Міністерство освіти і науки України

Херсонський державний університет

Кафедра хімії

Речицький О.Н.

Методичні рекомендації до лабораторних занять з фізико-хімічних методів аналізу

Методичні рекомендації для студентів спеціальності 6.010103. ПМСО. Хімія. Аналітичний контроль навколишнього середовища та лікарських препаратів (заочної форми навчання), магістрантів спеціальності 8.010103. ПМСО. Хімія (денної та заочної форми навчання)

Херсон 2004

Речицький О.Н. Методичні рекомендації до лабораторних занять з фізико-хімічних методів аналізу для студентів спеціальності 6.010103. ПМСО. Хімія. Аналітичний контроль навколишнього середовища та лікарських препаратів (заочної форми навчання), магістрантів спеціальності 8.010103. ПМСО. Хімія (денної та заочної форми навчання). Херсон: Видавництво ХДУ, 2004. – 36 с.

Укладачі: Речицький О.Н. – кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімії ХДУ

Рецензенти: Івашина Г.О. – кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімії ХДУ

Шепель А.Ю. – кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімії ХДУ

Методичні рекомендації обговорено на засіданні науково-методичної ради Інституту природознавства (Протокол № 5 від 26. 01. 2004 року)

Схвалено науково-методичною радою Херсонського державного університету (Протокол № 3 від 11. 02. 2004 року)

Рекомендовано до видання Вченою радою Херсонського державного університету (Протокол № 6 від 1. 03. 2004 року)

Вступ

Лабораторний практикум з курсу “Фізико-хімічні методи аналізу” грунтується на знаннях студентів, одержаних в курсах аналітичної, органічної і фізичної хімії, складається з двох частин: теоретичної та практичної і передбачає, перед за все, формування навичок самостійної роботи хіміка-аналітика в науково-дослідній аналітичній чи біохімічній лабораторії, ознайомлення його з апаратурою, контрольно-вимірювальними приладами, необхідними реактивами, посудом.

Практикум складається з двох частин: теоретичної та практичної. Теоретична частина передбачає вивчення теоретичного матеріалу тем, відповідно лабораторним заняттям, в основному опрацьовується студентами самостійно. Практична частина включає лабораторні роботи, при виконанні яких студент ознайомлюється з апаратурою, технікою виконання аналізу. Особлива увага приділяється описанню техніки хімічного експерименту, розбору умов проведення реакцій, методикам визначення, правилам та способам розрахунків.

Перед виконанням лабораторної роботи студент опрацьовує рекомендовану літературу і складає відповідний пропис, який включає характеристику апаратури, приладів, методику виконання аналізу, хімізм процесу.

До виконання роботи студент допускається тільки після складання “допуску”, який передбачає знання всього вище перерахованого і особливо методики виконання аналізу.

Після виконання лабораторної роботи студент проводить розрахунки, складає звіт про виконану роботу. Виконані та оформлені роботи разом з відповідними теоретичними питаннями захищаються студентами перед викладачем.

Лабораторна робота № 1

Розділення суміші речовин за допомогою тонкошарової та колоночної хроматографії

Мета: Оволодіти методами тонкошарової та колоночної хроматографії, як одними з методів хроматографічного аналізу на прикладі розділення суміші органічних речовин.

Завдання:

1. Виготовити пластинки для тонкошарової хроматографії.

2. Підібрати розчинник для розділення суміші речовин.

3. Наповнити хроматографічну колонку.

4. Провести розділення суміші органічних речовин за допомогою колоночної хроматографії.

Питання для самостійної підготовки

1. Розглянути класифікацію хроматографічних методів аналізу.

2. Засвоїти суть хроматографії.

3. Засвоїти методику виготовлення пластинок для тонкошарової хроматографії та наповнення хроматографічних колонок адсорбентом.

Література

1. Крешков А.П. Основы аналитической химии. – М.:Химия, 1970. – т.3. – С. 275-295.

2. Чмутов К.В. Хроматография. – М.: Химия,1978. – 316 с.

3. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 212-230.

4. Практикум по физико-химическим методам анализа. /под ред. О.М. Петрухина. – М.: Химия, 1987. – С. 185-189.

5. Гранберг И.И. Практические работы и семинарские занятия по органической химии. –М.: Высшая школа, 1987. – С. 61-80, 95-98.

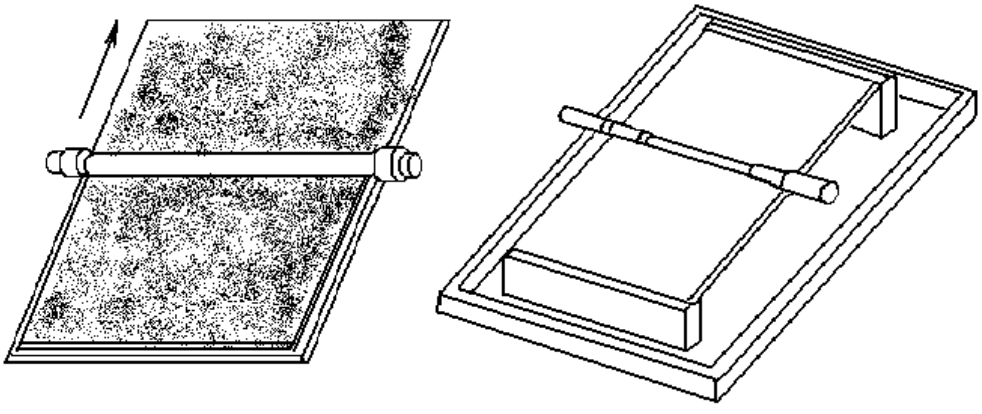
Обладнання та реактиви

Скляні пластини для тонкошарової хроматографії, станок для нанесення тонкого незакріпленого шару сорбенту, ексикатор, камери для хроматографування, пластинки “Silufol”, скляні капіляри, хроматографічні колонки, адсорбенти: алюміній оксид, силікагель, суміші барвників, суміші вуглеводів, розчинник (бутанол/ацетон/вода – 2:7:2), розчинник (бутанол/ацетон/вода – 4:5:1).

Хід роботи

І. Виготовлення пластинок для хроматографії

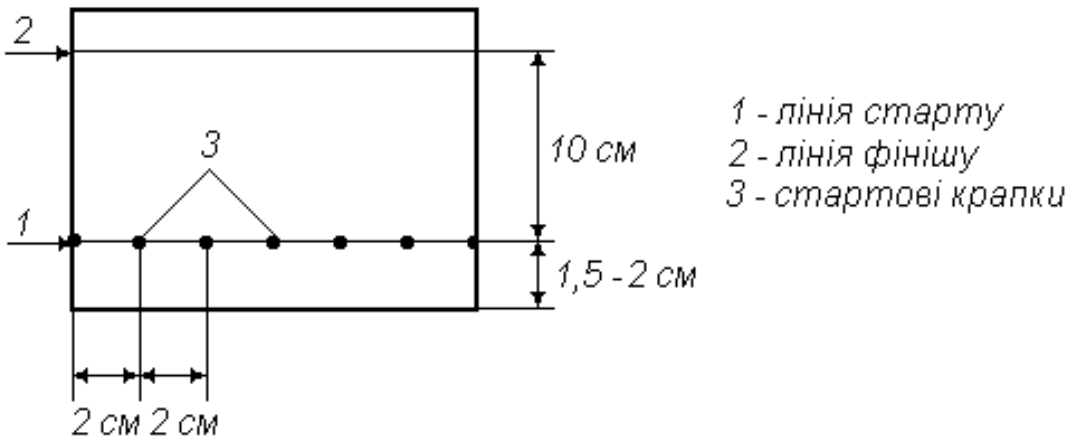
Вставити чисту, ретельно вимиту скляну пластину 13х18 см в станок (мал.1).



Мал.1. Станок для нанесення тонкого незакріпленого шару сорбенту.

Насипати на неї шар алюміній оксиду для хроматографії чи іншого сорбенту. Розрівняти шар за допомогою хроматографічного валику. Сорбент поглинає вологу повітря, тому його слід зберігати у банці з притертою пробкою.

На відстані 1,5-2 см від нижнього краю пластинки нанести лінію старту за допомогою гострого предмета (простий олівець), стартові крапки та лінію фінішу розчинника на відстані 10 см від лінії старту (мал.2) . Стартові крапки повинні знаходитися суворо на одній прямій на відстані 2 см одна від одної.



Мал.2. Підготовлена пластина до ТШХ.

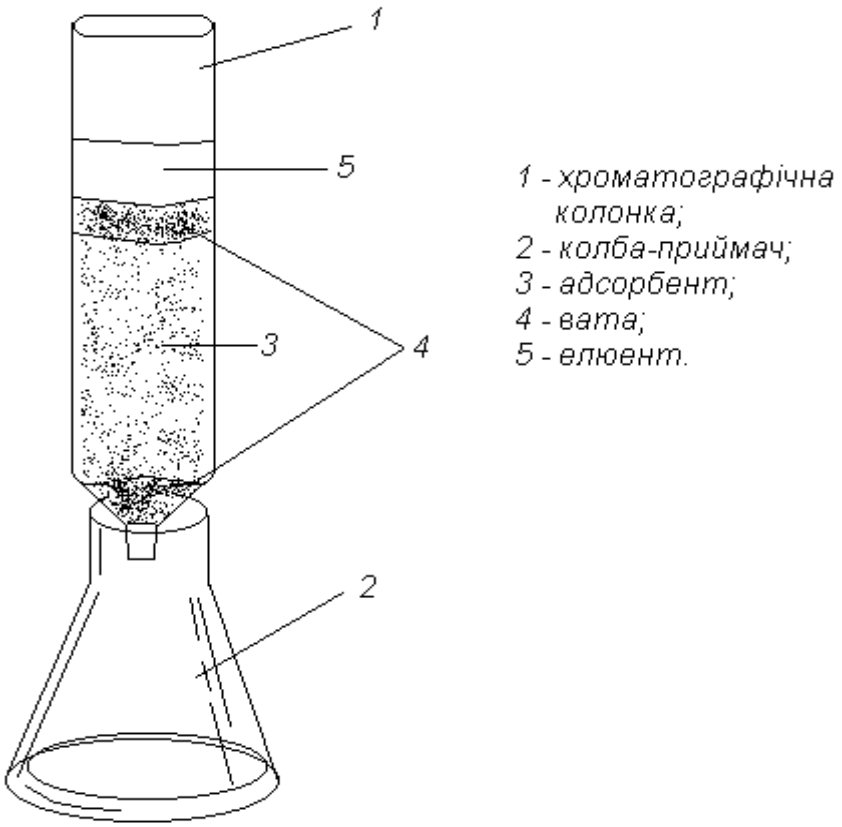
II. Підготовка пластинок “Silufol”

Сілуфольні пластинки – це пластинки з алюмінієвої фольги, на які в заводських умовах нанесений закріплений тонкий шар силікагелю. На відстані 1,0 см від нижнього краю пластинки олівцем нанести лінію старту та на відстані 1 см від лівого та правого країв і між собою нанести крапки старту. Лінію фінішу нанести на відстані 10 см від лінії старту.

III. Підготовка хроматографічної колонки до роботи

Для препаративного хроматографічного розділення використовують колонки з різними діаметрами та довжиною в залежності від кількості суміші, що розділяють. Звичайно для хроматографічного розділення суміші речовин на алюміній оксиді використовують скляні колонки діаметром 8-10 мм та довжиною 25-30 см.

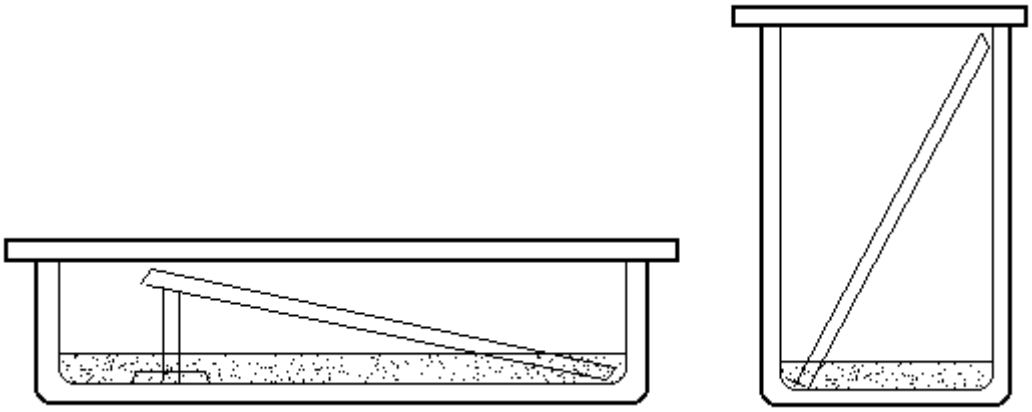
Перед роботою колонку ретельно вимити, висушити, примістити у нижню частину колонки тампон з вати та закріпити у штативі таким чином, щоб під нею можна було розташувати приємник – конічну колбу об'ємом 25-50 $см^3$. Алюміній оксид для наповнення колонки повинен бути марки "для хроматографії", ступень активності не нижче III. Для наповнення колонки адсорбентом по сухому методу у верхню частину колонки вставити лійку і всипати алюміній оксид невеликими порціями, безперервно постукуючи по ній шматком товстостінного вакуумного шлангу, щоб забезпечити рівномірне осадження адсорбенту. Коли алюміній оксид повністю осяде, у верхню частину колонки помістити шматочок вати. Маса адсорбенту повинна бути в 100-1000 разів більшою за масою суміші, що розділяють. Після заповнення колонки адсорбентом через шар алюміній оксиду пропустити підібраний для розділення суміші елюент. Розчинник повинен витікати з колонки зі швидкістю 30-40 крапель в хвилину і над шаром адсорбенту завжди повинен бути шар елюенту (мал.3).



Мал.3. Хроматографічна колонка.

IV. Розділення суміші на пластинках для ТШХ

На попередню підготовлену пластинку нанести окремими капілярами досліджувану суміш (суміш барвників чи вуглеводів) та зразки стандартних речовин (свідки). Діаметр плями не повинен перевищувати 3-5 мм. Хроматографічну пластинку помістити в хроматографічну камеру (мал.4). так, щоб нижній край пластинки був занурений у розчинник.



Мал.4 Хроматографічна камера з пластиною.

Після того, як фронт розчинника досягне лінії фінішу, вийняти пластинку з камери, висушити. Якщо пластинка з незакріпленим шаром адсорбенту і якщо плями безбарвні, то проявити хроматограму в парах йоду. Якщо пластинка з закріпленим шаром і якщо плями безбарвні, то хроматограму проявити в парах йоду або обприскуючи проявником (для вуглеводів – амоніачний розчин аргентум нітрату). Олівцем відмітити плями на хроматограмі, виміряти довжину пробігу плям (l) і визначити R_f :

$$R_f = \frac{l(плями)}{10}$$

Порівнюючи R_f плям суміші з R_f плям свідків визначити склад суміші барвників та вуглеводів.

V. Розділення суміші речовин на хроматографічній колонці

Після підготовки колонки до розділення, коли рівень розчинника в колонці знизиться до верхнього шматочка вати, в колонку внести виготовлений розчин суміші речовин, яку необхідно розділити. Як тільки рівень суміші, що розділяється, знизиться до верхнього шматочка вати, додавати порціями розчинник на протязі всього часу розділення. Необхідно пам'ятати, що під час роботи адсорбент завжди повинен бути покритий розчинником. Якщо речовини, що розділяються, забарвлені, то по мірі розділення суміші речовин в колонці з'являються забарвлені зони. Зібрати ці зони по мірі витікання з колонки в окремі колби. При розділенні безбарвних речовин результат розділення визначити, досліджуючи окремі фракції (об'єм 5-6 $см^3$) розчину, що витікають з колонки методом тонкошарової хроматографії. Фракції, що мають однаковий R_f, об'єднати, а перехідні фракції (що містять суміш речовин) відкинути чи об'єднати та знову пропустити через колонку.

Лабораторна робота № 2

Розділення амінокислот за допомогою розподільної хроматографії на папері

Мета: Оволодіти методами розподільної хроматографії , як одним з методів якісного аналізу на прикладі розділення суміші амінокислот паперовою хроматографією.

Завдання:

1. Засвоїти методику визначення якісного складу суміші речовин за допомогою паперової хроматографії.

2. Провести розділення суміші амінокислот хроматографією на папері.

3. Розрахувати R_f кожної плями і визначити склад контрольної суміші амінокислот.

Питання до самостійної підготовки

1.Вивчити теоретичні основи хроматографічних методів аналізу: класифікацію та суть кожного виду.

2. Розглянути техніку виконання різних видів паперової хроматографії.

3. Засвоїти методику визначення якісного складу амінокислот за допомогою паперової хроматографії.

Література

1. Крешков А.П. Основы аналитической химии. – М.:Химия, 1970.– т.3. – С. 275-295.

2. Чмутов К.В. Хроматография. – М.: Химия,1978. – 316 с.

3. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 212-230.

4. Практикум по физико-химическим методам анализа. /под ред. О.М. Петрухина. – М.: Химия, 1987. – С. 185-189, 212-223.

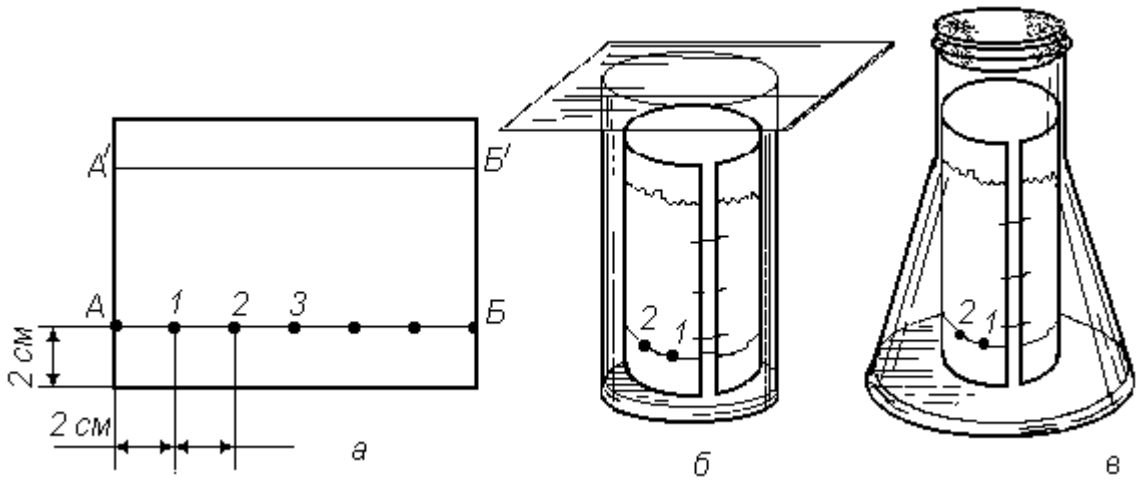
5. Гранберг И.И. Практические работы и семинарские занятия по органической химии. – М.: Высшая школа, 1987. – С. 61-80, 98-101.

Обладнання та реактиви

Прилад для виконання висхідних хроматограм, хроматографічний папір, набір амінокислот, суміш амінокислот, олівець, лінійка, скляні капіляри, суміші розчинників: а) н-бутанол- оцтова кислота- вода (4:1:5); б) ацетон- вода (3:2); в) н-бутанол- бензиловий спирт (1:1), розчин нінгідрину в ацетоні.

Хід роботи

На початку заняття одержати у викладача контрольну задачу - розчин суміші невідомих амінокислот, а у лаборанта - аркуш хроматографічного паперу, відрізаного по розміру циліндра і розкреслений , як вказано на мал.1.



Мал.1. Прилади для висхідної паперової хроматографії.

За допомогою лінійки провести на відстані 2 см від нижнього краю горизонтальну пряму АБ (лінія старту). Намалювати кільця діаметром 3 мм на відстані 2 см один від одного та проставити над ними порядкові номери. Від лінії старту на відстані 10 см провести пряму А'Б' (лінія фінішу).

Розчини амінокислот на папір нанести на окремому столі. Папір покласти на попередньо ретельно вимите скло. Під нижній край паперу підкласти скляну пластинку чи зошит так, щоб та частина паперу, де намальовані кільця, знаходилася в повітрі, не торкалась поверхні скла. Капілярами, що спеціально виготовлені для кожного розчину, на папір в кільця послідовно нанести краплі розчинів сумішей, що досліджуються та “свідків”. Капля, яку наносять не повинна поширюватися за межи намальованого кільця. Розчин на кожне кільце нанести 5-6 разів після висихання попередній краплі.

Після висихання нанесених крапель ретельно вимити руки з милом, звернути папір у циліндр та зшити аркуш через край так, щоб одержати більш

чи менш правильний циліндр. Особливу увагу звернути на то, щоб при зшиванні крапки А та Б співпали. На дно скляного циліндра (обережно, не змочити стінки) налити суміш н-бутанолу, оцтової кислоти, води (4:1:5). Висота шару розчинника не повинна бути вище 1 см від дна циліндра.

Паперовий циліндр обережно вставити вертикально в скляний циліндр так, щоб він не торкався стінок і щоб нанесені краплі знаходились на нижньому кінці паперового циліндра.

Скляний циліндр щільно зачинити кришкою з гумовою прокладкою і залишити стояти до тих пір, доки розчинник підніметься до лінії фінішу. Тоді обережно вийняти паперовий циліндр, розрізати шов, розпрямити папір та висушити його під тягою чи в сушильній шафі (70-80^{o}C).

Коли розчинник повністю випариться, хроматограму проявити. Як проявник для α-амінокислот використовувати розчин нінгідрину (ω(нінгідрину)=0,5%) в ацетоні. Цим розчином оприснути хроматограму декілька разів з пульверизатора так, щоб папір становився тільки слабо вологий та на ньому не утворювались би розмиваючі струмені розчину. Потім висушити папір на повітрі та прогріти у сушильній шафі при 110^{o}C до появи лілових плям. Значно краще висушити хроматограму поступово у темряві. Плями, що проявилися, легко обвести олівцем та при бажанні закріпити розчином нікол сульфату, після чого ще раз просушити хроматограму на повітрі.

Якісний склад контрольній суміші амінокислот визначити по значенню R_f кожної плями, порівнюючи з R_f, що обчислені по хроматограмі для “свідків”.

Значення R_f амінокислот цій системі: гліцин 0,13; аланін 0,18; валін 0,36; фенілаланін 0,46.

В цьому варіанті задачу можливо виконати і для інших амінокислот, а також для простіших вуглеводів. При хроматографуванні вуглеводів їх проявляють амоніачним розчином аргентум нітрата (чорна пляма).

Лабораторна робота № 3

Флюорометричне визначення вмісту вітаміну B_2 в природних матеріалах

Мета: Оволодіти методом флюорометрії, як одним з спектральних методів аналізу на прикладі визначення вмісту вітаміну B_2 в біологічних об'єктах.

Завдання:

1. Засвоїти методику визначення та розрахунків вмісту вітаміну B_2 в природних матеріалах.

2. Приготувати профільтровану витяжку з рослинного матеріалу.

3. Провести аналіз та розрахувати вміст рибофлавіну.

Питання для самостійної підготовки

1. Засвоїти форми існування вітаміну B_2 в рослинах.

2. Розглянути вплив різних факторів на вміст вітаміну B_2.

3. Розглянути методи визначення вмісту вітаміну B_2 в рослинних об'єктах.

4. Вивчити будову флюориметра та правила роботи з ним, характеристики і закономірності люмінесценції.

5. Засвоїти суть флюорометричного визначення вмісту рибофлавіну.

Література

1.Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия.Физико-химические методы анализа. – М.:Высшая школа,1991. – С. 80-90.

2. Практикум по физико-химическим методам анализа. /Под ред. О.М.Петрухина. – М.:Химия,1987. – С. 94-101.

3. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А.Практикум по общей биохимии. – М.:Просвещение,1975. – С. 204-207.

Обладнання та реактиви

Флюорометр з кюветами, зтрушувач, ступка фарфорова, ділильна лійка об'ємом 50 $см^3$, піпетки об'ємом 1; 2 та 10 $см^3$, калібровані пробірки об'ємом 10 $см^3$, профільтрована витяжка з рослинного матеріалу після інкубації з препаратом фосфатази, розчин калій перманганату ($\omega(KMnO_4)$=4%), розчин дигідроген пероксиду ($\omega(H_2O_2)$=3%), натрій дитіоніт кристалогідрат, розчин натрій гідрокарбонату ($\omega(Na_2CO_3)$=2%), розчин рибофлавіну (10 мг рибофлавіну розчинити в 250 $см^3$ води, насиченій толуеном і яка містить декілька крапель оцтової кислоти), робочий розчин рибофлавіну, що виготовлений розведенням стандартного розчину в 100 разів (С(рибофлавіну)=0,4 мкг/$см^3$).

Хід роботи

I. Виготовлення профільтрованої витяжки з рослинного матеріалу 5-10 г гречки (чи іншого рослинного матеріалу) ретельно розтерти в фарфоровій

ступці з 10-15 см^3 розчину сульфатної кислоти ($C(^1/_2H_2SO_4)$=0,1 моль/дм^3). Сульфатну кислоту додавати невеликими порціями. Розтертий матеріал кількісно перенести в мірну колбу об'ємом 100 см^3 і довести об'єм суміші до 75 см^3 розчином сульфатної кислоти ($C(^1/_2H_2SO_4)$= 0,1 моль/дм^3). Вміст колби нагрівати на протязі 45 хв. на киплячій водяній бані при постійному перемішуванні. Після охолодження в колбу додати декілька крапель толуену та 5 см^3 розчину натрій ацетату ($C(CH_3COONa)$= 2,5 моль/дм^3), який містить ферментний препарат фосфатазу (pH= 4-4,5). Колбу витримати 2 год. в термостаті при 40-45^{o}C . Після охолодження вміст колби перенести у мірну колбу об'ємом 100 см^3, довести до мітки, добре перемішати та відфільтрувати.

II. Визначення вмісту вітаміну B_2

Налити в одну з каліброваних пробірок 8 см^3 профільтрованої витяжки, в іншу – 1 см^3 стандартного робочого розчину рибофлавіну та 7 см^3 води. Далі по краплям в обидві пробірки додати однакові кількості розчину калій перманганату ($\omega(KMnO_4)$=4%) до виникнення слабо-рожевого забарвлення (звичайно не більш 1см^3). Через 10 хв. в обидві пробірки додати також по краплям розчин дигідроген пероксиду ($\omega(H_2O_2)$=3%) для зруйнування надлишку перманганату (2-5 крапель).

Об'єми одержаних розчинів довести дистильованою водою до 10 см^3 і потім виміряти флюоресценцію.

По закінченні флюорометрування в обидві пробірки додати по 20 мг натрій дитіоніту (на кінчику шпателя), по 0,2 см^3 робочого розчину

станум (II) хлориду та 0,1 $см^3$ розчину натрій тіосульфату для гасіння флюоресценції B_2 і виміряти флюоресценцію домішок.

Розрахунки вмісту вітаміну B_2 зробити за формулою:

$$C(B_2) = \frac{(J_1 - J_1^{/}) \cdot 0{,}4 \cdot V \cdot V_1}{(J_0 - J_0^{/}) \cdot V_2 \cdot m}$$, де

$C(B_2)$ – вміст рибофлавіну в 1 г досліджуваного матеріалу, мкг;

J_1 – показання флюорометра для досліджуваного розчину;

$J_1^{/}$ – показання флюорометра для досліджуваного розчину після гасіння флюоресценції рибофлавіну;

J_0 – показання флюорометра для стандартного розчину рибофлавіну;

$J_0^{/}$ – показання флюорометра для стандартного розчину рибофлавіну після гасіння флюоресценції;

0,4 – вміст вітаміну в 1 $см^3$ стандартного розчину, мкг;

V – об'єм екстракту перед вимірюванням флюоресценції (10 $см^3$), $см^3$;

V_1 – об'єм всієї витяжки (100 $см^3$), $см^3$;

V_2 – об'єм витяжки, що був узятий для аналізу (8 $см^3$), $см^3$;

m – маса рослинного матеріалу, що була узята для виготовлення витяжки, г.

Лабораторна робота № 4

Дослідження вмісту вітаміну С в природних об'єктах

Мета : Дослідити вміст вітаміну С в природних об'єктах і прослідкувати залежність вмісту аскорбінової кислоти в залежності від умов вирощування та зберігання.

Завдання :

1. Побудувати калібрувальний графік.

2. Провести екстрагування аскорбінової кислоти з природного об'єкту.

3. Фотоколориметрично визначити концентрацію вітаміну С в екстракті.

4. Розрахувати вміст вітаміну С в різних біологічних об'єктах.

Питання для самостійної підготовки

1. Засвоїти форми існування вітаміну С в рослинах.

2. Розглянути вплив різних факторів на вміст вітаміну С.

3. Розглянути методи визначення вмісту вітаміну С в рослинних об'єктах.

4. З курсу аналітичної хімії згадати будову фотоколориметра КФК-2, та правила роботи з ним, закони світлопоглинання.

5. Засвоїти суть фотоколориметричного методу визначення вмісту вітаміну С.

Література

1. Крешков А..П.. Основы аналитической химии. – М.: Химия, 1970. – т. 3. – С. 244-259.

2. Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура. – М.: Химия, 1968. – 387 с.

3. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа – М.: Высшая школа, 1991. – С. 15-72.

4. Физико-химические методы анализа/ Под ред. В.Б.Алесковского и К.Б. Яцимирского. – Л.: Химия, 1971. – С. 55-131.

5. Филипович Ю.Б., Егорова Т.А.; Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение,1975. – С. 209-213.

Обладнання та реактиви

Фотоколориметр КФК-2, кювети l = 10 мм, мірні колби об'ємом 25 $см^3$ та 100 $см^3$, ступка з пестиком, лійка, розчин реактиву Фоліна, стандартний розчин аскорбінової кислоти (С (1/2 АК) = 0,00125 моль/$дм^3$), дистильована вода.

Хід роботи

І. Побудова калібрувального графіку

У колби об'ємом 25 $см^3$ відібрати 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 $см^3$ стандартного розчину аскорбінової кислоти (С(1/2АК)=0,00125 моль/$дм^3$), додати по 12,5 $см^3$ розчину реактива Фоліна і довести до мітки дистильованою водою. Колби нагрівати на водяній бані протягом 10 хвилин. Розчини охолодити і виміряти оптичну густину при довжині хвилі 670 нм, чутливість 2.

Розрахувати вміст аскорбінової кислоти за формулою:

$$C(АК) = \frac{V_{ал.} \cdot C_{СТ.}(1/2\ АК) \cdot M(1/2\ АК)}{V_{м.к.}}$$, де

$C_{ст.}$ ($^1/_2$ АК) – молярна концентрація еквіваленту стандартного розчину аскорбінової кислоти, моль/дм^3;

$V_{ал.}$ – об'єм розчину аскорбінової кислоти, взятий для побудови калібрувального графіка, см^3;

$V_{м.к.}$ – об'єм мірної колби, 25 см^3;

М ($^1/_2$АК) – молярна маса еквіваленту аскорбінової кислоти, г/моль.

Результати занести в таблицю для побудови калібрувального графіка :

Vал., см^3	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	2	3	4
С (АК), мг/см^3									
D									

II. Приготування екстракту з рослинного об'єкту

Взяти наважку 10 г рослинного об'єкту і ретельно розтерти з кварцовим піском у ступці, додаючи 50 см^3 розчину НС1 (ω (НС1) = 2%). Суміш кількісно перенести у колбу об'ємом 100 см^3 і довести до риски дистильованою водою, добре перемішати і відфільтрувати через складчастий фільтр. Отриманий екстракт повинен бути прозорим.

III. Визначення вмісту вітаміну С в рослинному об'єкті

Відібрати аліквоту екстракту об'ємом 10 $см^3$, перенести у мірну колбу об'ємом 25 $см^3$, додати 12,5 $см^3$ реактива Фоліна і довести до мітки дистильованою водою. Колбу нагрівати на водяній бані протягом 10 хвилин. Розчин охолодити і виміряти оптичну густину при λ = 670 нм, чутливості 2. Концентрацію вітаміну С визначити за калібрувальним графіком. Вміст вітаміну С в об'єкті розрахувати за формулою :

$$C(вім.C) = \frac{Cк(вім.C) \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot 1000 \cdot 10}$$, де

$C_к$(віт. С) – концентрація вітаміну С, визначена за калібрувальним графіком, мг/$дм^3$;

V_1 – об'єм мірної колби, 25 $см^3$;

V_2 – об'єм мірної колби, 100 $см^3$;

100 – маса об'єкта, г;

10 – об'єм аліквоти екстракту, $см^3$;

m – наважка природного об'єкта, г.

Всі дані звести у загальну таблицю "Вміст вітаміну С у рослинних об'єктах":

Природний об'єкт	Частина природ-ного об'єкту	Концентрація вітаміну С, мг/$см^3$	Вміст вітаміну С, мг/100 г

Зробити узагальнюючий висновок про вміст вітаміну С у природних об'єктах та вплив екологічних факторів на його вміст.

Лабораторна робота № 5

Хроматографічне розділення та фотоколориметричне визначення вмісту барвників в суміші

Мета: Оволодіти методами колоночної хроматографії та фотоколориметрії, як одними із основних фізико-хімічних методів аналізу, на прикладі розділення та визначення вмісту барвників в суміші.

Завдання:

1. За допомогою колоночної хроматографії розділити суміш органічних барвників.

2. Підібрати світлофільтри та побудувати калібрувальні графіки для відповідних органічних барвників.

3. Фотоколориметрично визначити концентрацію органічних барвників у виділених розчинах.

4. Розрахувати вміст органічних барвників в суміші.

Питання до самостійної підготовки

1. Вивчити теоретичні основи хроматографічних методів аналізу:

а) класифікація методів;

б) суть кожного метода.

2. Розглянути апаратуру, що використовується в різких методах хроматографії.

3.Вивчити теоретичні основи молекулярно-абсорбційного спектрального аналізу.

4. Розглянути прилади, що використовуються в фотоколориметрчному аналізі.

5. Розглянути будову фотоколориметра КФК-2.

Література

1. Крешков А. П. Основы аналитической химии. – М.: Химия, 1970. – т. 3. – С. 244-259, 275-295.

2. Айвазов Б. В. Введение в хроматографию. – М.: Высшая школа, 1983. – 235 с.

3. Бабко А. К., Пилипенко А. Т. Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура. – М.: Химия, 1968. – 387 с.

4. Чмутов К. В. Хроматография. – М.: Химия, 1978. – 316 с.

5.Булатов М. И., Калинкин И. П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. – Ленинградское отделение: Химия, 1972. – 408 с.

6.Гранберг И.И. Практические работы и семинарские занятия по органической химии. – М.: Высшая школа,1987. – С. 61-80, 97-98.

Обладнання та реактиви

Хроматографічні колонки, фотоелектроколориметр КФК-2, кювети l=10 мм, пробірки об'ємом 5 $см^3$, воронки, колби мірні об'ємом 25 $см^3$, піпетки, вата, силікагель, Al_2O_3, дистильована вода, стандартні розчини барвників, розчини сумішей барвників.

Хід роботи

I. Знайомство з апаратурою

Ознайомитися з приладами, що використовуються в колоночній хроматографії, способами заповнення колонки: мокрий, сухий.

Ознайомитися з правилами роботи на фотоелектроколориметрі, підбору світлофільтрів, методами визначення оптичної густини, побудовою калібрувального графіку.

II. Хроматографічне розділення суміші барвників

Одержати певну суміш барвників:

або а) метиленовий оранжевий та індигокармін;

або б) метиленовий оранжевий та легкозмизний червоний;

або в) метиленовий оранжевий та хромовий темно-синій;

та певний адсорбент: алюмінію оксид, силікагель.

На дно хроматографічні колонки вмістити шматочок вати, наповнити її відповідним адсорбентом шаром 3 або 5 см, уплотнити його, зверху вмістити шматок вати. Шар адсорбенту пропитати дистильованою водою. Після повного вбирання, на мокру вату піпеткою вмістити 0,4 $см^3$ виданої суміші. Після повного вбирання, додати обережно 0,5 $см^3$ дистильованої води. В подальшій роботі над шаром адсорбенту повинна бути вода. Через деякий час суміш розшарується на дві зони. Коли перша зона підійде до кінця хроматографічної колонки, її зібрати в пробірку. Аналогічно зібрати другу зону. Якщо при

хроматографуванні утворюється перехідна зона, її зібрати в окрему пробірку і не фотоколориметрувати.

Зібрані барвники перенести кількісно в мірні колби об'ємом 25 см^3, дистильованою водою об'єм довести до риски. За допомогою фотоелект-роколориметра визначити оптичну густину кожного розчину барвника. По калібрувальному графіку знайти вміст барвників і за формулою розрахувати вміст барвників у виданій суміші.

III. Побудова калібрувального графіку для барвників

В мірні колби об'ємом 25 см^3 піпеткою відібрати стандартний розчин відповідного барвника об'ємами 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1; 1,5; 2 см^3. Об'єми колб довести до риски дистильованою водою, перемішати. Вміст кожного розчину розрахувати за формулою:

$$C = \frac{C_{CT.} \cdot V_{ал.}}{V_{м.к.}}$$, де

C – вміст барвника, мг/см^3;

$V_{ал.}$ – об'єм аліквоти, см^3;

$C_{ст.}$ – вміст барвника у стандартному розчині барвника, мг/см^3;

$V_{м.к.}$ – об'єм мірної колби, см^3;

На фотоелектроколориметрі за допомогою розчину середньої концентрації знайти довжину хвилі на якій є максимум світлопоглинання. За допомогою підібраного світлофільтра провести визначення оптичної густини

кожного розчину, заповнити приведену таблицю та побудувати графік залежності оптична густина/ вміст (D/C, мг/см^3).

N п/п	1	2	3	4	5	6	7
V ал., см^3							
C, мг/см^3							
D							

IV. Розрахунок вмісту барвників у виданому розчині

Розрахувати вміст кожного барвника в суміші за формулою:

$$C_1 = \frac{C_{к.г.} \cdot V_{м.к.}}{V_{ал.}}$$, де

C_1 – вміст барвника у виданій суміші,мг/см^3;

$C_{к.г.}$ – вміст барвника , що знайдений за калібрувальним графіком, мг/см^3;

$V_{м.к.}$ – об'єм мірної колби, 25 см^3;

$V_{ал.}$ – об'єм взятої проби для аналізу, см^3.

V. Визначення абсолютної та відносної помилки

$$\Delta C = C_{теор.} - C_{пр.}, \text{ де}$$

ΔC – абсолютна помилка;

$C_{теор.}$ – дійсний результат;

$C_{пр.}$ – експериментально визначений вміст.

$$\delta = \frac{\Delta C}{C_{\text{теор.}}} \cdot 100\%$$, де

δ- відносна помилка.

Результати визначень та розрахунків звести у єдину таблицю, за отриманими даними побудувати гістограми, що відображають ефективність проведення хроматографічного розділення та фотоколориметричного визначення вмісту барвників у суміші.

Суміш		Вміст барвників, що визначений фотометрично, ($мг/см^3$)	Коефіцієнти (a;b) калібрувального графіка	Адсорбент		Абсолютна помилка (Δ)	Відносна помилка (δ)
Якісний склад	Вміст барвників, ($мг/см^3$)			Тип	Кількість		

Зробити необхідні висновки.

Лабораторна робота № 6

Турбодиметричне визначення вмісту сульфатів у воді

Мета: оволодіти методом турбодиметрії, як одним з спектральних методів аналізу на прикладі визначення вмісту сульфатів в стічних чи природних водах.

Завдання:

1. Засвоїти методику визначення та розрахунків вмісту сульфатів у воді.
2. Підібрати світлофільтр та побудувати калібрувальний графік.
3. Провести аналіз та розрахувати вміст сульфатів у воді.

Питання до самостійної підготовки

1. Вивчити теоретичні основи молекулярно-абсорбційного спектрального аналізу.
2. Розглянути будову фотоколориметра КФК-2, що використовується в турбодиметричному методі.
3. Розглянути методику визначення вмісту сульфатів у воді турбодиметричним методом.

Література

1. Крешков А.П. Основы аналитической химии. – М.: Химия, 1970. – т. 3. – С. 244-259, 270-273.
2. Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура. – М.: Химия, 1968. – 387 с.

3. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 35-72.
4. Практикум по физико-химическим методам анализа /под ред. О.М. Петрухина/. – М.: Химия, 1987. – С. 87-92.
5. Физико-химические методы анализа /под ред. В.Б. Алисковского и К.Б. Яцимирского/. – Л.: Химия, 1971. – С. 55-89, 135-140.

Обладнання та реактиви

Фотоелектроколориметр КФК-2 з кюветами *l*=50 мм, розчин барій хлориду ($\omega(BaCl_2 \cdot H_2O)$=10%), розчин електроліту NaCl+HCl (240 г NaCl+20,5 $см^3$ HCl (густина=1,17 $г/см^3$) в 1000 $см^3$ розчину), стандартний розчин натрій сульфату ($C(Na_2SO_4)$=0,2 $мг/см^3$, 0,8872 г прожареного Na_2SO_4 розчиняють в 1000 $см^3$ розчину), робочий розчин натрій сульфату ($C(Na_2SO_4)$=10 $мкг/дм^3$), мірні колби об’ємом 100 $см^3$, піпетки.

Хід роботи

І. Знайомство з апаратурою

Ознайомитися з правилами роботи на фотоелектроколориметрі, підбору світлофільтрів, методами визначення оптичної густини, побудовою калібрувального графіку.

II. Побудова калібрувального графіка

В мірні колби ємкістю 100 $см^3$ внести 2, 4, 8, 12, 20 $см^3$ робочого розчину натрій сульфату, що відповідає 20, 40, 80, 120, 200 мкг Na_2SO_4 . В кожну колбу додати по 20 $см^3$ розчину електроліту і відповідно 38, 36, 32, 28, 20 $см^3$ дистильованої води, перемішати круговим обертанням колби. Потім прилити 15 $см^3$ розчину барій хлориду, перемішати, довести об'єм розчину до мітки і знову ретельно перемішати. Через 5 хвилин виміряти оптичну густину стандартних розчинів по відношенню до розчину порівняння в порядку зниження концентрації з синім світлофільтром.

Вміст SO_4^{2-} -іонів в кожному розчині розрахувати за формулою:

$$C(SO_4^{2-}) = \frac{C_{роб.} \cdot V_{ал.} \cdot M(\frac{1}{2} SO_4^{2-})}{V_{м.к.} \cdot M(\frac{1}{2} Na_2SO_4)}$$, де

C (SO_4^{2-}) – вміст сульфат-іонів в мірних колбах, мг/$см^3$;

$C_{роб.}$ – вміст Na_2SO_4 в робочому розчині, мг/$см^3$;

$V_{ал.}$ – об'єм аліквоти, $см^3$;

$V_{м.к.}$ – об'єм мірної колби, $см^3$;

M ($^1/_2SO_4^{2-}$) – молярна маса еквіваленту сульфат-іонів, г/моль;

M ($^1/_2Na_2SO_4$) – молярна маса еквіваленту натрій сульфату, г/моль.

На фотоелектроколориметрі за допомогою розчину середньої концентрації знайти довжину хвилі при якій спостерігається максимум світопоглинання. За допомогою підібраного світлофільтра провести

визначення оптичної густини кожного розчину, заповнити наведену таблицю та побудувати графік залежності оптична густина/вміст SO_4^{2-} (D/C, мг/см^3).

№	1	2	3	4	5
$V_{ал.}$, см^3					
C (SO_4^{2-}), мг/ см^3					
D					

III. Визначення вмісту SO_4^{2-} у воді

Пробу розчину, що аналізують, довести до мітки дистильованою водою у мірній колбі, ємкістю 100 см^3. З одержаного розчину відібрати три аліквотні частини по 10 см^3 в мірні колби на 100 см^3 та приготувати, як вказано вище, суспензії, а потім виміряти оптичну густину. По середньому значенню D, використовуючі калібрувальний графік, знайти вміст SO_4^{2-}-іонів в досліджуваній воді чи розчині.

Розрахувати вміст SO_4^{2-}-іонів за формулою

$$C(SO_4^{2-}) = \frac{C_{к.г.} \cdot V_{м.к.} \cdot V_{пр.}}{V_{ал.} \cdot 100}$$, де

C (SO_4^{2-}) – вміст сульфат-іонів в досліджуваній воді, мг/см^3;

$C_{к.г.}$ – вміст сульфат-іонів, знайдений за калібрувальним графіком, мг/см^3;

$V_{м.к.}$ – об’єм мірної колби, см^3;

$V_{ал.}$ – об’єм аліквоти, см^3;

100 – об’єм мірної колби, в яку вміщено об’єм проби розчину чи води, що аналізують, $см^3$.

IV. Визначення абсолютної та відносної помилки

$$\Delta C = C_{теор.} - C_{пр.}\ ,\ де$$

ΔC – абсолютна помилка;

$C_{теор.}$ – дійсний результат;

$C_{пр.}$ – експериментально визначений вміст.

$$\delta = \frac{\Delta C}{C_{теор.}} \cdot 100\%\ ,\ де$$

δ – відносна помилка.

Зміст

Вступ 3

Лабораторна робота № 1. “Розділення суміші речовин
за допомогою тонкошарової та колоночної хроматографії” 5

Лабораторна робота № 2. “Розділення амінокислот
за допомогою розподільної хроматографії на папері” 12

Лабораторна робота № 3. “Флюорометричне визначення
вмісту вітаміну B_2 в природних матеріалах” 17

Лабораторна робота № 4. “Дослідження вмісту
вітаміну С в природних об’єктах” 21

Лабораторна робота № 5. “Хроматографічне розділення та
фотоколориметричне визначення вмісту барвників в суміші” 25

Лабораторна робота № 6. “Турбодиметричне визначення
вмісту сульфатів у воді” 31