди(II)	21
Работа 8. Определение марганца(II)	22
Работа 9. Определение кальция и магния при совместном присутствии	24
1.4. Окислительно-восстановительное титрование	26
<i>Йодометрия</i>	26
Работа 10. Стандартизация раствора тиосульфата натрия по дихромату калия	27
Работа 11. Определение меди(II)	28
<i>Ферриметрия</i>	29
Работа 12. Стандартизация раствора железа(III) по ЭДТА	30
Работа 13. Определение аскорбиновой кислоты	31
Глава 2. Оптическая атомная спектрометрия	34
2.1. Общие положения	35
2.2. Эмиссионная фотометрия пламени	37
Работа 1. Определение концентрации натрия и калия при совместном присутствии методом ограничивающих растворов	41
2.3. Пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия	44
Определение меди в природной воде	45
Глава 3. Молекулярная абсорбционная спектроскопия в УФ и видимой областях спектра (спектрофотометрия)	53
3.1. Общие положения	53
3.2. Анализ однокомпонентных систем фотометрическим методом	58
3.2.1. Общие указания к выполнению практических работ	58

3.2.2. Оптимизация условий фотометрических определений	59
<i>Работа 1.</i> Определение марганца(II) с формальдоксимом	61
<i>Работа 2.</i> Определение железа(III) с сульфосалициловой кислотой	62
<i>Работа 3.</i> Определение хрома(VI) с дифенилкарбазидом	64
Глава 4. Молекулярная люминесценция	67
4.1. Общие положения	67
4.2. Основные законы	69
4.3. Интенсивность люминесценции и концентрации люминофора	71
<i>Работа 1.</i> Проверка правила зеркальной симметрии спектров поглощения и флуоресценции рибофлавина	73
<i>Работа 2.</i> Флуориметрическое определение рибофлавина в инъекционных растворах	75
Глава 5. Электрохимические методы анализа. Потенциометрия	80
5.1. Общие положения	80
5.2. Прямая потенциометрия (ионометрия)	81
<i>Работа 1.</i> Определение pH раствора с использованием стеклянного электрода	83
<i>Работа 2.</i> Определение фторида в водах с использованием фторид-селективного электрода	86
<i>Работа 3.</i> Определение нитрата методом добавок	89
<i>Работа 4.</i> Определение активности ионов натрия	91
5.3. Потенциометрическое титрование	93
<i>Работа 5.</i> Определение соляной (уксусной) кислоты в растворе	98
<i>Работа 6.</i> Определение кобальта(II) в растворе	99
Глава 6. Хроматографические методы анализа	101
6.1. Введение	101
6.2. Основные понятия бумажной и тонкослойной хроматографии	102
<i>Работа 1.</i> Разделение и обнаружение катионов методом одномерной бумажной хроматографии	106
<i>Работа 2.</i> Разделение и идентификация аминокислот методами бумажной и тонкослойной хроматографии	109
Раздел III. Типовые задачи рубежных контрольных работ и домашние задания	113
Раздел IV. Рейтинговая оценка	118
Раздел V. Правила техники безопасности в химической лаборатории	119
Приложение	122