

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Красноярский государственный аграрный университет

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Лабораторный практикум

Красноярск 2006

Рецензент
Демина О.В., канд. техн. наук, доцент

Фомина, Л.В.

Физико-химические методы анализа: лабораторный практикум / Л.В. Фомина, М.В. Бойченко; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2006. – 50 с.

В практикуме описаны физико-химические методы анализа веществ с применением аналитических приборов, что позволяет проводить качественный и количественный анализ объектов окружающей среды, кормов и продуктов питания человека.

Практикум предназначен для студентов эколого-биотехнологического факультета, может быть рекомендован для факультета пищевой и перерабатывающей промышленности, а также для студентов естественнонаучных специальностей.

Печатается по решению редакционно-издательского отдела
Красноярского государственного аграрного университета

© Красноярский государственный
аграрный университет, 2006

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
КЛАССИФИКАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА.....	6
РАЗДЕЛ 1. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА.....	8
Лабораторная работа 1. Определение водности меда рефрактометрическим методом.....	9
Лабораторная работа 2. Определение растворимости яичного порошка по индексу растворимости.....	11
Лабораторная работа 3. Спектрофотометрическое определение протеина в кормах.....	12
Лабораторная работа 4. Фотометрический метод определения содержания фосфора.....	13
Лабораторная работа 5. Определение серы в растениях спектрофотометрическим методом.....	15
Лабораторная работа 6. Определение меди в биологических объектах колориметрическим методом.....	16
Лабораторная работа 7. Определение рибофлавина в яйце флуориметрическим методом.....	18
Лабораторная работа 8. Определение содержания сульфатов в воде методом визуальной нефелометрии.....	19
Лабораторная работа 9. Определение содержания металла в растворе атомно - абсорбционным методом.....	20
Лабораторная работа 10. Определение содержания общей ртути в пищевых продуктах методом беспламенной атомной абсорбции.....	21
РАЗДЕЛ 2. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА.....	22
Лабораторная работа 11. Определение рН растворов потенциометрическим методом.....	24
Лабораторная работа 12. Потенциометрическое определение титруемой кислотности в продуктах переработки плодов и овощей.....	25
Лабораторная работа 13. Определение содержания фтора в кормовых дрожжах потенциометрическим методом.....	26
Лабораторная работа 14. Определение нитратов в продукции растениеводства ионселективным электродом.....	28

РАЗДЕЛ 3. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ...	33
Лабораторная работа 15. Определение содержания нитратов в растворе методом ионного обмена.....	34
Лабораторная работа 16. Разделение железа и меди с помощью хроматографии на бумаге.....	35
Лабораторная работа 17. Обнаружение и идентификация афлатоксина В ₁ в зерне и продуктах его переработки методом тонкослойной хроматографии.....	37
Лабораторная работа 18. Определение хлорорганических пестицидов в кормах методом хроматографии в тонком слое.....	38
Лабораторная работа 19. Определение цинка в растворах методом экстракции с дитизоном.....	39
Лабораторная работа 20. Извлечение токсичных металлов из корма и патматериала путем мокрой минерализации.....	40
ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ....	41
1. Требования к оборудованию помещений и организации рабочих мест в лаборатории.....	41
2. Работа с огнеопасными и легковоспламеняющимися жидкостями.....	42
3. Работа с кислотами и щелочами.....	44
4. Работа со стеклянной химической посудой.....	47
Приложение. Порядок работы на приборе Spocol 11.....	48
Библиографический список.....	49

ВВЕДЕНИЕ

Данный практикум включает в себя лабораторные работы, основанные на методах, освещаемых в теоретическом курсе дисциплины «Физико-химические методы анализа», и служит для закрепления полученных теоретических знаний и выработки аналитического мышления студентов естественнонаучных специальностей.

Учебное издание включает классификацию физико-химических методов анализа, краткие теоретические основы методов. Лабораторные работы, представленные в практикуме, позволят студентам овладеть основами проведения качественного и количественного анализа объектов окружающей среды, кормов и продуктов питания человека с применением соответствующих приборов.

КЛАССИФИКАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Физико-химический анализ объединяет большое число количественных методов, основанных на измерении различных физических свойств соединений или простых веществ с использованием соответствующих приборов. К таким свойствам относятся: плотность, поверхностное натяжение, вязкость, поглощение лучистой энергии (рентгеновских лучей, ультрафиолетового, видимого, инфракрасного излучений и микроволн), помутнение, излучение (в результате возбуждения), комбинационное рассеяние света, вращение плоскости поляризации света, показатель преломления, дисперсия, флуоресценция и фосфоресценция, дифракция рентгеновских лучей и электронов, ядерный и электронный магнитный резонанс, полуэлектродные потенциалы, потенциалы разложения, электрическая проводимость, диэлектрическая постоянная, магнитная восприимчивость, температура фазовых превращений (кипения, плавления и т. п.), теплота реакции (горения, нейтрализации и т. д.), теплопроводность, радиоактивность и другие физические свойства.

В зависимости от используемых свойств различают следующие группы физико-химических методов, детальная характеристика которых будет дана в соответствующих главах:

Оптические методы, основанные на исследовании оптических свойств анализируемых систем, – фотометрические (колориметрия, фотоколориметрия, нефелометрия, турбидиметрия и др.), рефрактометрический, поляриметрический, люминесцентный, спектральный (эмиссионный спектральный анализ, атомно-абсорбционная фотометрия и др.).

Электрохимические методы, основанные на исследовании электрохимических свойств анализируемых систем, – электролитический, кондуктометрический, потенциометрический, полярографические (полярография, инверсионная хронопотенциометрия, амперометрическое титрование и др.).

Другие методы, основанные на исследовании других физических свойств анализируемых систем, – масс-спектрометрический, термометрический, радиохимический, электронного парамагнитного резонанса, ядерного магнитного резонанса и др.

Физико-химические методы разделения и концентрирования – экстракция, ионный обмен, хроматография, диализ, электрофорез, центрифугирование, сорбция, осаждение и др.

В агрохимических исследованиях используют все существующие методы количественного анализа, особенно распространены различные виды фотометрии, потенциометрии, хроматографии.

Агрохимический анализ растений применяют: при оценке качества урожая сельскохозяйственных культур и его изменений в зависимости от условий выращивания, в том числе от внесения удобрений; для установления размеров выноса элементов питания с урожаем и процесса их потребления в течение вегетации; для диагностики питания растений и уточнения их потребности в удобрениях; при изучении использования растениями питательных элементов из удобрений; для определения остаточных количеств пестицидов и продуктов их метаболизма в растениеводческой продукции.

Основные задачи агрохимического анализа почвы: установление обеспеченности растений элементами питания и, следовательно, потребности в удобрениях; изучение требований конкретных почв к применению удобрений и проведению химической мелиорации, учитывающих их поглотительную способность, реакцию среды и буферность почвенного раствора (т.е. способность противостоять изменению реакции среды), засоленность и т. д.; наблюдение за динамикой содержания питательных элементов в почве и их доступностью растениям в зависимости от приемов агротехники, доз, способов и форм удобрений; изучение процессов взаимодействия удобрений и пестицидов с почвой.

Агрохимический анализ удобрений применяют: при оценке качества местных органических удобрений и его изменения в зависимости от условий накопления, хранения и использования; для определения содержания действующего вещества в промышленных минеральных удобрениях и мелиорирующих материалах, для проверки их соответствия стандартам; при установлении доступности питательных веществ из удобрений для растений и изучении процессов превращения этих веществ в почве.

В исследованиях все шире используют математические методы оценки точности опытов и достоверности их результатов для выявления зависимости между дозами и видами удобрений и урожаем, для моделирования процессов поглощения питательных веществ растениями, превращения их и потерь из почвы и удобрений, а также для экономической оценки эффективности применения удобрений.

Раздел 1

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Все оптические методы анализа в зависимости от принципа действия можно разделить на следующие несколько групп.

Первая группа включает *методы, основанные на поглощении веществом светового потока* (фотометрия, спектрофотометрия, атомно-абсорбционный метод). Сущность их заключается в использовании основного закона поглощения света (закон Бугера-Ламберта-Бера), который устанавливает зависимость между концентрацией окрашенного раствора и его способностью поглощать свет. При изучении методики абсорбционных методов особое внимание обращают на достоинства и недостатки визуальной и отдельных видов фотоэлектроколориметрии.

Во вторую группу объединяют *эмиссионные методы*, в основе которых лежит определение количественного и качественного состава по спектру излучения. Для того чтобы вещество излучало свет, ему нужна дополнительная энергия, поэтому в зависимости от формы возбуждения атомов эмиссионные методы делят на фотометрию пламени, спектральный анализ (на фотопластинках), атомно-флуоресцентный анализ, люминесцентный и др.

К третьей группе относят *рефрактометрический метод анализа*, основанный на изменении величины показателя преломления света в зависимости от концентрации пробы, и *поляриметрический метод*, в котором используют способность оптически активных веществ вращать плоскость поляризации поляризованного луча света.

К оптическому излучению относят излучение с длинами волн монохроматических составляющих 100 нм...1 мм. Следует различать три спектральные области оптического излучения: ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную.

Ультрафиолетовым излучением (УФ) называют излучение с длинами волн монохроматических составляющих меньше длин волн видимого излучения (380...400 нм) и больше примерно 1 нм.

Видимым излучением, или светом, называют излучение, которое может непосредственно вызывать зрительное ощущение. Границы спектральной области видимого излучения условны. Обычно считают, что нижняя граница лежит между 380 и 400 нм, а верхняя – между 760 и 780 нм.

Инфракрасным излучением (ИК) называют излучение с длиной волн монохроматических составляющих больше длин волн видимого излучения, но меньше 1 мм.

Лабораторная работа 1

Определение водности меда рефрактометрическим методом

Метод основан на изменении рефракции (преломляемости) световых лучей в зависимости от содержания и соотношения сухих веществ и воды в меде. Чем больше сухих веществ, тем выше индекс рефракции. Содержание воды в качественном меде не должно превышать 21 %. Такой мед имеет показатель рефракции (n) не ниже 1,4840.

Оборудование и реактивы

Рефрактометр типа Аббе; стеклянная палочка; дистиллированная вода; исследуемый мед.

Ход работы

1. Проведите юстировку рефрактометра по дистиллированной воде. Для этого стеклянной палочкой нанесите 1-2 капли дистиллированной воды на нижнюю призму рефрактометра и замкните призмы. Прикрутите градусник с правой стороны рефрактометра и запишите значение температуры.
2. Установите с помощью винта в левом окуляре показатель рефракции дистиллированной воды $n = 1,3333$.
3. В правом окуляре, при помощи винта, совместите границу между светлой и темной зонами с точкой пересечения нитей. Запишите значение шкалы правого окуляра и не меняйте его. Бинтом или мягкой чистой салфеткой насухо протрите призмы.
4. Подготовьте пробу меда для исследования. При наличии кристаллов мед нагрейте в пробирке с закрытой пробкой при температуре $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Затем пробирку охладите до $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, воду, сконцентрировавшуюся на стенках пробирки, и мед тщательно перемешайте стеклянной палочкой.
5. 1-2 капли исследуемого меда нанесите стеклянной палочкой на нижнюю призму прибора. Призмы замкните.
6. В окуляре, при помощи винта, совместите границу между светлой и темной зонами с точкой пересечения нитей.
7. По шкале второго окуляра отметьте показания прибора.
8. Определение повторите 3 раза и вычислите среднее арифметическое.

9. По таблице 1 определите содержание воды в исследуемом меде. На точность показаний влияет температура меда. Если температура ниже 20°C , то от коэффициента рефракции отнимите 0,00023 на 1°C , если выше, прибавьте.
10. После определения промойте призмы дистиллированной водой.
11. По окончании работы сделайте выводы.

Таблица 1

Индекс рефракции при 20°C	Содержание воды, %	Индекс рефракции при 20°C	Содержание воды, %
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,5007	14,4	1,4850	20,6
1,5002	14,6	1,4845	20,8
1,4997	14,8	1,4840	21,0
1,4992	15,0	1,4835	21,2
1,4987	15,2	1,4830	21,4
1,4982	15,4	1,4825	21,6
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4966	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0	-	-

Лабораторная работа 2

Определение растворимости яичного порошка по индексу растворимости

Оборудование и реактивы

Весы лабораторные; аппарат для встряхивания жидкости в колбах; рефрактометр; термометр стеклянный, жидкостный; часы; пипетки градуированные, вместимостью 1,5; 10; 25 см³; раствор хлорида натрия 50 г/л; вода дистиллированная.

Ход работы

1. В чистую сухую колбу, вместимостью 250 см³, поместите навеску яичного порошка массой 5 г. Медленно добавьте 25 см³ раствора хлористого натрия (50 г/л) при температуре 20°C.
2. Содержимое колбы взболтайте на аппарате для встряхивания или вручную в течение 20 мин.
3. Проведите юстировку рефрактометра по дистиллированной воде. Для этого стеклянной палочкой нанесите 1-2 капли дистиллированной воды на нижнюю призму рефрактометра и замкните призмы.
4. Установите с помощью левого винта в левом окуляре показатель рефракции дистиллированной воды $n = 1,3330$. В правом окуляре, при помощи правого винта, совместите границу между светлой и темной зонами с точкой пересечения нитей. Запишите значение шкалы правого окуляра и не меняйте его. Бинтом или мягкой чистой салфеткой насухо протрите призмы.
5. Со дна колбы возьмите пипеткой 1-2 капли раствора и поместите в измерительную камеру рефрактометра.
6. С помощью левого винта в правом окуляре совместите границу между светлой и темной зонами с точкой пересечения нитей. Запишите значение рефракции на шкале левого окуляра.
7. Повторите определение три раза. Среднее арифметическое результатов трех отсчетов является показателем преломления исследуемого раствора.
8. Таким же образом на рефрактометре измерьте показатель преломления раствора хлористого натрия (50 г/л).
9. Индекс растворимости (X) вычислите по формуле:
$$X = (a - b) \times 1000,$$
где a – показатель преломления исследуемого раствора;
 b – показатель преломления раствора хлористого натрия.
10. Растворимость яичного порошка в процентах определите по индексу растворимости в соответствии с таблицей 2.
11. По окончании работы сделайте вывод.

Таблица 2

Индекс растворимости	Растворимость	Индекс растворимости	Растворимость
15	77,8	22	90,1
16	79,5	23	91,7
17	81,2	24	93,5
18	83,1	25	95,3
19	84,9	26	97,0
20	86,5	27	98,8
21	88,2		

Лабораторная работа 3 Спектрофотометрическое определение протеина в кормах

Оборудование и реактивы

Спектрофотометр; весы лабораторные; электроплитка; колба Къельдаля; кислота серная, концентрированная; аммоний сернокислый; реактив Несслера; вода дистиллированная; основной стандартный раствор сульфата аммония (0,236 г реактива растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 500 см³); пероксид водорода 33 %; исследуемый корм.

Ход работы

1. Постройте градуированный график. Для этого в мерные колбы вместимостью 50 см³ внесите 0,25; 0,5; 1; 1,5; и 2,0 см³ основного стандартного раствора сульфата аммония, что соответствует 0,025; 0,05; 0,1; 0,15 и 0,2 мг азота. Добавьте 25-30 мл дистиллированной воды и 4 мл реактива Несслера, доведите водой до метки.
2. Порядок работы на спектрофотометре смотрите в приложении. Фотометрируйте через 30 мин при длине волны 440 нм, используя в качестве раствора сравнения дистиллированную воду. Градуировочный график постройте, откладывая по оси абсцисс содержание азота (мг) в 50 мл раствора, а по оси ординат – соответствующее значение оптической плотности.
3. Навеску корма массой 0,2-0,5 г поместите в колбу Къельдаля, добавьте 10-20 мл концентрированной серной кислоты, 5 мл пероксида водорода и поставьте на электроплитку.
4. Нагревание ведите осторожно, периодически взбалтывая жидкость, время от времени добавляя пероксид водорода. Минерализацию закончите, когда жидкость в колбе станет прозрачной.

5. Раствор перенесите в мерную колбу вместимостью 100 см³, доведите до метки дистиллированной водой и перемешайте.
6. 0,5-1 см³ полученного раствора перенесите в мерную колбу вместимостью 50 см³, добавьте 25-30 см³ дистиллированной воды и 4 см³ реактива Несслера, доведите объем до метки дистиллированной водой и перемешайте.
7. Фотометрируйте через 30 мин при длине волны 440 нм, используя для сравнения дистиллированную воду. Количество азота определите по градуировочному графику.
8. Массовую долю протеина (%) определите по формуле:

$$((m_1 \cdot 6,25 \cdot 100) / (m_2 \cdot V \cdot 1000)) \cdot 100,$$

где m_1 – масса азота, найденная по градуировочному графику, мг;

m_2 – масса навески, г;

V – аликвотный объем минерализата, взятый для анализа, см³.

9. По окончании работы сделайте вывод.

Лабораторная работа 4

Фотометрический метод определения содержания фосфора

Сущность метода заключается в минерализации пробы способом мокрого озоления с образованием солей ортофосфорной кислоты и последующем фотометрическом определении фосфатов в виде окрашенного в желтый цвет соединения – гетерополикислоты, образующегося в кислой среде в присутствии ванадат и молибдат ионов.

Оборудование и реактивы

Весы лабораторные; фотоколориметр; плитка электрическая; пипетки градуированные; колбы мерные; аммоний молибденовокислый; аммоний ванадиевокислый; серная кислота концентрированная; пероксид водорода; калий фосфорнокислый однозамещенный; вода дистиллированная; стандартный раствор фосфата (4,393 г однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют в колбе емкостью 1000 мл и доводят объем до метки. В 1 мл содержится 1 мг фосфора); раствор № 1 – 2,5 г ванадиевокислого аммония растворяют в нагретой до кипения дистиллированной воде, добавляют 20 мл концентрированной азотной кислоты и доводят объем раствора водой до 1000 мл; раствор № 2 – 50 г молибденовокислого аммония растворяют в горячей воде, охлаждают и доводят объем раствора водой до 1000 мл; раствор № 3 – вода дистиллированная. Окрашивающую смесь готовят, смешивая в равных количествах эти растворы.

Ход работы

1. Навеску материала массой 0,2-0,3 г поместите в колбу Кьельдаля, прилейте 10 мл концентрированной серной кислоты, 1-2 мл пероксида водорода и поставьте на плитку. Минерализацию проводите до тех пор, пока жидкость не станет прозрачной.
2. Жидкость количественно перенесите в мерную колбу на 100 мл и доведите водой до метки.
3. Приготовьте растворы сравнения: в мерные колбы вместимостью 100 мл внесите стандартный раствор в объеме, указанном в таблице. В каждую колбу налейте до половины дистиллированную воду и добавьте 30 мл концентрированной серной кислоты. Доведите водой до метки.

Таблица 3

Номер колбы	Объем раствора фосфора, мл	Масса фосфора в 100 мл раствора сравнения
1	0	0
2	2	0,2
3	5	0,5
4	10	1,0
5	15	1,5
6	20	2,0
7	25	2,5
8	30	3,0
9	35	3,5

4. Из приготовленных растворов сравнения, а также из исходных анализируемых растворов возьмите 25 мл раствора и добавьте 10 мл окрашивающего раствора.
5. Окрашенные растворы фотометрируйте через 30 мин, используя синий светофильтр, против нулевого раствора шкалы. Порядок работы на спектрофотометре смотрите в приложении.
6. Рассчитайте массовую долю фосфора:

$$X = \frac{m_1}{m} \times 100,$$

где m_1 – масса фосфора в навеске, найденная по графику, мг;
 m – масса навески, мг.

7. По окончании работы сделайте вывод.

Лабораторная работа 5

Определение серы в растениях спектрофотометрическим методом

Принцип метода заключается в том, что сера осаждается в растворе в форме сульфата бария, а затем оптическую плотность раствора, содержащего мелкодисперсный осадок $BaSO_4$, измеряют на спектрофотометре и с помощью калибровочного графика рассчитывают содержание серы в исследуемой пробе.

Оборудование и реактивы

Спектрофотометр электрический, исходный раствор серы: 0,272 г сульфата калия, высушенного в течение 1 ч при $105^\circ C$, растворяют и доливают до метки дистиллированной водой до 1 л; хлорид бария; нитрат магния: 954 г растворяют и доливают водой до 1 л; гидроксиламин солянокислый: 25 г растворяют в 0,5 л дистиллированной воды; магний хлористый 200 г растворяют в 1 л 0,1н HCL; гуммиарабик, свежеприготовленный 0,2%-й раствор. Вместо гуммиарабика можно взять 0,25-0,5%-й канцелярский клей; соляная кислота 0,1 н и 2 н, стеклянная мерная посуда.

Ход работы

1. Постройте градуировочный график. В мерные колбы вместимостью 25 мл внесите по 1, 2, 4, 8, 10 и 20 мл исходного стандартного раствора, что отвечает 50, 100, 200, 400, 500 и 1000 мкг серы. Добавьте во все пробирки по 3 мл раствора гидроксиламина, 2 мл гуммиарабика, 250 мг сухого хлорида бария, долейте до метки водой, взболтайте 1 мин.
2. Измерьте оптическую плотность растворов на спектрофотометре при $\lambda=460$ нм. Порядок работы на спектрофотометре смотрите в приложении. По полученным данным на миллиметровой бумаге постройте калибровочный график.
3. 0,5 г мелкоизмельченной сухой пробы поместите в кварцевый стаканчик, залейте 4 мл раствора $Mg(NO_3)_2$, оставьте на ночь.
4. Раствор выпарите до появления белых пятен на вздувшейся массе.
5. Прокалите в муфельной печи при $520^\circ C$ в течение 40-45 мин до полного побеления массы, дайте ей остыть и прилейте около 25 мл 2 н HCL.
6. Раствор профильтруйте в мерную колбу вместимостью 50 мл, многократно промывая водой осадок. Фильтрат долейте до метки дистиллированной водой.

7. 10 мл полученного раствора пипеткой поместите в мерную колбу объемом 25 мл, добавьте 1мл раствора гидроксилamina, 2 мл гуммиарабика и 250 мг хлорида бария. Доведите до метки дистиллированной водой.
8. Раствор взболтайте в течение 1 мин и затем измерьте оптическую плотность на спектрофотометре при $\lambda=460\text{нм}$. Если вытяжка сильно окрашена, то ее разбавляют.
9. Результат анализа рассчитайте по формуле:

$$C_s=0,01\times C_x,$$
 где C_s – содержание серы в пробе (мг/кг);
 C_x – количество серы в 25 мл раствора, найденное по калибровочному графику;
 0,01 – постоянная величина.
10. По окончании работы сделайте вывод.

Лабораторная работа 6

Определение меди в биологических объектах колориметрическим методом

Принцип метода. Из фильтрата, полученного после озоления биологического материала, медь извлекают раствором дитизона в четыреххлористом углероде, с которым медь образует окрашенный комплекс. Цвет комплекса сравнивают со шкалой стандартных растворов и делают заключение о наличии меди в объекте.

Оборудование и реактивы

Лабораторная мельница, муфельная печь, электрическая плитка, колбы мерные, обеззоленные фильтры, индикаторная бумага, стеклянные пробирки, хлороводородная кислота, раствор аммиака 25%-й, раствор цитрата натрия или аммония 25%-й, растворы для приготовления шкалы:

1. 20 г $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 100 мл воды.
2. 9,5 г $\text{CoSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 100 мл воды.
3. 0,1 г $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ растворяют в 100 мл воды.

Раствор дитизона: 0,01 г дитизона растворяют в 50 мл четыреххлористого углерода (CCl_4). Рабочую концентрацию готовят путем приливания по каплям концентрированного раствора в четыреххлористый углерод до тех пор, пока интенсивность окраски этого раствора не будет соответствовать интенсивности окраски нулевого деления стандартной шкалы.

Ход работы

1. Приготовьте шкалу стандартных растворов в соответствии с таблицей

Таблица 4

Рас- твор	Нумерация пробирок						
	0	1	2	3	4	5	6
1	7,0	6,2	5,4	4,6	3,8	3,0	2,2
2	0,7	1,2	1,7	2,2	2,7	3,2	3,7
3	2,0	1,7	1,4	1,1	0,8	0,5	0,2
Вода	0,3	0,9	1,5	2,1	2,7	3,3	3,9
Cu мкг/мл	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6

2. Материал высушите до постоянного веса, размелите в мельнице и озолите в муфельной печи при температуре не более 500-600°C.
3. Навеску золы от 2 до 3 г растворите в 5 мл 6 н хлороводородной кислоты, добавьте 20-30 мл дистиллированной воды, профильтруйте через обеззоленный фильтр и доведите водой до 50 мл.
4. Из фильтрата, полученного после озоления вещества, возьмите 2-4 мл раствора цитрата натрия и установите рН раствора до 2,0 по универсальной индикаторной бумаге, прибавляя по каплям раствор соляной кислоты (1:1).
5. Добавьте 1-2 мл раствора дитизона в четыреххлористом углероде и сильно взболтайте в течение минуты.
6. Окрашенный раствор сравните со стандартной шкалой.
7. Проведите расчет меди по формуле:

$$\text{мкг}\% \text{ меди} = \frac{A \times B \times P}{C \times p},$$

где А – количество меди в 1 мл стандартного раствора, определенное по стандартной шкале, в мкг;

В – объем израсходованного для экстракции раствора дитизона, в мл;

Р – объем раствора золы после минерализации, в мл;

С – количество исследуемого вещества, взятого для анализа, в г;

р – объем раствора золы, взятого для анализа, в мл.

8. По окончании работы сделайте вывод.

Лабораторная работа 7

Определение рибофлавина в яйце флуориметрическим методом

Метод основан на способности растворов рибофлавина давать в ультрафиолетовых лучах желто-зеленую флуоресценцию, интенсивность которой прямо пропорциональна его концентрации.

Оборудование и реактивы

Флуориметр, механическая мешалка, цилиндры мерные с притертой пробкой, цилиндры мерные вместимостью 50 мл, колбы мерные вместимостью 50, 100, 250 мл, стеклянные стаканчики, воронки, стеклянные палочки, стандартный основной раствор рибофлавина: навеску 10 мг предварительно растертого в ступке рибофлавина перенесите в мерную колбу на 250 мл и растворите в дистиллированной воде. После полного растворения доведите водой до метки (в 1 мл раствора содержится 40 мкг рибофлавина). Перед анализом приготовьте рабочий раствор – 1 мл основного раствора внесите в мерную колбу вместимостью 100 мл и доведите дистиллированной водой до метки. В 1 мл рабочего раствора содержится 0,4 мкг рибофлавина. Этиловый спирт – 55%-й раствор, сода двууглекислая, гидросульфит натрия, яйца куриные.

Ход работы

1. Разбейте яйцо. Отделите желток от белка.
2. В цилиндр с притертой пробкой внесите 50 мл 55%-го этанола. Из стаканчика в этанол тонкой струей прилейте около 5 г желточной массы. Стаканчик с остатками желточной массы взвесьте и по разности определите массу навески.
3. Цилиндр закройте пробкой, встряхивайте в течение 1 часа в механической мешалке.
4. Содержимое отфильтруйте через бумажный фильтр.
5. Вытяжку разведите в 2-5 раз.
6. При помощи флуориметра замерьте интенсивность флуоресценции в разведенной вытяжке.
7. Замерьте интенсивность флуоресценции рабочего стандартного раствора.
8. В пробирки со стандартным и испытуемым раствором прибавьте на кончике ножа натрия двууглекислого и гидросульфита натрия, смешайте и вновь измерьте флуоресценцию. Тушить флуоресценцию рекомендуется дважды.
9. Рассчитайте содержание рибофлавина в исследуемой желточной массе по формуле:

$$X = \frac{(A - B) \times 0,4 \times V}{C \times a},$$

где X – количество рибофлавина в 1 г желтка, мкг;

A – показания флуориметра для испытуемой вытяжки (первый отсчет);

B – показания флуориметра для испытуемой вытяжки после гашения флуоресценции (второй отсчет);

C – показания флуориметра для стандартного раствора, содержащего 0,4 мкг рибофлавина в 1 мл;

0,4 – содержание рибофлавина в 1 мл стандартного раствора, мкг;

a – навеска желтка, г;

V – объем вытяжки с учетом разведения, мл.

Объем вытяжки с учетом разведения рассчитайте следующим образом: в 5 г желтка содержится 2,5 г воды (содержание влаги в желтке равно 50 %). Учитывая добавление 50 мл этанола, объем жидкости составляет 52,5 мл. Так как перед измерением интенсивности флуоресценции фильтрат был разведен в 5 раз, то общий объем (V) составит 262,5 мл (52,5×5).

10. По окончании работы сделайте выводы.

Лабораторная работа 8

Определение содержания сульфатов в воде методом визуальной нефелометрии

Сульфаты встречаются в воде в форме солей щелочных и щелочноземельных металлов. В некоторых случаях они появляются в воде в результате разложения белков животного происхождения. Сульфаты могут быть и минерального происхождения, и содержаться в большем количестве в незагрязненной воде. Качественное определение сульфатов с приближенной количественной оценкой основано на учете степени помутнения воды от прибавления раствора сульфата бария, образующегося при взаимодействии сульфатов с хлористым барием.

Оборудование и реактивы

25 %-й раствор хлороводородной кислоты, 5 %-й раствор хлорида бария, пробирки и пипетки.

Ход работы

1. В пробирку налейте 5 мл исследуемой воды, прибавьте 2-3 капли 25 %-го раствора хлороводородной кислоты.
2. Добавьте 3-5 капель 5 %-го раствора хлорида бария.
3. Содержимое пробирки доведите до кипения.

4. Появление мути свидетельствует о наличии в воде сульфатов. Оцените количество сульфатов в воде, пользуясь таблицей 5.

Таблица 5

Муть или осадок	Содержание сульфатов, мг/л
Слабая муть, появляющаяся через несколько минут	1,0-10
Слабая муть, появляющаяся сразу	10-100
Сильная муть	100-500
Большой осадок, быстро оседающий на дно	Более 500

5. Сделайте вывод о наличии сульфатов в исследованном образце.

Лабораторная работа 9

Определение содержания металла в растворе атомно-абсорбционным методом

Оборудование и реактивы

Атомно-абсорбционный спектрофотометр, укомплектованный горелкой для воздушно-ацетиленового пламени и источниками резонансного излучения железа, цинка, меди, свинца, кадмия, никеля и хрома (лампами с полым катодом). Компрессор воздушный, соответствующий требованиям технической инструкции для спектрофотометра. Ацетилен газообразный в баллонах. Стандартные растворы металлов, вода дистиллированная, колбы мерные, пипетки.

Ход работы

1. Установите в держатель лампу с полым катодом, соответствующую определяемому элементу.
2. На монохроматоре установите наиболее чувствительные линии в соответствии с выбранным элементом

Железо	248,3нм
Цинк	213,9нм
Медь	324,8нм
Свинец	283,3нм
Кадмий	228,8нм
Никель	232,5нм
Хром	357,9нм

3. Установите напряжение на лампе, согласно паспорту последней, не более 1000В.
4. Прогрейте источник излучения не менее 30 мин.
5. Настройте монохроматор по максимуму излучения, проведите юстировку лампы по максимуму излучения.

6. Откройте поступление в горелку ацетилена и воздуха и зажгите пламя.
7. Проведите дополнительную регулировку напряжения на фотоэлектронном умножителе.
8. Распыляя в пламя дистиллированную воду, установите показания прибора на нуль.
9. Распыляя в пламя градуировочные растворы с разным содержанием исследуемого металла (0,1; 0,5; 1 мкг/мл), постройте градуировочный график.
10. Получите у преподавателя раствор с неизвестным содержанием металла.
11. Используя в качестве раствора сравнения дистиллированную воду, определите содержание металла в растворе.
12. Перекройте поступление газов в прибор, отключите прибор от сети.
13. По окончании работы сделайте вывод.

Лабораторная работа 10

Определение содержания общей ртути в пищевых продуктах методом беспламенной атомной абсорбции

Метод основан на мокром кислотном озолении пробы с последующим восстановлением ртути до металлической формы и количественном определении методом беспламенной атомной абсорбции на отечественном анализаторе типа «Юлия-2».

Оборудование и реактивы

Анализатор ртути «Юлия-2», баня водяная, весы лабораторные, электроплитка, колбы мерные, посуда стеклянная, фильтры обеззоленные, спирт этиловый, азотная кислота, хлороводородная кислота, двухлористое олово, стандартный раствор соли ртути, вода дистиллированная. Для приготовления раствора двухлористого олова 1,5 г реактива поместите в мерную пробирку вместимостью 25 мл и доведите до метки 6 %-м раствором соляной кислоты.

Ход работы

1. Постройте градуировочный график. Растворите 0,166 г нитрата ртути в дистиллированной воде в колбе вместимостью 1 л (в 1 мл 100 мкг). Соответствующим разведением приготовьте рабочий стандартный раствор с концентрацией 0,01 мкг/мл. В пробирку прибора поочередно внесите 0,0; 0,3; 0,5; 0,6; 0,8; 1,0 мл, что соответствует 0,0; 0,003; 0,005; 0,006; 0,008; 0,01 мкг ртути соответ-

ственно. Добавьте дистиллированную воду до объема 2,7 мл и 0,3 мл раствора двухлористого олова. Немедленно введите в склянку барботер и снимите показания иономера. По результатам постройте градуировочный график.

2. В коническую колбу поместите навеску 5 г. Добавьте 1,0 мл этилового спирта, 10-20 мл воды, 10 мл концентрированной азотной кислоты. Оставьте на несколько часов. Добавьте 5 мл концентрированной серной кислоты, дождитесь прекращения выделения бурых паров и поставьте на водяную баню на 20-30 мин при 100°C.
3. Горячий деструктат профильтруйте в цилиндр вместимостью 100 мл через увлажненный водой фильтр. Колбу из-под деструктата несколько раз промойте кипящей дистиллированной водой и доведите объем до 100 мл.
4. 1 мл деструктата внесите в пробирку прибора и определение проведите, как при проведении градуировки. Регистрируйте максимальное отклонение стрелки прибора.
5. Определите массовую долю ртути в пробе по формуле

$$C=(m_1-a)\times\frac{V}{m\times V_1}\text{ мг/кг,}$$

где m_1 – масса ртути в анализируемом объекте, мкг;

a – масса ртути в холостом опыте, мкг;

V – общий объем деструктата, мл;

V_1 – аликвотный объем деструктата, мл;

M – масса образца, взятая для исследования, г.

6. По окончании работы сделайте выводы.

Раздел 2. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Электрохимические методы анализа основаны на использовании электрохимических процессов, происходящих в электролитической ячейке (гальваническом элементе). Электролитическая ячейка представляет собой электрохимическую систему, состоящую из электродов и электролитов, контактирующих между собой. Различают два основных типа электрохимических ячеек. К первому типу относится *гальванический элемент*, или ячейка с напряжением. Другой тип ячейки – *электролитический*.

В состав электролитической ячейки могут входить два или три электрода, один из которых – индикаторный или рабочий, второй – электрод сравнений, третий – вспомогательный.

Потенциометрия – раздел аналитической химии, в котором концентрацию определяемого иона находят по величине электродвижущей силы гальванического элемента. Используют гальванические элементы, состоящие из индикаторного электрода и электрода сравнения. Потенциал индикаторного электрода зависит от концентрации определяемого иона. Потенциал электрода сравнения нечувствителен к изменению концентрации определяемого иона. При работе возникает окислительно-восстановительная реакция, в результате возникают окислительно-восстановительные пары, потенциал которых (E) определяется по уравнению Нернста

$$E = E^{\circ} + \frac{0,059}{n} \lg \frac{PK_{\frac{a}{c}}}{\frac{P_{OC}}{c}},$$

где E° – стандартный электродный потенциал;

n – число электронов, участвующих в данной электродной реакции.

Разности потенциалов между стандартным водородным электродом и другими электродами при условии, что активность веществ, определяющих потенциал этих электродов, равна 1, называют стандартными электродными потенциалами. Вместо водородного электрода в практике часто используют другие электроды сравнения (хлорсеребряный и др.). Материал, из которого изготавливается индикаторный электрод, определяется типом ионов, концентрацию которых нужно измерить. Для каждого типа химических реакций, используемых в потенциометрическом титровании, и каждого иона, определяемого методом прямой потенциометрии, существует свой индикаторный электрод.

По назначению потенциометрический метод анализа может быть классифицирован как прямая потенциометрия и как потенциометрическое титрование. Метод прямой потенциометрии основан на точном измерении величины электродного потенциала и нахождении по уравнению Нернста активности потенциалопределяющего иона в растворе (рН-метрия).

Ионометрия – основана на применении ионоселективных мембранных электродов, функционирующих по механизму переноса ионов, то есть обладающих ионной проводимостью.

Потенциометрическое титрование проводят в тех случаях, когда нельзя использовать химические или подходящий индикаторы. В потенциометрическом титровании в качестве индикатора используют электроды потенциометра, опущенные в титруемый раствор. При этом применяют электроды, чувствительные к

титруемым ионам. В процессе титрования изменяется концентрация ионов, что регистрируется на шкале измерительного прибора. Записав показания потенциометра в единицах рН или мВ, строят график их зависимости от объема титранта, определяют точку эквивалентности и объем титранта, израсходованный на титрование.

Лабораторная работа 11

Определение рН растворов потенциометрическим методом

Для определения рН составляют ячейку из стеклянного индикаторного электрода и хлорсеребряного электрода сравнения, погруженных в один и тот же испытуемый раствор.

Оборудование и реактивы

Лабораторный рН-метр, электрод сравнения хлорсеребряный, индикаторный электрод стеклянный, буферные растворы с различными значениями рН.

Ход работы

1. Подключите рН – метр к сети 220 В. При этом загорается контрольная лампочка.
2. Дайте прибору прогреться в течение 20-25 мин.
3. Ручкой «температура раствора» установите по верхней шкале прибора температуру раствора, рН которого необходимо измерить. Клавиша «t» при этом должна быть при этом нажата.
4. Проверку и настройку рН-метра проведите по одному или нескольким стандартным буферным растворам (рН 1,68; 3,56; 4,06; 6,86; 9,22). Если используется один буферный раствор, то рекомендуется, чтобы его рН находился в том же диапазоне измерения, что и рН испытуемого раствора.
5. Индикаторный электрод перед каждым погружением в измеряемый раствор тщательно промывайте дистиллированной водой и осторожно удаляйте воду с его поверхности фильтровальной бумагой.
6. В стаканчик налейте соответствующий буферный раствор и опустите в него электроды.
7. Нажмите клавишу диапазона измерений, а затем клавишу «рН». Ручкой «калибровка» установите стрелку прибора на отметку, соответствующую значению рН буферного раствора при данной температуре.
8. Проверьте показания прибора по другим стандартным буферным растворам. Ошибка измерения не должна превышать 0,05 рН.

9. Получите у преподавателя растворы с неизвестными значениями рН.
10. Для измерения рН испытуемого раствора электроды помещают в стаканчик с испытуемым раствором. Нажимают клавишу диапазона «-1 – 14» и отмечают показание стрелки по нижней шкале. После нажатия клавиши на соответствующий диапазон измерений проводят более точный отсчет показаний по верхней шкале прибора.
11. По окончании работы при нажатом положении клавиши «t» прибор отключают от сети. Электрод осторожно промывают дистиллированной водой и оставляют погруженным в воду.
12. По окончании работы сделайте выводы.

Лабораторная работа 12

Потенциометрическое определение титруемой кислотности в продуктах переработки плодов и овощей

Метод основан на потенциометрическом титровании исследуемого раствора до рН 8,1 раствором гидроокиси натрия 0,1 М.

Оборудование и реактивы

рН-метр или универсальный иономер с погрешностью измерения не более $\pm 0,05$ в диапазоне измерения рН от 4 до 9; электрод сравнения хлорсеребряный и электрод измерительный; весы лабораторные; магнитная мешалка; посуда лабораторная; растворы буферные, раствор гидроксида натрия 0,1 М.

Ход работы

1. Навеску продукта массой от 5 до 50 г, в зависимости от предполагаемой кислотности, поместить в колбу вместимостью 250 мл.
2. В колбу до половины ее объема прилить воду температурой 80 °С, тщательно встряхнуть и выдержать 30 мин, периодически встряхивая.
3. После охлаждения довести водой до метки.
4. Тщательно перемешать и профильтровать.
5. В химический стакан отбирают пипеткой от 25 до 100 мл фильтрата.
6. Подключить рН-метр к сети 220 В. При этом загорается контрольная лампочка.
7. Дать прибору прогреться в течение 20-25 мин.

8. Ручкой «температура раствора» устанавливают по верхней шкале прибора температуру раствора, рН которого измеряют. Клавиша «t» при этом должна быть при этом нажата.
9. Проверку и настройку рН-метра проводят по одному или нескольким стандартным буферным растворам (рН 1,68; 3,56; 4,06; 6,86; 9,22). Если используется один буферный раствор, то рекомендуется, чтобы его рН находился в том же диапазоне измерения, что и рН испытуемого раствора.
10. Фильтрат титруют при непрерывном помешивании раствором гидроксида натрия сначала быстро – до рН 6,0, затем медленнее – до рН 7,0. Титрование заканчивают при достижении рН 8,1.
11. Определить титруемую кислотность по формуле:

$$X = ((V \times C \times M) / m) \times (V_0 / V_1) \times 0,1,$$

где V – объем титрованного раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование, мл;

C – молярная концентрация титрованного раствора гидроокиси натрия, м;

m – масса навески исследуемого продукта, г;

M – молярная масса, равная для:

яблочной кислоты – 67, винной кислоты – 75, лимонной кислоты – 70, уксусной кислоты – 60, молочной кислоты – 90,1;

V_0 – объем, до которого доведена масса навески, мл;

V_1 – объем взятого фильтрата, мл.

12. Сделать вывод о качестве продукта согласно полученным результатам.

Лабораторная работа 13

Определение содержания фтора в кормовых дрожжах потенциометрическим методом

Сущность метода заключается в экстракции хлорной кислотой при 50 °С фтористых соединений из навески продукта с последующим определением содержания фтора в полученной суспензии потенциометрическим методом с фтор-селективным электродом.

Оборудование и реактивы:

Весы лабораторные; рН-метр лабораторный; электрод фторидный селективный; электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный; лабораторная посуда общего назначения; бумага фильтровальная; кислота хлорная, рН 1,0 (14 мл концентрированной хлорной кислоты

перенесите в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доведите до метки дистиллированной водой); раствор фторида натрия 0,1 моль/литр (2,1 г соли поместите в стакан, прилейте 100 мл раствора лимоннокислого натрия, растворите, перенесите в колбу вместимостью 500 мл и доведите до метки раствором хлорной кислоты); раствор лимоннокислого натрия (300 г соли помещают в колбу вместимостью 1000 мл, добавьте 10 мл раствора хлорной кислоты 1:1 и 600 мл дистиллированной воды. После растворения доведите водой до метки и установите рН до 6,5 с помощью хлорной кислоты); 0,01, 0,001, 0,0001 и 0,00001 М растворы фторида натрия (готовьте из 0,1 М раствора, 10 мл исходного раствора перенесите в колбу вместимостью 100 мл, добавьте 20 мл лимоннокислого натрия и доведите до метки раствором хлорной кислоты).

Ход работы

1. Построение градуировочного графика. В пластмассовые стаканчики объемом 30 мл налить по 20 мл приготовленных растворов, опустить электроды и через 3 мин снять показания.
2. Отвесить от 0,05 до 0,3 г продукта.
3. Прилить по 15 мл раствора хлорной кислоты, нагретого до 50°C, поставить на магнитную мешалку и перемешивать 15 мин.
4. Полученную суспензию охладить.
5. Добавить 3 мл раствора лимоннокислого натрия.
6. Поместить электроды в раствор и через 3 мин снять показания.
7. Провести два параллельных измерения.
8. Содержание фтора в миллиграммах на килограмм вычислить по формуле:

$$X=(A*19*18*1000)/m,$$

где А – концентрация фтора в суспензии продукта, найденная по градуировочному графику, г-моль/л;

19 – грамм-эквивалент фтора;

18 – объем анализируемой суспензии, равный объему раствора хлорной кислоты и раствора лимоннокислого натрия, мл;

1000 – коэффициент пересчета граммов в миллиграммы;

м – масса навески продукта.

9. Сделать вывод о содержании фтора в продукте.

Лабораторная работа 14
**Определение нитратов в продукции растениеводства
ионселективным электродом**

Из общих проб продукции отбирают пробы для подготовки к анализу следующим образом:

КАРТОФЕЛЬ. Клубни моют водой, обсушивают фильтровальной бумагой или чистой тканью. От каждого клубня берут четвертую часть. Отобранный материал перемешивают и выделяют пробу для анализа массой не менее 0,25 кг.

СВЕКЛА И ДРУГИЕ КОРНЕПЛОДЫ. Корнеплоды моют водой, вытирают досуха, срезают шейку и тонкий конец корня. Крупные корнеплоды разрезают крестообразно вдоль вертикальной оси и используют для анализа половину или четверть. Из полученного материала выделяют пробу для анализа массой 0,5-0,25 кг.

КАПУСТА. Каждый кочан разрезают на 4 части по вертикальной оси и берут по одной четверти в пробу для анализа. При этом срезают и отбрасывают поверхность предыдущего среза, отбрасывают верхние несъедобные листья и остаток кочерыжки. Из полученного материала выделяют пробу для анализа массой 0,5 кг.

ЛИСТВЕННЫЕ ОВОЩИ очищают от земли, освобождают от несъедобных частей и включений и выделяют пробу для анализа массой 0,25 кг.

ЛУКОВИЧНЫЕ РАСТЕНИЯ. Отбрасывают несъедобные части. С луковиц удаляют верхние чешуи, срезают и отбрасывают основание корня и сухую шейку. Луковицы делят на две части по вертикали и берут в пробу для анализа только одну половинку. Из полученного материала отбирают пробу для анализа массой 0,25 кг.

ТОМАТЫ, ОГУРЦЫ. Плоды моют водой, просушивают фильтровальной бумагой или чистой тканью, плодоножки удаляют. Крупные плоды разрезают на 2-4 части вдоль оси. Для анализа берут половину или четвертую часть. Из полученного материала выделяют пробу массой 0,5 кг.

БАХЧЕВЫЕ КУЛЬТУРЫ. С плодов снимают верхний слой, не употребляемый в пищу, удаляют также семена и исследуют только съедобную часть. Плоды разрезают на две части по линии от места прикрепления стебля до следа цветка таким образом, чтобы в каждую половинку попали затемненные и освещенные солнцем части. Если плоды очень крупные, их разрезают на сегменты в 6-8 см по окружности плода и берут 2-4 сегмента с противоположных сторон каждого плода. Из полученного материала выделяют пробу для анализа массой 0,5 кг.

Оборудование и реактивы

Иономер типа ЭВ-74, рН-метр, милливольтметр рН-340, рН-121 или аналогичный прибор ($0,05 \text{ рС}_{\text{NO}_3}$); ионоселективный нитратный электрод ЭИМ-I, ЭИМ-II или другой электрод, имеющий такие же метрологические характеристики; электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный; весы лабораторные; колбы мерные вместимостью 50, 100 см^3 ; цилиндр вместимостью 50 см^3 ; мешалка лабораторная электромеханическая; встряхиватель; ступка фарфоровая; пластмассовая терка; ножницы; скальпель; гомогенизатор с частотой вращения не менее 6000 мин^{-1} ; квасцы алюмокалиевые, 1%-й раствор, ч.д.а.; хлорид калия, х.ч.; нитрат калия, 0,1 моль/л (10,11 г нитрата калия, высушенного при температуре $100-105 \text{ }^\circ\text{C}$ до постоянной массы, поместите в колбу вместимостью 1000 мл и растворите в 1%-м растворе алюмокалиевых квасцов); вода дистиллированная; бумага масштабнокординатная.

Ход работы

1. Проведите отбор проб по описанной выше методике.

2. 10 г испытуемого материала поместите в стакан гомогенизатора, прилейте 50 см^3 раствора алюмокалиевых квасцов с массовой долей 1% (отношение массы пробы к объему раствора 1:5) и гомогенизируйте в течение 1 минуты при частоте вращения 6000 мин^{-1} .

При отсутствии гомогенизатора 10 г мезги или пасты корнеклубнеплодов поместите в технологическую емкость, прилейте 50 см^3 раствора алюмокалиевых квасцов с массовой долей 1% и перемешайте на встряхивателе, ротаторе или с помощью мешалки в течение 3 мин. При отсутствии гомогенизатора при анализе материала, содержащего твердые ткани, пробу массой 10 г разотрите в ступке с прокаленным песком или битым стеклом до однородной массы, перенесите ее с помощью 50 см^3 раствора алюмокалиевых квасцов с массовой долей 1% в технологическую емкость вместимостью не менее 100 см^3 , а затем перемешайте в течение 3 мин на встряхивателе, ротаторе или с помощью мешалки. В полученной суспензии измерьте концентрацию иона нитрата.

При анализе культур семейства крестоцветных требуется проведение 10-кратного разбавления при величине рС_{NO_3} исследуемых суспензий от 2,5 до 3,0 и 20-кратное разбавление при величине рС_{NO_3} менее 2,5. Для этого суспензию профильтруйте через бумажный фильтр и отберите пробу 2 см^3 и прилейте к ней 38 см^3 раствора алюмокалиевых квасцов для 20-кратного разбавления или отберите пробу

4 см³ и прибавьте к ней 36 см³ раствора алюмокалиевых квасцов для 10-кратного разбавления. В разбавленном фильтрате определите концентрацию иона нитрата.

3. Проведите измерение концентрации иона нитрата в единицах pC_{NO_3} по шкале прибора.

При непосредственном измерении pC_{NO_3} прибор ежедневно настраивайте в режиме "рХ" в соответствии с инструкцией завода-изготовителя по растворам сравнения с pC_{NO_3} , равным 4 и 2. Раствор сравнения с $pC_{NO_3}=3$ используйте для контроля настройки. Отклонения значений pC_{NO_3} от номинальных значений pC_{NO_3} растворов сравнения не должны превышать 0,02 единицы pC_{NO_3} .

При работе с приборами, имеющими соответствующие преобразователи величины pC_{NO_3} , т.е. отрицательного логарифма концентрации, в значения концентрации, настройку прибора проведите непосредственно в единицах массовой доли нитрата – миллионных долях (мг/кг) по растворам сравнения. Массовую долю иона нитрата в растворах сравнения находите по значениям величины pC_{NO_3} в соответствующей таблице. При настройке прибора отклонения значений массовой доли иона нитрата от номинального значения, найденного по таблице, не должны превышать 4%.

После градуировки прибора электроды тщательно ополосните дистиллированной водой, промокните фильтровальной бумагой и погрузите в испытываемые пробы. Показания прибора считывайте не ранее, чем через 1 мин после прекращения заметного дрейфа показаний прибора. При переходе от одной пробы к другой электроды ополаскивайте дистиллированной водой и промокайте фильтровальной бумагой. Температура испытываемых проб и растворов сравнения должна быть одинаковой. Перед каждой проверкой настройки прибора нитратный ионоселективный электрод выдерживайте в растворе сравнения концентрации с $(NO_3)=0,0001$ моль/дм³ в течение 3-4 мин.

Концентрацию иона нитрата можно также измерять и по градуировочному графику. Градуировочный график стройте по результатам измерения ЭДС электродной пары в милливольтках. При измерении ЭДС в милливольтках тумблер "Род работ" ставьте в положение "мВ". Измерения ЭДС электродной пары в растворах сравнения начинайте с наиболее низкой концентрации ($NO_3 = 4$). Электрод имеет линейную функцию в диапазоне от 1 до 4 ед. pC_{NO_3} с наклоном (56 ± 3) мВ на единицу pC_{NO_3} . Если характеристика электрода отличается от заданной, электрод не пригоден для работы.

После градуировки прибора электроды тщательно ополосните дистиллированной водой, промокните фильтровальной бумагой и измерьте ЭДС в испытуемых пробах. Перед погружением электродов испытуемые пробы перемешайте. После каждого измерения электроды ополаскивайте дистиллированной водой и промокайте фильтровальной бумагой. Показания прибора считывайте не ранее, чем через 1 мин, т.е. после прекращения дрейфа показаний прибора. Температура испытуемых проб и растворов сравнения должна быть одинаковой.

Величину pC_{NO_3} в испытуемых пробах находите по градуировочному графику, построенному по результатам измерения ЭДС электродной пары в растворах сравнения с pC_{NO_3} , равными 1; 2; 3 и 4 единицам.

4. Обработка результатов

Массовую долю нитратов в испытуемом материале (X) в миллионных долях ($млн^{-1}$, мг/кг), при $V=50 \text{ см}^3$, $H=10 \text{ г}$ можно рассчитать по формуле:

$$X = (50 + \omega/10) * 10^{-pC_{NO_3}} * 6200,$$

где ω – массовая доля воды в пробе, %;

$10^{-pC_{NO_3}}$ – концентрация нитратов в вытяжке, моль/дм³

В случае разбавления вытяжки результат анализа увеличьте во столько раз, во сколько раз была разбавлена вытяжка при анализе.

Определение содержания воды в пробе, а также выполнение расчетов можно исключить, используя таблицы 6 и 7 для перевода величин pC_{NO_3} в массовую долю нитрата в анализируемой пробе.

Таблица 6

Перевод величины pC_{NO_3} в массовую долю нитрата при анализе арбузов, дынь, огурцов, томатов, лука-пера, столовой капусты

Сотые, доли pC_{NO_3}										
p_{NO_3}	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Массовая доля нитрата, млн ⁻¹ (мг/кг)										
1,6	9188	8979	8775	8575	8380	8189	8003	7821	7643	7469
1,7	7299	7133	6970	6812	6656	6505	6357	6212	6071	5933
1,8	5798	5666	5537	5411	5287	5167	5049	4935	4822	4712
1,9	4605	4500	4398	4298	4200	4104	4011	3920	3830	3743

Окончание табл. 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
2,0	3658	3575	3493	3414	3336	3260	3186	3113	3043	2973
2,1	2906	2840	2775	2712	2650	2590	2531	2478	2417	2362
2,2	2308	2256	2204	2154	2105	2057	2010	1964	1920	187,6
2,3	1833	1792	1751	1711	1672	1634	1597	1560	1525	1490
2,4	1456	1423	1391	1359	1328	1298	1268	1239	1211	1184
2,5	1157	1130	1105	1080	1055	1031	1007	985	962	940
2,6	919	898	877	858	838	819	800	782	764	747
2,7	730	713	697	681	666	650	636	621	607	593
2,8	580	567	554	541	529	517	505	493	482	471
2,9	461	450	440	430	420	410	401	392	383	374
3,0	366	357	349	341	334	326	319	311	304	297
3,1	291	284	277	271	265	259	253	247	242	236
3,2	231	226	220	215	210	206	201	196	192	188
3,3	183	179	175	171	167	163	160	156	152	149
3,4	146	142	139	136	133	130	127	124	121	118
3,5	116	113	110	108	105	103	101	98	96	94
3,6	91,9	89,8	87,7	85,8	83,8	81,9	80,0	78,2	76,4	74,7
3,7	73,0	71,3	69,7	68,1	66,6	65,0	63,6	62,1	60,7	59,3
3,8	58,0	56,7	55,4	54,1	52,9	51,7	50,5	49,3	48,2	47,1
3,9	46,1	45,0	44,0	43,0	42,0	41,0	40,3	39,2	38,3	37,4
4,0	36,6	35,7	34,9	34,1	33,4	32,6	31,9	31,1	30,4	29,7

Таблица 7

Перевод величины $\rho_{\text{СNO}_3}$ в массовую долю нитрата при анализе картофеля, моркови, столовой свеклы, лука-репки

$\rho_{\text{СNO}_3}$	Сотые доли									
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	
	Массовая доля нитрата, млн ⁻¹ (мг/кг)									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1,6	9033	8827	8626	8430	8238	8050	7867	7688	7513	7342
1,7	7175	7012	6852	6696	6544	6395	6249	6107	5968	5832
1,8	5699	5570	5443	5319	5198	5079	4964	4851	4740	4633
1,9	4527	4424	4323	4225	4129	4035	3943	3485	3765	3630
2,0	3596	3514	3434	3356	3280	3205	3132	3061	2991	2923
2,1	2856	2791	2728	2666	2605	2546	2488	2431	2376	2322
2,2	2269	2217	2167	2117	2069	2022	1976	1931	1887	1844
2,3	1802	1761	1721	1682	1644	1606	1570	1534	1499	1465
2,4	1432	1399	1367	1336	1306	1276	1247	1218	1191	1164

2,5	1137	1111	1086	1061	1037'	1013	990	968	946	924
2,6	903	883	863	843	824	805	787	769	751	734
2,7	717	701	685	670	654	639	625	611	597	583
2,8	570	557	544	532	520	508	496	485	474	463
2,9	453	442	432	422	413	403	394	385	377	368
3,0	360	351	343	336	323	320	313	306	299	292
3,1	286	279	273	267	261	255	248	243	238	232
3,2	227	222	217	212	207	202	198	193	189	184
3,3	180	176	172	168	164	161	157	153	150	146
3,4	143	140	137	134	131	128	125	122	119	116
3,5	114	111	109	106	104	101	99	97	95	92
3,6	90,3	88,3	86,3	84,3	82,4	80,5	78,7	76,9	75,1	73,4
3,7	71,7	70,1	68,5	67,0	65,4	63,9	62,5	61,1	59,7	58,3
3,8	57,0	55,7	54,4	53,2	52,0	50,8	49,6	48,5	47,4	46,3
3,9	45,3	44,2	43,2	42,2	41,3	40,3	39,4	38,5	37,7	36,8
4,0	36,0	35,1	34,3	33,6	32,8	32,0	31,3	30,6	29,9	29,2

5. По окончании работы сделайте выводы.

Раздел 3. МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ

Хроматография. Физико-химический метод разделения жидких или газообразных смесей, основанный на распределении их компонентов между двумя несмешивающимися фазами, одна из которых неподвижна, другая – подвижна и непрерывно протекает через неподвижную фазу. Метод широко используется в клинико-диагностических лабораториях. Разделение компонентов происходит вследствие различий в скорости их адсорбции, растворения или реакции с подвижными и неподвижными фазами. Компоненты разделяемой смеси перемещаются через пористую стационарную фазу под влиянием движущейся жидкости или газа, составляющих подвижную фазу. Стационарной фазой служит тонко измельченное или гранулированное твердое вещество, помещенное в узкую стеклянную или металлическую трубку, подвижную фазу иногда пропускают через колонку под давлением. В других случаях твердое вещество может быть нанесено на стеклянную пластинку. Передвижение подвижной фазы через твердое вещество обусловлено капиллярными или гравитационными силами. Как правило, твердое вещество не принимает участия в разделении, а лишь удерживает стационарную жидкую фазу. При движении вдоль хроматографической системы молекулы разде-

ляемых веществ часть времени находится в неподвижной фазе, а часть времени в подвижной, где они перемещаются со скоростью, равной скорости движения фазы. Переход молекул из подвижной фазы в неподвижную называют сорбцией, а обратный – десорбцией. Если хроматографическое разделение ведется с использованием пористого сорбента, то молекулы задерживаются в его поровом пространстве, как, например в гель-фильтрационной хроматографии. В процессе хроматографии молекулы хроматографируемых веществ проводят разное время в фазах хроматографической системы, при этом более сорбируемые молекулы проводят в неподвижной фазе больше времени, чем менее сорбируемые. В результате они медленнее движутся вдоль хроматографической системы, чем и объясняется разделение смеси веществ. По типу подвижной фазы хроматография делится на газовую и жидкостную. По типу сорбентов, используемых в качестве неподвижной фазы, и по характеру взаимодействий, обуславливающих распределение компонентов, выделяют адсорбционную, распределительную, осадочную, ионообменную, аффинную, молекулярно-ситовую, окислительно-восстановительную хроматографию.

Лабораторная работа 15 **Определение содержания нитратов в растворе методом ионного обмена**

Ионообменное определение концентраций солей основано на пропускании анализируемого раствора через колонку Н-катионита с последующим промыванием водой и титрованием кислого фильтрата щелочью.

При пропускании раствора через колонку Н-катионита ионы металла обмениваются на эквивалентное число ионов водорода, например



Таким образом, количество азотной кислоты в фильтрате после катионирования строго эквивалентно количеству нитрата.

Оборудование и реактивы

Штатив; бюретка; мерная колба, объемом 100 мл; коническая колба объемом 250 мл, пипетки, катионит КУ-2; раствор нитрата калия, натрия, аммония или кальция; 0,1 Н раствор гидроксида натрия; метиловый оранжевый или метиловый красный; 4 М раствор хлороводородной кислоты; дистиллированная вода.

Ход работы

1. Получите у преподавателя в мерную колбу вместимостью 100 мл немного раствора нитрата калия, натрия, аммония или кальция.
2. Доведите объем полученного раствора в колбе дистиллированной водой до метки и хорошо перемешайте.
3. Возьмите пипеткой 20 мл раствора и пропустите через колонку Н-катионита, высота слоя смолы 10 см. С помощью крана поддерживайте скорость фильтрования раствора около 2 мл в 1 мин. Вытекающий из колонки фильтрат собирайте в коническую колбу.
4. Три раза промойте колонку порциями воды по 10 мл, присоединяя промывные воды к основному фильтрату.
5. Раствор нитрата, полученный после пропускания через катионит, оттитруйте 0,1 Н раствором гидроксида натрия в присутствии метилового оранжевого (метилового красного).
6. После каждого употребления колонку необходимо регенерировать, то есть снова перевести катионит в Н-форму. Для этого пропустите через него 40 мл 4 М хлороводородной кислоты и промойте дистиллированной водой до нейтральной реакции.
7. Повторите определение 2-3 раза.
8. Среднюю массу (мг) нитрата в 100 мл исходного раствора вычислите по формуле:

$$m = C_3 \cdot \text{Э} \cdot V \cdot 5,$$

где C_3 – нормальная концентрация раствора гидроксида натрия;

Э – эквивалент нитрата натрия (1);

V – объем раствора NaOH, израсходованный на титрование фильтрата после катионирования 1/5 части исходного раствора нитрата;

5 – коэффициент для пересчета на весь объем исходного раствора.

9. По окончании работы сделайте выводы.

Лабораторная работа 16

Разделение железа и меди с помощью хроматографии на бумаге

Разделение смесей веществ или ионов с помощью хроматографии на бумаге основано на различной скорости движения компонентов, которую характеризуют коэффициентом движения R_f . Коэффициенты движения ионов вычисляют по формуле:

$$R_f = \upsilon / \upsilon' = h / h',$$

где v – скорость движения зоны иона на бумаге;

v' – скорость движения фронта подвижного растворителя;

h – расстояние, пройденное зоной иона по бумаге;

h' – расстояние, пройденное растворителем.

Под фронтом растворителя понимают видимую границу распространения растворителя по бумаге.

Оборудование и реактивы

Хроматографическая камера (эксикатор); кристаллизатор; пульверизатор; ножницы; тигель; пипетки; линейка; простой карандаш; круглый обеззоленный фильтр “синяя лента” диаметром 12,5 см; раствор, содержащий по 20-50 мкг катионов железа (III) и меди; растворитель – смесь этанола и 5 М соляной кислоты в соотношении 90:10 (по объему), кислоту добавьте к этанолу для предотвращения адсорбции ионов бумагой; 10%-й раствор гексацианоферрата калия $K_4[Fe(CN)_6]$.

Ход работы

1. Возьмите круглый фильтр “синяя лента”. Простым карандашом начертите на нем фитиль длиной 40 мм и шириной 4 мм.
2. На центр фильтра нанесите микропипеткой 0,05 мл раствора, содержащего катионы Fe^{3+} и Cu^{2+} , раствор не выливайте на фильтр, а постепенно выпускайте его из пипетки, чтобы впитывание происходило за счет капиллярных сил бумаги.
3. Образовавшееся первоначальное пятно осторожно обведите простым карандашом, дайте фильтру высохнуть и вырежьте ножницами “фитиль”.
4. Откройте эксикатор, поставьте в него кристаллизатор и тигель с 10 мл растворителя. Положите фильтр сверху на кристаллизатор, следя при этом, чтобы “фитиль” был погружен в растворитель.
5. Закройте эксикатор крышкой и оставьте стоять 1,5 - 2 часа для размывания первичной хроматограммы растворителем.
6. Достаньте фильтр из эксикатора, отметьте карандашом границы фронта растворителя и дайте растворителю испариться.
7. Для проявления зон локализации ионов Fe^{3+} и Cu^{2+} опрысните фильтр 10%-м раствором $K_4[Fe(CN)_6]$ из пульверизатора. В результате на хроматограмме проявляются синяя кольцевая зона $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ и коричневая кольцевая зона $Cu_2[Fe(CN)_6]$.
8. Вычислите по формуле величины R_f для катионов Fe^{3+} и Cu^{2+} . Началом пути обоих катионов считайте наружную границу пер-

воначального пятна, а концом пути – наружные границы образовавшихся после проявления кольцевых зон ионов. Расстояние, пройденное фронтом растворителя, считайте от центра хроматограммы, то есть от центра фильтра.

9. По окончании работы сделайте выводы.

Лабораторная работа 17

Обнаружение и идентификация афлатоксина В₁ в зерне и продуктах его переработки методом тонкослойной хроматографии

Оборудование и реактивы

Мельница лабораторная, весы технические, микрошприц или калибровочные стеклянные капилляры, камера для тонкослойной хроматографии, пластины для тонкослойной хроматографии, цилиндры мерные, колбы плоскодонные с притертыми пробками, бумага фильтровальная, делительные воронки, стандартный раствор афлатоксинов, ацетон, гексан, хлороформ, сульфат натрия безводный, уксуснокислый свинец.

Метод включает следующие стадии:

- Экстракция афлатоксинов из образца смесью «ацетон-вода».
- Очистка экстракта от белков, липидов и пигментов.
- Очистка, разделение и определение афлатоксинов с помощью тонкослойной хроматографии.

Экстракция

1. Пробу продукта измельчите в течение 2 мин в кофемолке, возьмите навеску 25 г и поместите в плоскодонную колбу.
2. Прилейте 25 мл 10 % -го раствора хлорида натрия и 100 мл ацетона.
3. Встряхивайте 30 минут, отфильтруйте, отберите 50 мл фильтрата.

Очистка экстракта

4. К 50 мл фильтрата добавьте 20 мл 15%-го раствора уксуснокислого свинца и 30 мл дистиллированной воды, перемешайте и поставьте на 10 мин в темное место.
5. Отфильтруйте, отберите 80 мл фильтрата. Перенесите в делительную воронку, добавьте 40 мл гексана, встряхните, после разделения верхний гексановый слой слейте, повторите 2 раза.
6. К водно-ацетоновому раствору добавьте 40 мл хлороформа, встряхните. После разделения слоёв нижний хлороформный слой отберите, а оставшийся слой ещё раз экстрагируйте хлороформом.

7. Объединенные хлороформные экстракты поместите в плоскодонную колбу, добавьте 10 г безводного сульфата натрия и оставьте на 30 мин в темноте.
8. Фильтруйте в выпарительную чашку, выпарите до объема 0,1 мл.

Разделение и обнаружение

9. Хроматографическую пластинку разметьте тонкими карандашными линиями. В правом нижнем углу пластинки на расстоянии 1,5 см от края нанесите стандартный раствор афлатоксина. В левом нижнем углу пластинки на расстоянии 1,5 см от края нанесите 0,2 мл раствора пробы.
10. Пластинку поместите в камеру для тонкослойной хроматографии, в которую предварительно налейте смесь «хлороформ-ацетон» в соотношении 9:2.
11. Проведите развитие пластинки до достижения фронтом растворителя карандашной линии, проведенной в 3 см от верхнего края пластинки, потом пластинку извлеките и высушите 5 минут в темноте.
12. Рассмотрите пластинку в длинноволновом УФ-свете. Обнаружение на пластинке пятен, соответствующих по хроматографической подвижности и цвету, флуоресценции пятна стандарта афлатоксина, свидетельствует о присутствии афлатоксина в пробе.
13. По окончании работы сделайте выводы.

Лабораторная работа 18

Определение хлорорганических пестицидов в кормах методом хроматографии в тонком слое

Метод основан на извлечении препарата из исследуемой пробы органическими растворителями, очистке экстракта и последующем хроматографировании в тонком слое окиси алюминия или силикагеля. Подвижным растворителем служит н-гексан. Пятна определяемых препаратов обнаруживают после опрыскивания пластинок раствором аммиака серебра в ацетоне с последующим облучением ультрафиолетовым светом.

Оборудование и реактивы

Ртутно-кварцевая лампа; камера для хроматографирования; пульверизаторы стеклянные для опрыскивания пластинок; пластинки для хроматографии; н-гексан; сульфат натрия безводный; серная кислота концентрированная; делительные воронки; колбы мерные; проявляющий реактив: 0,5 г нитрата серебра растворите в 5 мл дистилли-

рованной воды, прибавьте 5мл аммиака и доведите объем раствора до 100 мл ацетоном. Стандартные растворы пестицидов (ДДТ; ГХЦГ).

Ход работы

1. 10 г зерна измельчите, залейте н-гексаном и экстрагируйте на приборе для встряхивания порциями по 30 мл.
2. Экстракты объедините в делительной воронке, прибавьте 10 мл серной кислоты и осторожно встряхните несколько раз. Отделите органический слой и повторите обработку, пока кислота не станет бесцветной.
3. Высушите экстракт над безводным сульфатом натрия, перенеся его в прибор для отгонки растворителей, и отгоните растворитель до 0,1 мл.
4. На хроматографическую пластинку на расстоянии 1,5 см от узкого края пластинки при помощи капилляра нанесите пробу. Диаметр пятна не должен превышать 1 см.
5. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см нанесите стандартные растворы пестицидов.
6. Пластинку с нанесенными растворами поместите в камеру для хроматографирования, на дно которой налит н-гексан, за 30 минут до начала хроматографирования. Край пластинки с нанесенными растворами может быть погружен в подвижной растворитель не более, чем на 0,5 см.
7. После того, как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку выньте из камеры и оставьте на несколько минут для испарения растворителя.
8. Пластинку опрыскайте проявляющим раствором и облучите УФ-светом в течение 10-15 минут. При наличии пестицидов на пластинке появляются пятна серо-черного цвета.
9. Дайте заключение о наличии в пробе пестицидов.

Лабораторная работа 19

Определение цинка в растворах методом экстракции с дитизоном

Оборудование и реактивы

Раствор № 1—20 г сульфата меди растворите в 100 мл дистиллированной воды; раствор № 2—9,5 г сульфата кобальта растворите в 100 мл дистиллированной воды; раствор № 3— 0,1 г бихромата калия растворите в 100 мл дистиллированной воды; комплексный буферный раствор (40 г ацетата натрия и 40 г тиосульфата натрия растворите в дистиллированной воде до 200 мл); раствор цинка; пипетки мерные;

Раствор дитизона в четыреххлористом углероде (0,01 г дитизона растворить в 50 мл CCl_4), рабочий раствор (прилить по каплям раствор дитизона в четыреххлористый углерод до уравнивания окраски с нулевым раствором).

Ход работы

1. Приготовьте стандартную шкалу согласно таблице 8.

Таблица 8

Растворы Мл	Нумерация шкалы						
	0	1	2	3	4	5	6
1	7,0	6,3	5,6	4,9	4,2	3,5	2,3
2	0,7	1,3	1,9	2,5	3,1	3,7	4,3
3	2,0	1,6	1,2	0,8	0,4	0,2	0,0
Zn мкг/мл	0,0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3

2. Получите у преподавателя раствор цинка.
3. Возьмите 1 мл раствора, доведите до 5 мл водой, добавьте 2-4 мл буферного раствора.
4. Добавьте 1 мл раствора дитизона в четыреххлористом углероде и взболтайте 0,5-1 мин.
5. Сравните окраску нижнего органического слоя со шкалой и определите концентрацию цинка в исследуемом растворе.
6. По окончании работы сделайте вывод.

Лабораторная работа 20

Извлечение токсичных металлов из корма и патматериала путем мокрой минерализации

Оборудование и реактивы

Газовая горелка или электрическая плитка; колба Кьельдаля; серная кислота концентрированная, пероксид водорода 33 %.

Ход работы

1. Для минерализации серной кислотой и пероксидом водорода возьмите 20-25 г материала в колбу Кьельдаля вместимостью 500 мл, залейте 10-12,5 мл пероксида водорода, тщательно смешайте и добавьте 6-7 мл концентрированной серной кислоты.
2. После ослабления бурной реакции содержимое колбы осторожно подогрейте на газовой горелке или электроплите, периодически добавляя по 1-2 мл пероксида водорода до тех пор, пока оно не станет прозрачным и не будет темнеть при дальнейшем нагревании.

В полученном минерализате можно экспресс-методом обнаружить ртуть, медь, цинк и мышьяк, азот.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ

Перед началом лабораторных работ студент должен пройти инструктаж по технике безопасности работы в лаборатории.

1. Требования к оборудованию помещений и организации рабочих мест в лаборатории

При выполнении работ в лабораториях должны быть устранены или доведены до безопасного уровня опасные и вредные производственные факторы.

Все проводимые в лаборатории работы организуют так, чтобы полностью исключить образование взрывоопасных концентраций газо-, оэро- и пылевоздушных смесей в объеме всего помещения и в отдельных рабочих зонах.

Температура поверхностей оборудования и технологических трубопроводов, к которым возможны прикосновения людей во время работ, не должна превышать 45 °С.

Системы вентиляции и отопления в лабораторном помещении должны обеспечивать оптимальные параметры микроклимата.

Предельно допустимая концентрация вредных веществ в воздухе рабочей зоны лаборатории не должна превышать значений ПДК.

Допустимые уровни звукового давления в октавных полосах частот уровня звука и эквивалентные уровни звука (дБА) на рабочих местах в лабораториях должны соответствовать требованиям ГОСТа.

Предельно допустимые напряженность электрической и магнитной составляющих и плотность потока энергии электромагнитного поля радиочастот на рабочих местах в лаборатории должны соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.006—84.

Уровень ионизирующих излучений на рабочих местах в лаборатории по мощности поглощенной дозы не должен превышать $5 \cdot 10^{-4}$ Гр/год.

Допустимый уровень вибрации на рабочих местах в лаборатории должен соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.012—78.

Защитные системы (зануление, защитное заземление, защитное отключение, выравнивание потенциала, двойная изоляция, малое напряжение) и мероприятия по защите от поражения электрическим током в лабораториях должны обеспечивать напряжение прикосновения не выше 42 В.

Питание лабораторного электрооборудования осуществляется от сети напряжением не более 380 В при частоте 50 Гц. В электроуста-

новках предусматривают разделительный трансформатор и защитно-отключающее устройство.

Сопротивление изоляции токоведущих частей электроустановок до первого аппарата максимальной токовой защиты (предохранителя, автомата и др.) должно быть не менее 0,50 Ом, а сопротивление между заземляющим болтом (винтом, шпилькой) и каждой доступной прикосновению металлической нетоковедущей частью изделия, которая может оказаться под напряжением, не более 0,1 Ом.

Площадь помещений лаборатории на одного сотрудника должна быть не менее 4,5 м². Эстетическое оформление лаборатории должно быть направлено на снижение утомления. Помещение лаборатории оборудуют автоматическими извещателями системы пожарной сигнализации и сигнализаторами аварийной обстановки на лабораторном оборудовании и аппаратуре. Конструкции и элементы лабораторного оборудования и аппаратуры, которые могут быть источником опасности, обозначают сигнальными цветами, а в опасных зонах помещения устанавливают знаки безопасности.

Помещения лаборатории оснащают средствами оказания первой медицинской помощи (аптечкой, шинами, средствами дезинфекции и др.) и нейтрализации особо опасных химических веществ с обновляемыми в установленные сроки медикаментами.

Оборудование в лаборатории располагают с учетом удобств и безопасности выполнения всех видов работ. Планировка помещения должна обеспечивать освещение рабочих мест естественным светом. Средства отображения информации размещают так, чтобы обеспечить свободное восприятие общей сигнальной информации в интерьере лаборатории.

Материалы и вещества, используемые во время работ, хранят с учетом их физических и химических свойств и требований пожарной безопасности. Совместное хранение веществ, взаимодействие которых может вызвать пожар или взрыв, *не допускается*.

2. Работа с огнеопасными и легковоспламеняющимися жидкостями

Легковоспламеняющиеся вещества хранят в специальном помещении и выносятся оттуда только по мере надобности для работы.

Запрещается хранить в лабораторном помещении легковоспламеняющиеся летучие горючие вещества: петролейный эфир, серный эфир, ацетон, метиловый и этиловый спирты, бензол, толуол и другие

жидкие углеводороды с температурой кипения ниже 423 К в количестве, превышающем суточную потребность.

Общее количество горючих веществ в лабораторной комнате с одним вытяжным шкафом не должно превышать 5 л. Эти вещества хранят в специальных железных ящиках, расположенных на полу вдали от входной двери и батареи, с удобным подходом к ним. На внутренней стороне дверцы ящика делают четкую надпись с указанием наименований и общей допустимой нормы хранения горючих и легко воспламеняющихся жидкостей для данного помещения.

Диэтиловый эфир хранят изолированно от других веществ в холодном и темном помещении, так как при хранении его на свету образуется взрывчатое вещество – перекись этила.

Нахождение горючих веществ на рабочем столе во время работы с открытыми плитками *категорически запрещено*.

Запрещено:

хранить горючие жидкости в тонкостенных колбах емкостью более 200 мл;

держат горючие вещества в вытяжном шкафу, где идет работа с открытыми плитками или приборами, при включении которых может возникнуть искра;

хранить легко воспламеняющиеся жидкости по соседству с сильными окислителями; азотной кислотой, бромом, перекисью водорода, перекисью натрия, четырехокисью калия, перекисью магния, ртутным серебром.

Все работы, связанные даже с небольшим испарением в атмосферу лаборатории сильнопахнущих ядовитых веществ (бензола, нитробензола, толуола, хлороформа, диэтилового эфира, спирта, эфиров органических кислот, сероуглерода), необходимо проводить только в вытяжных шкафах.

Во избежание взрыва *запрещено* выпаривать диэтиловый эфир досуха.

Запрещено одновременно нагревать или перегонять легко воспламеняющиеся жидкости из объема, превышающего 1 л.

Единовременное нагревание и перегонку больших количеств легко воспламеняющихся жидкостей можно выполнять только с разрешения заведующего лабораторией и после принятия специальных мер предосторожности.

При всех работах по перегонке легко воспламеняющихся жидкостей следует вначале пустить воду в холодильник, а затем уже включить нагревательный прибор с закрытым нагревателем.

Во время сборки отгонного аппарата особенно тщательно следует подбирать пробки для соединения отгонной колбы и холодильника.

Для предотвращения выброса жидкостей из отгонной колбы на плитку или в приемник колбу наполняют лишь на $2/3$ ее объема и кладут в нее два-три тонких стеклянных капилляра, образующих центры кипения жидкости в отгонной колбе.

Запрещено открывать уже нагретую отгонную колбу с растворителем и вводить туда капилляры, пемзу и др.

При очистке перегонкой большого количества легковоспламеняющихся жидкостей перегонную аппаратуру устанавливают на большие противни с песком.

Деревянные части вытяжных шкафов, в которых идет работа с легковоспламеняющимися веществами, окрашивают огнеупорным лаком или покрывают асбестовым картоном.

Категорически запрещено сливать горючие жидкости в раковину. Остатки загрязненных растворителей из отгонных колб сливают в приспособленную тару, например, металлическую бочку, установленную в специально отведенном месте, откуда отходы вывозят для уничтожения.

Если случайно разобьется емкость с легковоспламеняющимся веществом, немедленно выключают все нагреватели с открытой спиралью, включают вытяжную вентиляцию, засыпают песком разлитую жидкость, а затем собирают песок и осколки веником и деревянной лопатой или фанерой. *Строго запрещено* использовать для этого металлический совок, если пол каменный, плиточный или цементный, в противном случае может возникнуть искра и произойти взрыв.

В помещении, где идет работа с эфиром, категорически запрещено применять переносные электрические лампы.

3. Работа с кислотами и щелочами

Попадание на кожу крепких кислот и щелочей может вызвать тяжелые ожоги. При попадании их в глаза возможна потеря зрения.

Концентрированные азотную, серную и соляную кислоты хранят в лаборатории в толстостенной посуде. Сосуды большого объема при этом защищают от случайных ударов. Запрещено хранение больших количеств азотной и соляной кислот в тонкостенной посуде.

Концентрированные кислоты разливают только под тягой при максимально прикрытых дверцах шкафа. Держат склянку осторожно за горловину и дно. Стекающие по горловине капли следует снимать

кусочками асбеста, а затем вытирать насухо это место бумагой или тряпкой.

Такого же осторожного обращения требуют концентрированные растворы щелочей (гидроксиды калия и натрия, аммиака). Место, на которое случайно пролит раствор щелочей (на полу или под вытяжным шкафом), засыпают песком или опилками и после их удаления моют слабым раствором уксусной кислоты.

Работа с плавиковой (фтористоводородной) кислотой требует особой осторожности. Попадание ее на кожу, особенно под ногти, вызывает сильную боль и труднозаживающие раны. При вдыхании паров плавиковой кислоты возникает воспаление верхних дыхательных путей и портятся зубы. Поэтому участок кожи, на который попали брызги плавиковой кислоты, немедленно обмывают сильной струей воды и прикладывают к нему компресс из 5 %-го раствора соды (Na_2CO_3).

Хромовая смесь вызывает сильные ожоги и даже тяжелые хронические заболевания с омертвением тканей почти до костей. Поэтому во время мытья посуды необходимо остерегаться попадания этой смеси на кожу, одежду, обувь.

При переносе кислот и щелочей следует выполнять следующие правила:

один человек может переносить не более 5 кг кислоты или щелочи, причем сосуд с реактивом при этом устанавливают в плетеную корзину или ящик с прочными ручками, а свободные места между стенками корзины и бутылью заполняют стружками или соломой;

бутыли большой массы переносят вдвоем также в ящике или корзине с прочными ручками и дном.

Надо помнить, что плотность серной кислоты примерно вдвое больше, чем воды, поэтому масса бутылки на 10 л составляет почти 20, а на 20 л – почти 40 кг. В связи с этим при транспортировании больших количеств концентрированной серной кислоты особое внимание уделяют прочности корзин и ящиков, используемых для переноски.

В местах хранения азотной кислоты не должно быть скопления пыли, соломы, стружек и других воспламеняющихся веществ, так как выделяемый азотной кислотой газ NO_2 – сильный окислитель органических веществ.

Бутыли с концентрированными кислотами закрывают только керамическими или стеклянными пробками (а не корковыми или рези-

новыми), с концентрированными щелочами – только резиновыми пробками.

Разливают крепкие кислоты очень осторожно. Глаза работающего при этом должны быть защищены очками или щитками, руки – резиновыми перчатками. *Запрещено* выполнение работ с кислотами и щелочами без предохранительных очков.

При работе с дымящей азотной кислотой плотностью 1,51-1,52, кроме очков и резиновых перчаток, надевают длинный фартук из прорезиненной ткани или полиэтиленовой (поливинилхлоридной) пленки.

Склянки с дымящей азотной кислотой хранят в специальных ящиках из нержавеющей стали или в больших стеклянных, плотно закрывающихся сосудах.

При раскалывании крупные куски щелочей обертывают тканью или бумагой и работают в предохранительных очках, перчатках с повязкой на голове.

Большое количество гранулированной щелочи (из большой тары) в малую пересыпают около вытяжного шкафа, чтобы пыль быстро удалялась из комнаты. Для выполнения этой работы надевают очки, а нос завязывают марлей в три-четыре слоя. Руки после этой работы хорошо моют под сильной струей воды, а лицо обтирают сначала сухим тампоном ваты, затем умывают.

При разбавлении серной кислоты следует лить кислоту в воду, а не наоборот. Операцию эту можно выполнять только в термостойкой посуде, лучше в фарфоровых стаканах.

Запрещено:

применять резиновые и полимерные шланги в качестве сифонов для переливания концентрированных кислот;

избирать концентрированные щелочи и кислоты ртом в пипетки Мора (для этой цели применяют резиновую грушу);

применять серную кислоту в вакуум-эксикаторах в качестве водопоглощающего средства.

Для слива отходов концентрированных кислот и щелочей в лаборатории устанавливают специальные керамические или толстостенные стеклянные емкости с крышками (*отдельно для кислот и щелочей*).

4. Работа со стеклянной химической посудой

Чтобы избежать травмирования при резании стеклянных трубок, сборке и разборке приборов и деталей, изготовленных из стекла, необходимо тщательно соблюдать меры безопасности.

Стеклянные трубки небольшого диаметра следует ломать после надрезки их напильником или специальным ножом для резки стекла, предварительно защитив руки полотенцем.

При вставлении стеклянных трубок в резиновые пробки или трубки, надевании резиновых трубок на стеклянные трубки (при сборке приборов) предварительно смачивают снаружи стеклянную трубку и внутренние края резиновой трубки или отверстие в пробке водой, глицерином или вазелиновым маслом. При этом острые края стеклянных трубок должны быть оплавлены.

Собирают стеклянные приборы или отдельные их части осторожно, применяя, где необходимо, эластичные соединения и прокладки. Приборы и стеклянные детали в местах крепления их на металлических кольцах штативов или держателя защищают упругими прокладками (асбестом, резиной, кожей и т. д.).

При вставлении стеклянных трубок в просверленную пробку последнюю не упирают в ладонь, а держат за боковые стороны. Всю трубку при этом располагают как можно ближе к вставляемому в пробку концу.

При закрывании тонкостенного сосуда пробкой его держат за верхнюю часть горла как можно ближе к пробке. Руки при этом защищают полотенцем. Нагретый сосуд нельзя закрывать притертой пробкой.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПОРЯДОК РАБОТЫ НА ПРИБОРЕ СПЕКОЛ 11

1. Включить прибор нажатием кнопки «~». После включения прибора мигают светодиоды над кнопками T-E-C-CAL-FL-K.IN/START, указывая тем самым на необходимость выбора желаемого режима измерения.
2. В течение 15 мин прибор должен нагреваться.
3. Выбрать нужный режим измерения нажатием соответствующей кнопки:
 - T – измерение коэффициента пропускания,
 - E – измерение экстинкции (оптической плотности раствора),
 - C – измерение концентрации,
 - CAL – определение фактора F по эталонной пробе,
 - FL – измерение флуоресценции,
 - KIN – исследование ферментов.
4. С помощью барабана установить рабочую длину волны λ . В случае $\lambda < 390$ нм перевести рукоятку в положение] (включить фильтр для подавления рассеянного света).
5. С помощью ручки ввести в ход лучей требуемый фотоэлемент до упора:
 - $\lambda = 340-620$ нм – синечувствительный;
 - $\lambda = 620-850$ нм – красночувствительный.
6. Поместить кювету с раствором сравнения и включить ее в ход лучей.
7. Для определения оптической плотности нажать кнопку E, после чего мигает светодиод R. Нажать кнопку R. После автоматического выравнивания опорного сигнала появляется показание 0,000 и гаснет светодиод.
8. Поместить кювету с исследуемым раствором и включить ее в ход лучей.
9. Отсчитать показания прибора.
10. Вынуть кюветы и промыть их дистиллированной водой.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Васильев, В.П. Практикум по аналитической химии: учеб. пособие для вузов / В.П. Васильев, Р.П. Морозова, Л.А. Кочергина. – М.: Химия, 2000. – 328 с.
2. ГОСТ 26929-86. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Методы определения токсичных элементов. – М.: Изд-во стандартов, 1993. – 130 с.
3. ГОСТ 28178-89. Дрожжи кормовые. Методы испытаний. – М.: Изд-во стандартов, 1993. – 48 с.
4. Захаров, Л.Н. Техника безопасности в химических лабораториях: справ. / Л.Н. Захаров; 2-е изд., перераб. и доп. – Ленинград: Химия, 1991. – 336 с.
5. Методические указания по атомно-абсорбционным методам определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье. – М., 1994. – 25 с.
6. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. – СПб.: Крисмас +, 1998. – 224 с.
7. Русин, Г.Г. Физико-химические методы анализа в агрохимии: учеб. пособие / Г.Г. Русин. – М.: Агропромиздат, 1990. – 303 с.
8. Цитович, И.К. Курс аналитической химии: учеб. для с.-х. вузов / И.К. Циткович; 5-е изд., испр. и доп. – М.: Высш. шк., 1985. – 400 с.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Составители:
Фомина Л.В.
Бойченко М.В.

Редактор Т.М. Мاستрич

Санитарно-эпидемиологическое заключение № 24.49.04.953.П. 000381.09.03 от 25.09.2003 г.

Подписано в печать 27. 01. 2006. Формат 60x84/8. Бумага тип. № 1.

Офсетная печать. Объем п.л. Тираж 110 экз. Заказ №

Издательство Красноярского государственного аграрного университета
660017, Красноярск, ул. Ленина, 117