

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники
(ТУСУР)

Кафедра радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга
(РЭТЭМ)

И.А. Екимова

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Методические указания к лабораторному практикуму

Томск 2012

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования

ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ СИСТЕМ УПРАВЛЕНИЯ
И РАДИОЭЛЕКТРОНИКИ
(ТУСУР)

Кафедра радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга
(РЭТЭМ)

УТВЕРЖДАЮ
Зав. кафедрой РЭТЭМ, д.т.н.
_____ В.И. Туев
« ___ » _____ 2012 г.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Методические указания к лабораторному практикуму

Разработчик:
Доцент каф. РЭТЭМ, к.х.н.
_____ И.А. Екимова
« ___ » _____ 2012 г.

Екимова И.А.

Физико-химические методы в биологических исследованиях: методические указания к лабораторному практикуму / И.А. Екимова. – Томск: ТУСУР, 2012. – 26 с.

Содержит описания четырех лабораторных работ по основным разделам курса «Физико-химические методы в биологических исследованиях», правила работы и требования по технике безопасности в лаборатории, требования к оформлению отчетов. В описании работ содержатся необходимые теоретические аспекты и методика выполнения, контрольные вопросы. Ко всему циклу лабораторных работ прилагается общий список рекомендуемой литературы.

Указания предназначены для студентов, обучающихся по специальности «Экология»; а также преподавателям, студентам и аспирантам технических вузов.

© Екимова И.А., 2012

© Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники ТУСУР, 2012

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
1 Правила работы в лаборатории.....	6
1.1. Правила техники безопасности.....	6
1.2. Оказание первой помощи.....	7
2 Порядок оформления работ.....	8
3 Лабораторные работы (лабораторный практикум).....	9
3.1. Комплексонометрическое определение жесткости воды. Раздельное определение содержания кальция и магния.....	10
3.2. Лабораторная работа №2. Фотоколориметрическое определение содержания хрома методом сравнения.....	15
3.3. Лабораторная работа №3. Фотоколориметрическое определение железа методом калибровочного графика.....	17
3.4. Лабораторная работа №4. Ионметрическое определение содержания калия в водном растворе.....	22
Список литературы.....	26

Введение

Целью изучения дисциплины «Физико-химические методы в биологических исследованиях» является формирование способности понимать природу и сущность явлений и процессов в различных химических и физико-химических системах, лежащих в основе химических и физико-химических методов идентификации и определения веществ, необходимых для оптимального выбора метода, схемы анализа объектов окружающей среды.

Дисциплина нацелена на подготовку специалистов-экологов к:

- научно-исследовательской работе в профессиональной области, связанной с контролем различных объектов окружающей среды;
- проектно-конструкторской и надзорной работе в области мониторинга качества окружающей среды.

Основными задачами изучения «Физико-химические методы в биологических исследованиях» являются:

- изучение основ анализа биоэкологических систем с использованием структурно-функционального подхода;
- рассмотрение физико-химических методов воздействия на биоэкологические системы;
- изучение особенностей отклика биоэкологических объектов на физико-химические факторы.

В результате изучения дисциплины студент должен **ЗНАТЬ:**

- основные теоретические положения, лежащие в основе физико-химических (хроматографических, электрохимических, оптических) методов идентификации и определения веществ;
- специфичность аналитического сигнала и особенности его измерения в различных методах анализа;
- способы отбора проб для анализа природной среды и методами пробоподготовки, методы и приборы измерения параметров биосферы.

УМЕТЬ:

- выполнять качественный и количественный анализ некоторых промышленных и природных объектов на основе самостоятельного выбора схемы анализа и методики его проведения;
- определять предполагаемый источник выбросов и сбросов вредных веществ и процессов и оценивать уровень загрязнений;
- применять нормативно-правовые положения при организации инспекционной и аудиторской деятельности.

Студент должен **ВЛАДЕТЬ:**

- способами приготовления растворов заданной концентрации;
- приемами работы на различных аналитических установках и приборах, предназначенными для контроля параметров окружающей среды;
- способами измерения аналитического сигнала и расчета результатов анализа;
- методиками расчета метрологических характеристик результатов анализа.

1 Правила работы в лаборатории

Для успешного выполнения лабораторных работ каждый работающий в лаборатории обязан содержать свое место в чистоте и порядке; работать в лаборатории можно только в халатах. В лаборатории запрещается снимать и развешивать верхнюю одежду, громко разговаривать. Звуковые сигналы сотовых телефонов во время занятий должны быть отключены. Приступая к работе, необходимо ознакомиться с устройством приборов и аппаратов, их принципом действия, используя для этого методическое пособие, учебник и конспект лекций, знать свойства применяемых веществ и методы безопасной работы с ними. Можно пользоваться только реактивами, имеющими этикетки и стоящими на полке рабочего стола. Если реактива нет, необходимо обратиться к лаборанту. Излишек взятого реактива не возвращать в посуду, из которой он был взят, а перенести в специальную емкость. По окончании работы следует убрать свое рабочее место, выключить приборы, которые Вы использовали, сдать рабочее место лаборанту.

1.1. Правила техники безопасности

1. Запрещается пробовать на вкус химические вещества.
2. Щелочи, кислоты и другие ядовитые вещества необходимо набирать в пипетку только при помощи резиновой груши или шприца во избежание химических ожогов полости рта или отравления.
3. При взвешивании сыпучих веществ применять тарированные часовые стекла; химические вещества нельзя оставлять на весах.
4. При взбалтывании растворов в колбах или пробирках необходимо закрывать их пробкой.
5. При нагревании жидкостей пробирку следует держать отверстием в сторону от себя и соседей по работе.
6. Во избежание ожогов от брызг и выбросов не наклоняться над сосудом, в котором кипит или налита какая-либо жидкость.
7. При переносе сосудов с горячими жидкостями держать их обеими руками: одной поддерживать дно, другой - верхнюю часть; руки от ожога предохранять полотенцем, которым обертывают сосуд.
8. При работе с горячими и легковоспламеняющимися веществами (эфир, спирты, бензин и т.д.) нельзя нагревать их на открытом огне или сетке.
9. При определении запаха вещества не следует делать глубокого вдоха, а лишь движением руки направлять к себе воздух.
10. Концентрированию серную кислоту следует приливать в воду тонкой струей при непрерывном перемешивании.
11. Химические стаканы, колбы из обычного стекла нельзя нагревать на голом огне без асбестовой сетки. Категорически запрещается использовать посуду, имеющую трещины или отбитые края.
12. Использованную химическую посуду и приборы, содержащие

кислоты, щелочи и другие едкие вещества, нужно освобождать от остатков и тщательно мыть. Прежде чем слить в раковину, едкие вещества надо нейтрализовать.

13. При мытье химической посуды запрещается работать с хромовой смесью без резиновых перчаток и защитных очков, а также прорезиненного фартука.

14. Нельзя оставлять без присмотра работающие установки, включенные электронагревательные приборы, газовые горелки.

15. При обнаружении дефектов в приборах немедленно сообщать преподавателю, учащимся запрещается устранять неисправности.

16. Если разбит ртутный термометр или электрод, содержащий ртуть (о случившемся немедленно сообщить лаборанту), следует капли ртути собрать амальгамированными пластинками из белой жести или меди. После удаления капель ртути необходимо залить место ее разлива 20 %-ным раствором FeCl_3 .

17. Во избежание отравлений категорически запрещается принимать пищу в химических лабораториях.

18. Органические вещества, использованные в работе, нельзя выливать в канализацию. Их сливают в специальную емкость, имеющуюся в лаборатории.

19. Категорически запрещается выносить реактивы за пределы лаборатории.

1.2. Оказание первой помощи

1. При термических ожогах осторожно обнажить обожженный участок и закрыть сухой асептической повязкой. Обожженный участок нельзя как-либо очищать и мочить водой, этиловым спиртом, H_2O_2 или смазывать мазью.

2. При химических ожогах промыть обожженное место большим количеством проточной воды (10 – 15 мин), в случае кислых реагентов – раствором бикарбоната натрия (2 %-ным), а в случае щелочных – разбавленным раствором борной или уксусной кислот.

3. При порезах стеклом: а) промыть рану можно только в случае попадания в нее едких или ядовитых веществ, в остальных случаях, даже, если в рану попал песок, ржавчина и т. п., промывать ее водой нельзя; б) нельзя смазывать рану мазями; перед наложением повязки смазать настойкой иода участок вокруг раны; в) удалять из раны мелкие осколки стекла может только врач.

4. При отравлении химическими веществами немедленно вызвать врача и одновременно приступить к оказанию первой помощи – если яд попал внутрь – вызвать рвоту, дать противоядие.

В лаборатории должен быть список веществ, вызывающих отравления, и применяемые противоядия.

В лаборатории должна быть аптечка с набором медикаментов.

2 Порядок оформления работ

В процессе выполнения лабораторной работы студент должен наблюдать за ходом эксперимента, отмечая все его особенности: изменение цвета, тепловые эффекты, выделение газа и т.д. Результаты наблюдений записывают в лабораторный журнал, придерживаясь определенной последовательности:

- название лабораторной работы, дата выполнения;
- цель работы;
- краткая теория вопроса;
- результаты эксперимента;
- выводы по результатам работы.

Записи в лабораторном журнале производят чернилами.

Отчет оформляется в соответствии с требованиями ГОСТ ОС ТУСУР 6.1-97*. Пример оформления титульного листа приводится в приложении А.

Для оформления Отчета также необходимо ознакомиться со следующими стандартами:

ГОСТ 7.12-93 ССИБИД. Сокращение русских слов и словосочетаний в библиографическом описании произведений печати.

ГОСТ 7.32-91 ССИБИД. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 2.105-95 ЕСКД. Общие требования к текстовым документам.

3 Лабораторные работы (лабораторный практикум)

Лабораторные занятия по дисциплине «Физико-химические методы в биологических исследованиях» проводятся в специально оборудованных лабораториях с применением необходимых средств обучения: лабораторного оборудования, образцов для исследований, методических пособий, компьютерных средств обработки результатов измерений.

При выполнении лабораторных работ проводятся: подготовка оборудования и приборов к работе, изучение методики работы, воспроизведение изучаемого явления, измерение величин, определение соответствующих характеристик и показателей, обработка данных и их анализ, обобщение результатов.

В ходе проведения работ используются план работы и таблицы для записей наблюдений. При выполнении лабораторной работы студент ведет рабочие записи результатов измерений (испытаний), оформляет расчеты, анализирует полученные данные путем установления их соответствия нормам, сопоставления с известными в литературе данными, а также данными других студентов. Окончательные результаты оформляются в форме выводов к работе.

Полный парк лабораторных работ по дисциплине «Физико-химические методы в биологических исследованиях» на кафедре содержит порядка четырех работ, ко всем имеются методические указания, описанные в данном учебном издании.

3.1. Лабораторная работа № 1. Комплексометрическое определение жесткости воды. Раздельное определение содержания кальция и магния

Цель работы

1. Ознакомление с химической посудой, с основными этапами построения методики титриметрических определений, освоение приемов титрования, принципов расчетов результатов анализа и ошибки определения в титриметрии.

2. Ознакомление с приемами комплексометрического титрования, применяемыми для определения суммарного и раздельного содержания нескольких компонентов в анализируемом растворе на примере определения жесткости природной воды.

3. Определение общей жесткости природной воды, а также раздельного содержания кальция и магния

Теоретическая часть

Жесткость воды – это свойство природной воды, зависящее от присутствия в ней солей ряда двухвалентных металлов, прежде всего кальция и магния. При кипячении жесткая вода образует накипь за счет осаждения труднорастворимых солей кальция, магния и железа (II). В жесткой воде мыльная пена не образуется до тех пор, пока эти ионы не будут связаны в нерастворимый осадок. Жесткая вода не пригодна для питания паровых котлов, поскольку на их поверхности отлагается накипь, что приводит к уменьшению теплопроводности металла, и, как следствие, к перерасходу топлива и перегреву котлов. Жесткая вода не пригодна для использования в химической технологии, в текстильной промышленности при обработке тканей, а также для других технических целей.

Поэтому перед использованием воды, поступающей из различных природных источников для различных технологических процессов необходимо определить ее жесткость и на основании данных анализа выбрать комплекс мер последующей обработки воды.

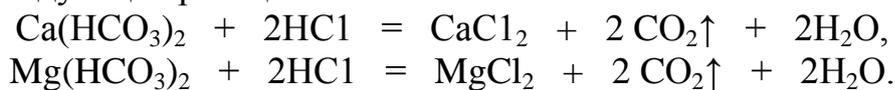
Различают жесткость: *временную (или устранимую)*, которую можно устранить кипячением воды, и *постоянную*, которая не устраняется кипячением. Сумма временной и постоянной жесткости составляет *общую жесткость*.

Временная жесткость обусловлена присутствием в воде гидрокарбонатов кальция и магния, и поэтому ее называют *карбонатной жесткостью*. Она почти полностью устраняется при кипячении в результате разложения гидрокарбонатов согласно уравнению:



Карбонатную жесткость можно определить методом кислотно-основного титрования с использованием рабочего раствора хлороводородной кислоты в

присутствии метилового оранжевого. При этом определении в растворе протекают следующие реакции:

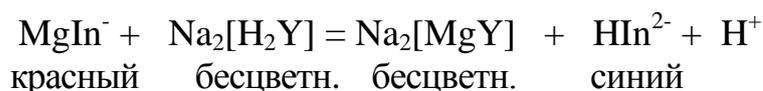
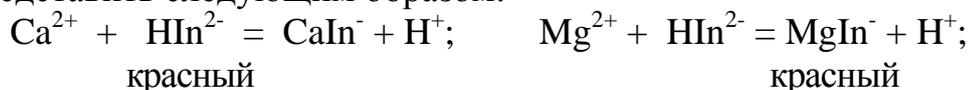


Постоянная жесткость, не устраняемая кипячением, вызвана присутствием в воде сульфатов (а также хлоридов) кальция и магния. Она называется также *некарбонатной жесткостью* воды.

Общая жесткость воды определяется суммой карбонатной и некарбонатной жесткости воды. Жесткость воды характеризуют молярной концентрацией эквивалентов кальция и магния и выражают в ммоль/л.

Общую жесткость воды, представляющую собой сумму карбонатной и некарбонатной жесткости воды, можно определить методом комплексонометрического титрования.

Константы устойчивости комплексов кальция и магния с ЭДТА близки по значению. Поэтому при титровании рабочим раствором ЭДТА они титруются совместно. Титрование проводят в присутствии аммонийной буферной смеси при pH=10. В качестве индикатора используют *эриохром черный Т*, образующий с ионами кальция и магния растворимые комплексы красного цвета. Поскольку значения констант устойчивости комплексов данных металлов с ЭДТА на порядок выше, чем с эриохромом черным Т, в процессе титрования комплексы с индикатором разрушаются и образуются более прочные комплексы ионов металлов с комплексоном III. Реакции, протекающие в растворе, схематически можно представить следующим образом:



В соответствии с этим в процессе титрования окраска раствора меняется от красной через фиолетовую в чисто синюю.

По результату титрования определяют общую жесткость, равную суммарному содержанию кальция и магния.

При необходимости определения каждого элемента в отдельности сначала определяют общую жесткость, то есть суммарное содержание обоих компонентов в присутствии индикатора эриохрома черного Т. Затем отдельно определяют содержание кальция, титруя его после осаждения магния действием гидроксида натрия с использованием мурексида в качестве индикатора. Содержание магния определяют по разности между результатами этих определений.

Экспериментальная часть

Выполнение работы включает следующие этапы:

1. Определение общей жесткости воды, то есть суммарного содержания кальция и магния титрованием стандартным раствором ЭДТА в присутствии аммонийной буферной смеси с использованием эриохрома черного Т в качестве индикатора.
2. Определение содержания кальция титрованием раствором ЭДТА после предварительного осаждения гидроксида магния действием гидроксида натрия; в качестве индикатора используется мурексид.
3. Определение содержания магния по разности между суммарным содержанием обоих ионов и содержанием кальция.

Определение общей жесткости воды.

Методика определения. В коническую колбу для титрования отмерить пипеткой 100 мл исследуемой воды, добавить 15 мл аммонийной буферной смеси и небольшое количество сухого индикатора до появления светло малиновой окраски. Титровать воду раствором комплексона III с концентрацией $c(1/2 \text{ ЭДТА}) = 0,05$ моль/л до перехода малиновой окраски через фиолетовую в чисто синюю. Повторить титрование 3–4 раза, результаты титрования записать в журнал по форме:

Таблица – Результаты титрования исследуемой воды раствором ЭДТА

Показания шкалы бюретки				
h_1	h_2	h_3	h_4	$h_{\text{ср}}$

Расчет общей жесткости воды. По усредненному значению показаний шкалы бюретки рассчитайте средний объем ЭДТА, необходимый для титрования 1 л исследуемой воды:

$$V(\text{ЭДТА}) = h_{\text{ср}} \cdot 1000 / V_{\text{п}}$$

Общую жесткость воды J (суммарное содержание кальция и магния на 1 л воды) рассчитайте по формуле:

$$J = c(1/2 \text{ ЭДТА}) \cdot V(\text{ЭДТА}), \text{ ммоль/л}$$

Эта величина представляет собой сумму ммоль эквивалентов кальция и магния $n(\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})$.

Определение содержания ионов кальция в анализируемой воде.

Методика определения. В коническую колбу для титрования отмерить пипеткой 100 мл анализируемой воды, добавить 5 мл раствора гидроксида натрия с концентрацией $c(\text{NaOH}) = 2$ моль/л, перемешать и внести небольшое количество сухого индикатора мурексида. Полученный мутный раствор титровать раствором ЭДТА с концентрацией $c(1/2 \text{ ЭДТА}) = 0,05$ моль/л до перехода розовой окраски в сине-фиолетовую. Повторить титрование 3–4 раза,

результаты титрования записать в рабочий журнал по форме:

Таблица – Результаты титрования кальция раствором ЭДТА

Показания шкалы бюретки				
h_1	h_2	h_3	h_4	h_{cp}

Расчет содержания кальция в анализируемой воде (число ммоль эквивалентов кальция на 1 л анализируемой воды).

По усредненному значению показаний шкалы бюретки рассчитайте средний объем ЭДТА, необходимый для определения кальция в 1 л исследуемой воды:

$$V(\text{ЭДТА}) = h_{cp} \cdot 1000 / V_n$$

Число ммоль эквивалентов кальция в 1 л анализируемой воды рассчитайте по формуле:

$$n(\text{Ca}^{2+}) = c(1/2 \text{ ЭДТА}) \cdot V(\text{ЭДТА}), \text{ ммоль/л}$$

Расчет содержания магния в анализируемой воде.

Содержание магния в ммоль/л вычисляют по разности:

$$n(\text{Mg}^{2+}) = n(\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}) - n(\text{Ca}^{2+})$$

Содержание отчета

Отчет о работе должен содержать:

1. Цель работы.
2. Краткое описание методики определения и уравнения химических реакций в схематической и структурной форме.
3. Результаты титрования и расчет общей жесткости исследуемой воды (ммоль/л).
4. Результаты титрования и расчет содержания кальция в исследуемой воде (ммоль/л).
5. Расчет содержания магния в исследуемой воде (ммоль/л).

Контрольные вопросы

1. Дайте определение жесткости воды.
2. Перечислите виды жесткости воды.
3. Поясните сущность комплексонометрического определения жесткости воды.
4. В чем заключаются основные моменты раздельное определение содержания кальция и магния?
5. Расскажите про методику расчета при титровании. Какие параметры при этом можно получить?
6. Какие результаты можно прогнозировать на основании полученных

экспериментальных данных в этой работе?

3.2. Лабораторная работа №2. Фотоколориметрическое определение содержания хрома методом сравнения

Цель работы

1. Ознакомление с определением содержания вещества методом сравнения;
2. Определение содержания хрома в исследуемом растворе.

Теоретическая часть

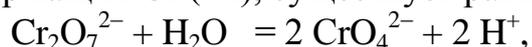
Метод сравнения используется для однократных определений. Величины абсорбционности (оптических плотностей) эталонных и исследуемых растворов измеряют при одной и той же длине волны и толщине поглощающего слоя. Обычно приготавливают два – три эталонных раствора с тем, чтобы можно было определить среднее значение концентрации исследуемого раствора. Концентрации исследуемого и стандартных растворов должны быть близки по величине, чтобы избежать больших ошибок в измерении оптических плотностей.

Расчет содержания хрома производится по формуле

$$C_x = (C_э / A_э)_{cp} \cdot A_x,$$

где $A_э$ и A_x – значения абсорбционности (оптических плотностей) эталонного и исследуемого растворов; $C_э$ и C_x – значения величин концентраций эталонного и исследуемого растворов.

Метод изучается на примере определения концентрации хрома, содержащегося в исследуемом растворе в виде дихромат-ионов $Cr_2O_7^{2-}$. Максимум поглощения этого иона наблюдается при 400–450 нм. Поскольку в водных растворах, содержащих Cr (VI), существует равновесие



определение проводится в кислой среде.

Краткое описание приборов.

Измерение оптической плотности производится на фотоэлектроколориметре. Прибор работает в области длин волн от 315 до 900 нм.

Подробные правила проведения измерений прилагаются к прибору.

Экспериментальная часть

1. Приготовление эталонных растворов и измерение их оптической плотности.
2. Определение хрома в исследуемом растворе.
Включить прибор для прогрева в течение 30 минут. За это время приготовить эталонные растворы.

1. Приготовление эталонных растворов и измерение их оптической плотности.

В три мерные колбы вместимостью 50 мл отмерить из полумикробюретки 2 мл, 3 мл и 4 мл эталонного раствора дихромата калия, каждый раз начиная от нуля. Прибавить в каждую колбу по 5 мл серной кислоты (1:1), довести до метки дистиллированной водой, тщательно перемешать. Колориметрировать в кювете с рабочей длиной 5 см. В качестве раствора сравнения использовать воду.

Измерив оптическую плотность трех эталонных растворов, рассчитать три отношения $C_э / A_э$ и сравнить их между собой. Экспериментальные данные и результаты расчетов занести в таблицу. Учитывая полученный интервал значений величин оптической плотности, по справочной таблице определить пределы допустимой относительной ошибки определения. Рассчитать среднее отношение $(C_э / A_э)_{ср}$.

Таблица – Результаты измерения оптической плотности эталонных растворов

Содержание хрома в эталонных растворах $C_э$, мкг			
Оптическая плотность эталонных растворов $A_э$			
Отношение $C_э / A_э \cdot 10^{-4}$			

2. Определение хрома в исследуемом растворе.

Рассчитав среднее отношение концентрации к абсорбционности для эталонных растворов, получить у преподавателя контрольный анализируемый раствор в мерную колбу той же вместимости, добавить к нему то же количество серной кислоты (1:1), довести до метки дистиллированной водой, перемешать и измерить оптическую плотность A_x в тех же условиях, в которых работали с эталонными растворами. Рассчитать содержание хрома в исследуемом растворе C_x , используя приведенную выше формулу.

Рассчитать абсолютную и относительную ошибку определения и сформулировать вывод о точности определения.

Контрольные вопросы

1. Поясните сущность фотоколориметрических методов анализа.
2. Расскажите про фотоколориметрическое определение содержания хрома методом сравнения.
3. Поясните методику расчета при использовании метода сравнения.

3.3. Лабораторная работа №3. Фотоколориметрическое определение железа методом калибровочного графика

Цель работы

1. Ознакомление с алгоритмом построения фотометрической методики с использованием метода калибровочного графика.
2. Фотоколориметрическое определение содержания железа в виде роданидного комплекса.

Теоретическая часть

Метод калибровочного графика используется при многократных серийных определениях. Для получения серии эталонных растворов с возрастающей концентрацией используют метод разбавления исходного первичного эталонного раствора, приготовленного из чистых металлов, солей, стандартных образцов.

Основные этапы работы включают:

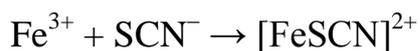
- выбор условий фотометрирования – светофильтра и толщины поглощающего слоя;
- построение калибровочного графика на основе результатов фотометрирования серии эталонных растворов;
- определение содержания элемента в исследуемом растворе по построенному графику.

Рассмотрим алгоритм этого метода на примере определения содержания железа роданидным методом.

Образование роданидного комплекса железа (III) является основой для высокочувствительного метода обнаружения и количественного метода определения этого элемента. Метод позволяет обнаружить даже следовые количества железа, поскольку значение молярного коэффициента поглощения комплекса очень велико. Образующийся комплекс является примером комплекса с переносом заряда. Поглощение фотона приводит к переходу электрона роданид-иона, обладающего электронодонорными свойствами, на орбиталь, в большой мере связанную с ионом железа (III), который служит акцептором электрона. В результате этого внутреннего окислительно-восстановительного процесса образуется вещество в возбужденном состоянии, содержащее преимущественно железо(II) и рода-нидный радикал SCN^- . Через короткое время электрон возвращается в исходное состояние.

Кроме роданидного комплекса к этому же типу комплексов с переносом заряда относятся фенольные комплексы железа (III), 1,10-фенантралиновый комплекс железа (II), иодидные комплексы молекулярного иода и ферро-, феррицианидный комплекс (берлинская лазурь). Все они характеризуются очень высоким коэффициентом поглощения в максимуме полосы поглощения.

Образование комплексов железа с роданид-ионами протекает по следующим схемам:



При концентрации избытка роданид-ионов $C(\text{SCN}^-) = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л в основном образуется комплекс $[\text{FeSCN}]^{2+}$; при $[\text{SCN}^-] = 1,2 \cdot 10^{-2}$ моль/л – комплекс $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]^{1+}$, при $[\text{SCN}^-] = 4 \cdot 10^{-2}$ моль/л – комплекс $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$. Тетра- и пентароданиды образуются при концентрации избытка роданид-ионов, равной 0,16 и 0,7 моль/л соответственно. Образующиеся комплексы имеют кроваво-красное окрашивание различной интенсивности.

В связи с невозможностью создать в растворе условия для образования одного комплекса, практически всегда приходится работать с раствором, содержащим одновременно целый ряд железороданидных комплексов, имеющих разные спектральные характеристики. Поэтому во избежание ошибок при определении железа роданидным методом всегда необходимо брать большой избыток реактива.

Определению мешают вещества, связывающие в комплекс ионы железа или ион роданида (хлориды, фториды, фосфаты, арсенаты, тартраты), восстановители, восстанавливающие железо до двухзарядного состояния, и окислители, разрушающие роданид-ион. Для предотвращения гидролиза солей железа и возможного при этом выпадения гидроксидов или основных солей железа необходимо подкислять раствор (лучше разбавленной азотной кислотой), так как при большой концентрации нитрат-ионов возможно окисление роданид-иона.

Для измерения оптической плотности растворов используется фотоколориметр.

Экспериментальная часть

Методика выполнения работы:

1. Выбор светофильтра.
2. Построение калибровочного графика.
3. Определение содержания железа в анализируемом растворе.

Включить фотоколориметр для прогрева в течение 30 минут. За это время ознакомиться с правилами работы на приборе и приготовить растворы для последующего выполнения первого этапа работы – выбора светофильтра.

1. Выбор светофильтра.

Максимальное изменение оптической плотности на единицу концентрации в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера наблюдается при длине волны, соответствующей максимальному значению коэффициента поглощения. Определить требуемую область длин волн можно из справочной литературы или экспериментально, измерив значения оптической плотности

поглощающего раствора при разных длинах волн. Максимум пропускания светофильтра совпадает с максимумом поглощения определяемого вещества. Поэтому наиболее подходящим для фотометрирования считается тот светофильтр, при использовании которого получено максимальное значение величины оптической плотности анализируемого раствора.

Измерение абсорбции эталонного раствора роданида железа необходимо проводить не по отношению к воде, а по отношению к смеси всех реактивов, кроме стандартного раствора. Эта необходимость вызвана высоким значением коэффициента поглощения образующегося роданидного комплекса.

Для приготовления эталонного раствора 1 в мерную колбу вместимостью 100 мл поместить 10 мл исходного эталонного раствора железо-аммонийных квасцов с титром по железу, равным 0,006968 г/мл. Добавить к раствору 10 мл азотной кислоты с концентрацией 4 моль/л и 10 мл раствора роданида калия с концентрацией $C(KSCN) = 6$ моль/л. Довести содержимое колбы до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать. Раствор сравнения следует готовить в такой же мерной колбе, вводя реактивы в той же последовательности, за исключением исходного эталонного раствора железоаммонийных квасцов.

Измерить оптическую плотность эталонного раствора 1 по отношению к раствору сравнения последовательно при всех светофильтрах, используя кюветы с рабочей длиной 10 мм. Полученные результаты измерений занести в таблицу, составленную по форме:

Таблица – Зависимость величины оптической плотности от длины волны

Максимум пропускания светофильтра, нм							
Значения оптической плотности							

На основе анализа полученных данных следует выбрать светофильтр и приступить к построению калибровочного графика.

2. Построение калибровочного графика.

В три пронумерованных мерных колбы вместимостью 100 мл отмерить 10, 20 и 30 мл исходного стандартного раствора железоаммонийных квасцов. Порядок приготовления эталонных растворов тот же, что и при выборе светофильтра. Раствор сравнения и кюветы те же.

Обратите внимание, что фотометрирование необходимо проводить сразу же после приготовления раствора, поскольку комплекс быстро разрушается. Поэтому растворы готовятся последовательно, только после окончания фотометрирования предыдущего раствора.

Каждый раствор готовится и фотометрируется трижды.

Мерные колбы необходимо очень тщательно мыть перед приготовлением каждого последующего раствора. Кюветы с анализируемым раствором перед

заполнением несколько раз ополаскивать этим раствором.

Кювета с раствором сравнения используется одна и та же на протяжении всей работы. Измерение оптической плотности производится со светофильтром, выбранным в первой части работы.

Результаты фотометрирования по мере измерения заносятся в таблицу.

Таблица – Оптическая плотность эталонных растворов

Объем исходного эталонного раствора $V_{\text{эт}}$, мл			
Значения величин оптической плотности $A_{\text{эт.1}}$			
$A_{\text{эт. 2}}$			
$A_{\text{эт. 3}}$			
$A_{\text{эт. ср}}$			

По полученным данным построить калибровочный график в координатах $A_{\text{эт}} - V_{\text{эт}}$. Масштаб графика должен соответствовать точности измерений.

3. Определение содержания железа в анализируемом растворе.

В мерную колбу вместимостью 100 мл получить у преподавателя исследуемый раствор, добавить в него 10 мл азотной кислоты с концентрацией $C(\text{HNO}_3) = 4$ моль/л, 10 мл раствора роданида калия, довести до метки дистиллированной водой, тщательно перемешать и измерить оптическую плотность раствора, используя тот же раствор сравнения и те же кюветы, что и при построении калибровочного графика.

Расчет содержания железа. Содержание железа в анализируемом растворе определяется по формуле

$$m(\text{Fe}) = T(\text{Fe}) \cdot V,$$

где $m(\text{Fe})$ – содержание железа в анализируемом растворе; $T(\text{Fe})$ – титр исходного стандартного раствора железоаммонийных квасцов; V – объем стандартного раствора, найденный по калибровочному графику в соответствии с измеренной величиной оптической плотности A_x .

Содержание отчета

Отчет должен содержать:

1. Оптическую схему фотоэлектроколориметра.
2. Данные измерений оптической плотности эталонного раствора для выбора светофильтра.
3. Данные измерений оптической плотности серии эталонных растворов для построения калибровочного графика и калибровочный график зависимости оптической плотности от объема эталонного раствора.
4. Результаты измерения оптической плотности анализируемого раствора и расчет содержания железа в этом растворе.

Контрольные вопросы

1. Поясните алгоритмом построения фотометрической методики с использованием метода калибровочного графика.
2. Расскажите сущность фотоколориметрического определения содержания железа в виде роданидного комплекса.
3. Какова связь оптической плотности с другими характеристиками водной пробы?
4. С какой целью необходимо готовить эталонные растворы?
5. Поясните оптическую схему фотоколориметра.

3.4. Лабораторная работа №4. Ионметрическое определение содержания калия в водном растворе

Цель работы

1. Ознакомление с методом прямой потенциометрии.
2. Ознакомление с приемами построения аналитической методики при работе с ионоселективными электродами.
3. Определение содержания калия в анализируемом растворе с помощью К-селективного электрода.

Теоретическая часть

Прямая потенциометрия основана на сравнении величины потенциала индикаторного электрода в растворе определяемого вещества с потенциалом этого же электрода, погруженного в стандартный раствор того же вещества.

Величина наблюдаемого потенциала ячейки $E_{\text{набл}}$ выражается через потенциал электрода сравнения $E_{\text{ср}}$, потенциал индикаторного электрода $E_{\text{инд}}$ и диффузионный потенциал E_j :

$$E_{\text{набл}} = E_{\text{ср}} - E_{\text{инд}} + E_j .$$

Потенциал индикаторного электрода связан с активностью определяемого иона a соотношением типа уравнения Нернста

$$E_{\text{инд}} = j + 0,059 / n \lg a .$$

Величина j для некоторых электродов является стандартным потенциалом индикаторного электрода, но для мембранных электродов это потенциал асимметрии, величина которого меняется во времени. Совместное решение этих двух уравнений приводит к выражению

$$pM = - \lg a = \frac{E_{\text{набл}} - (E_{\text{ср}} + E_j - j)}{0.059/n} = \frac{E_{\text{набл}} - K}{0.059/n} .$$

В полученном уравнении величина K включает в себя три величины, из которых, по крайней мере, одну, E_j , нельзя оценить теоретически. Поэтому для использования данного уравнения в прямой потенциометрии необходимо либо оценить экспериментально величину K , либо исключить ее влияние на результат анализа. С этой целью используются три приема: метод калибровки электрода, метод калибровочного графика и метод добавок.

Метод калибровки электрода основан на прямом использовании уравнения. Для определения значения величины K в этом уравнении измеряют значение величины $E_{\text{набл}}$ для одного или нескольких стандартных растворов с известным значением pM . Калибровку электрода и измерения анализируемого раствора проводят одновременно. Если измерения проводят в течение нескольких часов, то калибровку периодически повторяют. Этот метод прост, обладает высокой экспрессностью. Однако при этом найденная по уравнению

активность приравнивается искомой концентрации и результат определения будет всегда включать систематическую погрешность, обусловленную предположением, что значение K остается неизменным во всех последующих измерениях. Для однозарядных ионов в разбавленных растворах при небольшой ионной силе ошибка, вызываемая допущением об идентичности значений активности и концентрации, невелика. Но для растворов с высокой ионной силой и особенно для многозарядных ионов уменьшение коэффициента активности может привести к ошибке в несколько процентов при использовании этого допущения.

Метод калибровочного графика основан на построении эмпирической зависимости между величиной аналитического сигнала ионо-селективного электрода и концентрацией анализируемого раствора. Для устранения влияния состава электролита анализируемого образца на результат определения рекомендуется предварительное одинаковое разбавление и стандартных, и анализируемого растворов измеренным избытком инертного электролита высокой концентрации. В этом случае есть достаточные основания полагать, что ионная сила всех растворов одинакова и измеряемый сигнал дает информацию о концентрации определяемого иона $C(M)$:

$$E_{инд} = const + 0,059 / \lg C(M).$$

Метод добавок в прямой потенциометрии во многих случаях, а особенно при анализе растворов сложного состава, оказывается оптимальным. Он основан на измерении потенциала электродной системы до и после добавления небольшого объема стандартного раствора к известному объему исследуемого раствора. Предполагается, что введение добавки практически не изменит ионную силу раствора, а значит, и коэффициент активности определяемого иона. В ходе работы рекомендуется экспериментально проверить, что при десятикратном увеличении концентрации изменение аналитического сигнала электрода соответствует теоретической величине 0,059 В/п. Для этого к анализируемому раствору неизвестной концентрации последовательно добавляют две порции стандартного раствора в заданном пределе и измеряют потенциал электрода после каждой добавки.

Краткое описание прибора.

В работе могут быть использованы иономеры типа ЭВ-74, И-130 и ионоселективные электроды на калий отечественного и зарубежного производства. В данной работе рассматривается использование калиевого ионоселективного электрода типа ЭМ-К-01, в качестве вспомогательного – хлорсеребряный электрод, иономер.

Экспериментальная часть

Приготовление стандартных растворов нитрата калия.

Приготовить пять мерных колб вместимостью 100 мл. В первую колбу с

помощью пипетки поместить 10 мл исходного стандартного раствора хлорида калия с концентрацией $C(\text{KCl})=1$ моль/л . Довести содержимое колбы до метки дистиллированной водой, тщательно перемешать. Полученный раствор 1 имеет концентрацию $C(\text{K}^+) = 1 \cdot 10^{-1}$ моль/л .

Используя чистую пипетку, перенести 10 мл полученного раствора 1 в колбу 2, довести до метки дистиллированной водой, перемешать. Полученный раствор 2 имеет концентрацию $C(\text{K}^+) = 1 \cdot 10^{-2}$ моль/л .

Последовательным разбавлением получить еще три стандартных раствора хлорида калия с концентрациями $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$ и $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л по катиону калия.

Подготовка к работе иономера.

Ионоселективный калиевый электрод и хлорсеребряный электрод сравнения промыть дистиллированной водой погружением в несколько свежих порций, обмыть из промывалки и погрузить в стаканчик с водой. Подключить с помощью штучеров оба электрода в соответствующие гнезда на задней стенке прибора. Подключить температурный компенсатор (в автоматическом режиме).

Включить прибор в сеть. Оставить прибор для прогрева на 20 минут.

Калибровка калий-селективного электрода.

Начинать калибровку необходимо с наиболее разбавленного раствора 5, имеющего концентрацию $C(\text{K}^+) = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л . Для этого 25 мл раствора 5 перенести пипеткой в измерительный стаканчик прибора. Чистые электроды обсушить фильтровальной бумагой и опустить в анализируемый раствор. Затем провести калибровку электродов как указано в инструкции к иономеру.

Электроды обмыть погружением в дистиллированную воду, обсушить и провести измерения для раствора 4. Последовательно измерить рК для всех стандартных растворов.

По полученным данным построить на миллиметровой бумаге калибровочный график в координатах $C(\text{K}^+) - \text{pK}$.

Определение концентрации калия в анализируемом растворе.

Получить у преподавателя анализируемый раствор, перенести с помощью пипетки 20 мл этого раствора в стаканчик для измерения, опустить в него вымытые и обсушенные фильтром электроды. С помощью иономера определить значение рК этого раствора. Отключить иономер, электроды опустить в дистиллированную воду.

Найти по графику значение концентрации калия в анализируемом растворе.

Отчет должен содержать:

1. Принципиальную схему измерения ЭДС.
2. Данные измерений для построения калибровочного графика и сам график.
3. Данные по измерению рК в анализируемом растворе и результаты определения концентрации в анализируемом растворе.

Контрольные вопросы

1. Поясните сущность следующих методов: метод калибровки электрода, метод калибровочного графика и метод добавок.
2. На чем основана прямая потенциометрия?
3. Какие приемы используются для построения аналитической методики при работе с ионоселективными электродами?
4. Расскажите про методику определения содержания калия в анализируемом растворе с помощью К-селективного электрода.

Список литературы

1. Астафьева Л.С. Экологическая химия : учебник для среднего профессионального образования / Л. С. Астафьева. – М. : Academia, 2006. – 222 с.
2. Глинка Н.Л. Общая химия : Учебное пособие для вузов / Н. Л. Глинка ; ред. А. И. Ермаков. – М. : Интеграл-Пресс, 2005. – 727 с.
3. Горшков В.И. Основы физической химии : учебник для вузов / В. И. Горшков, И. А. Кузнецов. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – 407 с.
4. Дежникова Н.С. Экологический практикум: научный поиск, педагогический опыт, авторские проекты: учебное пособие / Н.С. Дежникова, И.В. Цветкова. – М.: Педагогическое общество России, 2001. – 94 с.
5. Коровин Н.В. Общая химия : Учебник для технических направлений и специальностей вузов / Н. В. Коровин. – М. : Высшая школа, 2006. – 556 с.
6. Мониторинг и методы контроля окружающей среды : учебное пособие. Ч. 2 : специальная / Ю.А. Афанасьев, С.А. Фомин, В.В. Меньшиков и др. – М. : МНЭПУ, 2001. – 334с.
7. Панин В.Ф. Экология для инженера : Общеэкологическая концепция биосферы и экономические рычаги преодоления глобального экологического кризиса : учебное пособие / В.Ф. Панин, А.И. Сечин, В.Д. Федосова. – М. : Ноосфера, 2000. – 284 с.
8. Практикум по аналитической химии под редакцией В.Д. Пономарева, Л. И. Ивановой. – Москва : Издательство «Высшая школа», 1983. – 251 с.
9. Попечителей Е.П. Аналитические исследования в медицине, биологии и экологии : учебное пособие для вузов / Е.П. Попечителей, О.Н. Старцева. – М. : Высшая школа, 2003. – 278 с.
10. Садовникова Л.К. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении : Учебное пособие для вузов / Л. К. Садовникова, Д. С. Орлов, И. Н. Лозановская. – М. : Высшая школа, 2006. – 333 с.
11. Чепурных Н.В. Планирование и прогнозирование природопользования : учебное пособие / Н.В. Чепурных, А.Л. Новоселов. – М. : Интерпракс, 1995. – 288с.