

Федеральное государственное образовательное учреждение  
высшего образования «Красноярский государственный медицинский  
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого  
Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Кафедра биохимии с курсами медицинской,  
фармацевтической и токсикологической химии

## **ХИМИЯ**

лабораторный практикум для обучающихся 1 курса по специальностям  
31.05.01 – Лечебное дело, 31.05.02 – Педиатрия, 31.05.03 – Стоматология

Красноярск  
2016

УДК 54(076.5)

ББК 24

X 46

Химия: лаборатор. практикум для обучающихся 1 курса по специальностям 31.05.01 – Лечебное дело, 31.05.02 – Педиатрия, 31.05.03 – Стоматология / сост. Р. Я. Оловянникова, Л. Б. Шадрина, Д. С. Талдыкина. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2016. – 94 с.

**Составители:** Оловянникова Р. Я., Шадрина Л. Б., Талдыкина Д.С.

В лабораторном практикуме изложены правила техники безопасности при работе в химической лаборатории, описание опытов лабораторных работ в соответствии с темами лабораторных занятий. Обращается внимание на цели, назначение лабораторной работы, принципы методов качественного и количественного анализа, статистическую обработку данных эксперимента, рекомендации по оформлению отчета. Дается список применяемых в опытах реактивов и оборудования. В конце каждой работы или отдельного опыта размещены вопросы для защиты лабораторной работы.

Лабораторный практикум соответствует рабочей программе по курсу «Химия» и предназначен для студентов, обучающихся по специальностям Лечебное дело, Педиатрия, Стоматология, но может быть использован для аудиторной работы студентами 1 курса и других специальностей (30.05.03-Медицинская кибернетика, 33.05.01-Фармация), а также преподавателями.

**Рецензенты:** д.х.н., заведующий кафедрой химии КГПУ им. В.П. Астафьева, профессор Горностаев Л.М.

д.х.н., профессор кафедры химии и технологии органических веществ СибГАУ, профессор Товбис М.С.

Утверждено к печати ЦКМС КрасГМУ (протокол № от . . 2016)

© ФГБОУ ВО КрасГМУ  
им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого  
Минздрава России, 2016

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ....	6
1.Общие меры безопасности .....	6
2.Первая помощь при несчастных случаях .....	9
МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОФОРМЛЕНИЮ ОТЧЕТА ПО ПРОДЕЛАННОЙ РАБОТЕ .....	10
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1. Уточнение концентрации гидроксида натрия по щавелевой кислоте .....</b>	<b>11</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2. Применение метода нейтрализации (кислотно-основного титрования) для определения кислотности желудочного сока .....</b>	<b>17</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3. Кислотно-основные буферные растворы ...</b>	<b>21</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4. Уточнение концентрации фармакопейного препарата раствора пероксида водорода методом перманганатометрии....</b>	<b>26</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5. Определение активного хлора в хлорной извести методом иодометрии.....</b>	<b>30</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №6. Определение хлоридов в биологической жидкости методом Фольгарда (метод осаждения) .....</b>	<b>34</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №7. Определение жесткости воды и концентрации ионов кальция в биологических жидкостях методом комплексонометрии .....</b>	<b>38</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №8. Скорость химической реакции и факторы, влияющие на нее. Химическое равновесие .....</b>	<b>45</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №9. Коллоидные растворы: методы получения и очистка .....</b>	<b>53</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №10. Определение порогов коагуляции зелей под действием электролитов.....</b>	<b>60</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №11. Реакции электрофильного замещения (S<sub>E</sub>) у аренов: бензойной и салициловой кислот.....</b>	<b>65</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №12. Определение теофиллина в фармакопейном препарате эуфиллине методом нейтрализации.....</b>	<b>67</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №13. Реакционная способность оксосоединений (формальдегида и ацетона).....</b>	<b>69</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №14. Реакции обнаружения ацетатов, бензоатов и салицилатов .....</b>	<b>71</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №15. Качественные реакции на углеводы.....</b>	<b>73</b>

<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №16. Количественное определение НАДН в его растворе методом перманганатометрии .....</b>	<b>76</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №17. Идентификация аминокислот в белке.....</b>	<b>79</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №18. Определение изоэлектрической точки (pI) сывороточного альбумина. Влияние рН и электролитов на степень набухания желатина.....</b>	<b>84</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №19. Определение констант жиров .....</b>	<b>86</b>
<b>ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №20. Определение поверхностного натяжения желчных кислот методом счета капель.....</b>	<b>91</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>94</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Лабораторный практикум ориентирован на системное изучение основ аналитической, общей и биорганической химии (строения и реакционной способности важнейших классов органических соединений, а также групп природных веществ, предоставляющий профессиональный интерес). Материал разделен на темы, последовательно расположенные в соответствии с учебной программой по химии (2012) для студентов медицинских специальностей. Закрепление теоретических и практических знаний по каждой теме происходит путем выполнения лабораторных работ, а также за счёт ответов на вопросы, которые есть после каждой лабораторной работы.

Созданный лабораторный практикум позволяет студенту понять суть титриметрического анализа, его назначение, обосновывать выбор индикатора, использовать экспериментальные данные титриметрического анализа для расчетов количественных параметров (массы вещества, различных типов концентраций растворов, кислотности желудочного сока, буферной емкости сыворотки крови, констант жиров), определять скорость конкретной реакции и строить кривые зависимости скорости реакции от концентрации каждого из ее реагентов, от температуры, сопоставлять экспериментальные данные с теоретическими и делать выводы, проводить статистическую обработку результатов. Лабораторный практикум позволяет увидеть в эксперименте как смещается равновесие в обратимых реакциях при добавлении продуктов или исходных веществ или как проявляются наиболее важные химические свойства функциональных групп, определяющих реакционную способность соединений. Несмотря на несложное аппаратное оформление, студент должен научиться вдумчивому отношению к наблюдаемым явлениям, понимать их химическую сущность, уметь выразить ее через графологические схемы и схемы реакций. Важно понимать, какие химические процессы обуславливают проявление внешнего эффекта (появление окрашивания, запах и т. д.). На это нацеливают приводимые к опытам вопросы, ответы на которые даются студентом с учетом результатов эксперимента.

Лабораторный практикум составлен с таким расчетом, чтобы была возможность выбора тех или иных лабораторных работ в случае изменения рабочей программы.

## ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Необходимым условием успешного выполнения лабораторного практикума и избежания несчастных случаев является внимательное изучение методики проведения опыта, соблюдение правил техники безопасности. Приступать к выполнению работы вы можете только после беседы с преподавателем (допуск к лабораторной работе), в ходе которой следует описать основные этапы эксперимента с указанием мер предосторожности, а также ответить на ряд теоретических контрольных вопросов по теме выполняемой работы.

### **Общие меры безопасности.**

1. В лаборатории необходимо находиться в застегнутом лабораторном халате. Волосы должны быть убраны. После проведения опытов необходимо тщательно вымыть руки.
2. В лаборатории следует вести себя аккуратно, не бегать, не размахивать руками. На лабораторном столе во время работы не должно быть посторонних предметов.
3. Строго запрещается принимать в лаборатории пищу и напитки, тем более использовать для приема пищи или воды лабораторную посуду.
4. Запрещается пробовать вещества на вкус, даже если вы уверены в безопасности вещества (например, сахароза или хлорид натрия). В следующий раз вы случайно можете попробовать ядовитое вещество.
5. Химические реактивы брать только шпателем, пинцетом или ложечкой (не руками!). Шпатель должен быть всегда сухим и чистым. После расходования следует его тщательно обтереть.
6. Жидкости переливать через химические воронки. Слянку, из которой переливают жидкость, необходимо держать этикеткой к руке во избежание ее порчи.
7. Нельзя банку или стакан с реактивом, открывать, держа в руках, ее надо поставить на лабораторный стол и только после этого открывать.
8. Для выполнения опыта пользоваться только чистой, сухой лабораторной посудой; для отмеривания каждого реактива нужно иметь мерную посуду (пипетки, бюретки, мензурку, мерный цилиндр или мерный стакан); не следует выливать избыток налитого в пробирку реактива обратно в емкость, чтобы не испортить реактив. После расходования реактива банку или стакан необходимо сразу закрыть пробкой и поставить на место.
9. Никогда не набирайте жидкость в пипетку ртом, всегда пользуйтесь грушей или приспособлением для отбора проб.

10. Не нагревайте, не смешивайте, не лейте и не взбалтывайте реактивы вблизи от лица. Всегда направляйте горло сосуда от лица и тела. Не направляйте горло сосуда в сторону работающих поблизости товарищей.
11. Размешивать реакционную смесь в сосуде стеклянной палочкой или шпателем надо осторожно, не допуская разлома сосуда. Держать сосуд при этом необходимо за ее горловину.
12. Перенося сосуды с горячей жидкостью, надо держать их двумя руками: одной – за дно, другой – за горловину, используя при этом полотенце (чтобы избежать ожогов кистей и пальцев рук).
13. При закрывании толстостенной посуды пробкой следует держать ее за верхнюю часть горловины. Нагретый сосуд нельзя закрывать притертой пробкой пока он не охладится.
14. В опытах с нагревом необходимо пользоваться посудой, которая имеет соответствующую маркировку.
15. При нагревании растворов и веществ в пробирке необходимо использовать специальный держатель для пробирок. Пробирку следует держать под наклоном. Отверстие пробирки должно быть направлено в сторону, как от себя, так и от тех, кто работает рядом. Не допускать разбрызгивания смеси из сосуда.
16. Нельзя наклоняться над сосудом, в котором происходит нагревание или кипячение жидкости, так как иногда она может выкипать из сосуда.
17. При необходимости определить запах выделяющихся при реакции газов нужно легким движением ладони направить струю газа от горлышка сосуда к себе и осторожно вдохнуть.
18. Будьте осторожны с сильными кислотами и щелочами. Никогда не добавляйте воду к концентрированным кислотам и твердым щелочам. Для приготовления разбавленного раствора концентрированную кислоту тонкой струйкой приливают в воду при постоянном перемешивании и охлаждении. При растворении щелочи ее добавляют в воду маленькими кусочками, также при перемешивании и охлаждении. Кусочки щелочи нужно брать только щипцами.
19. Разлитые кислоты или щелочи необходимо немедленно засыпать песком, нейтрализовать, и только после этого проводить уборку.
20. Со всеми пылящими или парящими веществами работы проводят только в вытяжном шкафу с опущенными створками, надевая защитные перчатки.
21. При работе в вытяжном шкафу не следует наклоняться внутрь рабочего объема вытяжного шкафа, так как пары и мелкие частицы реактивов потоком воздуха уносятся вверх и могут попасть вам в лицо, дыхательные пути и глаза.

22. Не допускайте попадания в глаза любого вещества. Помните, что для роговицы глаз особенно опасны щелочь и аммиак.
23. Работу с легколетучими и легковоспламеняющимися веществами надо проводить только в вытяжном шкафу, нельзя допускать контакта их паров с открытым пламенем, электропроводкой, электроприборами и другими возможными источниками возгорания.
24. Перед началом работы с эфиром или любым другим легколетучим и легковоспламеняющимся веществом предупредите об этом работающих рядом с вами, чтобы избежать случайного использования открытого пламени.
25. Для нагревания органических жидкостей лучше применять водяную или масляную баню, электрическую плитку с закрытой спиралью.
26. Перед зажиганием спиртовки нужно убедиться, что корпус ее исправный, фитиль выпущен на нужную высоту и развернутый, а горловина и черенок фитиля сухие.
27. Зажженную спиртовку не переносить с места на место; нельзя зажигать одну спиртовку от другой.
28. Тушить спиртовку нужно накрывая пламя колпачком. Задувать пламя запрещается.
29. В спиртовках используется только этиловый спирт; пользоваться бензином или другими горючими жидкостями запрещается.
30. Не допускайте нагревания замкнутой системы любого типа – это может привести к взрыву в результате резкого повышения давления паров в системе.
31. Нельзя использовать для нагревания жидкостей стеклянную посуду с трещинами, в процессе нагревания трещина может увеличиться, или колба лопнет, это приведет к попаданию растворителя на нагретую поверхность и может спровоцировать пожар.
32. Помните, что большинство органических жидкостей легко воспламеняется. Наиболее опасны легколетучие вещества, такие как диэтиловый и петролейный эфиры, ацетон. Такие вещества должны находиться на вашем рабочем месте только в минимальном количестве, необходимом для выполнения работы.
33. Помните, что большинство органических жидкостей легко воспламеняется. Наиболее опасны легколетучие вещества, такие как диэтиловый и петролейный эфиры, ацетон. Такие вещества должны находиться на вашем рабочем месте только в минимальном количестве, необходимом для выполнения работы.
34. Если произошло возгорание на рабочем месте, отключите вентиляцию, электричество общим рубильником, позвоните преподавателя или

лаборанта. Небольшой очаг возгорания засыпьте песком или накройте асбестовым одеялом, в случае возгорания на большой площади используйте огнетушитель.

35. Не пытайтесь тушить очаг возгорания водой. Это неэффективно, если горит не смешивающееся с водой вещество, и опасно, если загоревшееся вещество способно вступать с водой в реакцию.
36. По окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, закрыть водопроводные краны, выключить электрические приборы.

### **Первая помощь при несчастных случаях**

- Несоблюдение техники безопасности может привести к несчастным случаям.
- В случае пореза стеклом нужно сначала внимательно осмотреть рану и извлечь из нее осколки стекла, если они есть, а затем обмыть раненное место 2% раствором перманганата калия, смазать йодом и завязать бинтом или заклеить лейкопластырем.
- При незначительном термическом ожоге (горячими предметами, веществами или паром) сразу следует обработать пораженный участок этиловым спиртом или крепким раствором перманганата калия. А при более тяжелых ожогах следует немедленно обратиться к врачу.
- При попадании на кожу кислоты необходимо смывать ее проточной водой в течение 15 мин, затем пораженный участок промыть 2-3% раствором пищевой соды.
- При попадании на кожу щелочи также смывайте ее проточной водой в течение 15 мин, а затем обработайте пораженный участок 2-3% раствором уксусной или борной кислоты.
- При попадании любых веществ в глаза тщательно промойте их большим количеством проточной воды и обязательно обратитесь к врачу.
- При возгорании одежды на человеке набросьте на него войлочное одеяло или любую плотную ткань, чтобы сбить пламя. Не позволяйте пострадавшему бежать, это усилит горение.
- По окончании работы выключите источники нагрева,
- Вымойте за собой посуду, сдайте рабочее место дежурным по лаборатории или лаборанту.

# МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОФОРМЛЕНИЮ ОТЧЕТА ПО ПРОДЕЛАННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЕ

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № \_\_\_\_

**Тема:** записывают название лабораторной работы

**Цель работы:** формулируют, исходя из темы, отражая все нюансы предстоящей работы

**Принцип метода:** формулируют, исходя из целей и реакций, лежащих в основе метода с написанием всех этих реакций, а при необходимости (в титриметрическом анализе), и указанием рабочих растворов и даже их функций в плане технического исполнения метода (титрант, титруемое вещество, стандартный раствор, титрованный раствор, вспомогательный раствор, индикатор и т.д.)

**Формулы для расчетов:** приводят в общем виде (если они есть):

**Результаты:** представляют схему последовательного выполнения экспериментальной работы, заполненные таблицы (с исходными параметрами и рассчитанными показателями) или оформленные ситуационные задачи (с кратким условием и решением), построенные графики.

**Вывод:** формулируют исходя из цели работы, подводя итог своим результатам (в сравнении с теоретически возможными или имеющимися стандартами); обосновывают необходимость использованных методов или приемов.

**Защита:** отвечают на вопросы, приведенные в конце каждой лабораторной работы.

**Оценка:** \_\_\_\_\_

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

### Уточнение концентрации гидроксида натрия по щавелевой кислоте методом нейтрализации.



#### Теоретическая часть

Метод нейтрализации (кислотно-основного титрования) служит главным образом для количественного определения кислот и щелочей, но им можно определять и соли, ионы которых выполняют роль кислот или оснований Бренстеда. В клинической практике метод нейтрализации применяется для определения кислотности желудочного сока, буферной ёмкости сыворотки крови, спинномозговой жидкости, мочи и других биологических жидкостей. В санитарно-гигиенических лабораториях кислотно-основное титрование используется для установления доброкачественности продуктов питания. Этот метод широко используется также в фармацевтической химии при анализе лекарственных веществ как неорганической, так и органической природы.

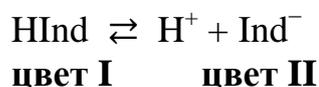
**Рабочими растворами** в методе нейтрализации являются сильные кислоты или сильные основания, которые используются в качестве титрантов, а также стандартные растворы солей, по которым устанавливают точную концентрацию титрантов.

**Стандартные растворы** – это растворы известной концентрации. **Титрант** – это такой рабочий раствор, который заливается в бюретку и приливается к другому раствору (в колбочке) по каплям. Титрант, концентрацию которого установили с помощью стандартного раствора, называется **титрованным раствором**.

**Титрование** – это процесс добавления титранта до точки эквивалентности (конца реакции).

**Точка эквивалентности** – это момент реакции, когда вещества прореагировали между собой в эквивалентных количествах. Только в этом случае параметры определяемого вещества (его массу, концентрацию, количество или объем) можно рассчитывать на основе закона эквивалентов. Точку эквивалентности устанавливают с помощью индикаторов кислотно-основного типа.

**Индикатор** в методе нейтрализации – это слабая кислота или слабое основание органической природы, молекулярная и ионная форма которого отличается по цвету. С позиций протолитической теории Бренстеда, индикатор – сопряженная кислотно-основная пара, компоненты которой отличаются по цвету:



Поэтому каждый индикатор характеризуется определенным значением  $pK_a$ , или так называемым показателем титрования  $pT = pK_a = -\lg[K_a]$ .

Вспомним, что  $pK_a$  – это значение pH среды, при котором содержание кислотной и сопряженной ей основной формы одинаковы. А это значит, что в точке  $pT$  цвет раствора индикатора будет смешанный. Но глаз человека замечает смешанный цвет и тогда, когда одна из форм индикатора преобладает над другой раз в 10. В этом случае мы получаем зону перехода цвета индикатора  $pT \pm 1$ . При значениях  $pH < pT \pm 1$  (т. е. левее зоны перехода цвета) индикатор будет находиться главным образом в кислотной своей форме  $HInd$ . А при значениях  $pH > pT \pm 1$  (т. е. правее зоны перехода цвета) будет значительно преобладать его сопряженная основная форма  $Ind^-$ .

Табл. 1. Примеры индикаторов и их характеристики.

Индикатор	Окраска		$pK_a(pT_{Ind})$	pH-диапазонов изменения окраски
	в форме кислоты	в форме основания		
Тимоловый синий (первое изменение)	Красная	Желтая	1,5	1,2 ÷ 2,8
Метиловый оранжевый	«	Желтая	3,7	3,2 ÷ 4,4
Бромкрезоловый зеленый	Желтая	Синяя	4,7	3,8 ÷ 5,4
Метиловый красный	Красная	Желтая	5,1	4,2 ÷ 6,2
Лакмус (азолитмин)	«	Синяя		5,0 ÷ 8,0
Бромтимоловый синий	Желтая	Синяя	7,0	6,0 ÷ 7,6
Феноловый красный	«	Красная	7,9	6,8 ÷ 8,4
Тимоловый синий (второе изменение)	«	Синяя	8,9	8,0 ÷ 9,6
Фенолфталеин	Бесцветная	Малиновая	9,4	8,2 ÷ 10,0
Тимолфталеин	«	Синяя		9,3 ÷ 10,5

*При выборе индикатора* руководствуются правилом: значение pH в точке эквивалентности ( $pH_3$ ) должно попадать в зону перехода цвета индикатора (т. е.  $pH_3 = pT \pm 1$ ). Значение же  $pH_3$  определяется по продуктам реакции, когда в колбочке для титрования уже израсходовано исходное вещество, но ещё нет избытка титранта (а есть только продукты реакции).

В методе нейтрализации может быть использовано не только **прямое титрование** (когда титрант непосредственно приливают к определяемому веществу), но и **обратное** (или титрование по избытку).

*Суть обратного титрования:* к определяемому веществу добавляется фиксированный избыток стандартного вспомогательного раствора, который затем оттитровывается другим раствором (титрантом).

К обратному титрованию прибегают в том случае, когда, например, под рукой нет нужного индикатора для прямого титрования или определяемое вещество слишком летучее.

**Цель работы:** освоить приёмы титрования и определить точную концентрацию приготовленного раствора NaOH по стандартному раствору кристаллической щавелевой кислоты. Сравнить установленное значение концентрации NaOH с аналитической концентрацией.

**Реактивы и оборудование:**

1. Бюретки, воронки, пипетки, колбочки для титрования.
2. Индикатор – 0,1 % спиртовой раствор фенолфталеина.
3. 0,1 э раствор гидроксида натрия NaOH.
4. 0,1 э свежеприготовленный раствор щавелевой кислоты  $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ .



**Практическая часть**

**Порядок выполнения работы:**

1. Заполнить бюретку 0,1э раствором NaOH.
2. В колбу для титрования отмерить пипеткой 5 мл раствора  $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ . Добавить 1-2 капли раствора фенолфталеина.
3. Провести титрование приготовленной пробы раствором NaOH до появления слабо розового окрашивания. Отметить объем раствора NaOH, пошедший на титрование. Титрование повторить 5 раз.
4. Все данные (исходные и расчетные) занести в таблицу.

Табл.2. Данные титрования щавелевой кислоты рабочим раствором NaOH

№	Объём раствора $H_2C_2O_4$ , мл	$C_3 (H_2C_2O_4)$ , моль/л	Объём раствора NaOH, мл	Определяемая концентрация $C_3 (NaOH)$ , моль/л
1	5	0,1		
2	5	0,1		
3	5	0,1		
4	5	0,1		
5	5	0,1		

**Реакции, лежащие в основе метода:**

- 1)  $H_2C_2O_4 + 2NaOH \rightleftharpoons Na_2C_2O_4 + 2H_2O$  (в молекулярном виде)  
 $H_2C_2O_4 + 2OH^- \rightleftharpoons C_2O_4^{2-} + 2H_2O$  (в кратком ионном виде)
- 2)  $C_2O_4^{2-} + HON \rightleftharpoons HC_2O_4^- + OH^-$  (гидролиз по аниону),  $pH_3 > 7$

**Расчеты.** По закону эквивалентов (концентрационный формат) находят эквивалентную концентрацию NaOH:

$$C_{\text{э NaOH}} = \frac{(C_{\text{э}} \cdot V)_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4}}{V_{\text{NaOH}}}$$

При необходимости рассчитывают простой титр ( $T_{\text{NaOH}}$ ) и сложный титр ( $T_{\text{NaOH}/\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}$ , или титр NaOH по определяемому веществу  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) по формулам:

$$T_{\text{NaOH}} = \frac{C_{\text{э NaOH}} \cdot M\left(\frac{1}{z}\text{NaOH}\right)}{1000}, \quad \text{г/мл}$$

$$T_{\text{NaOH}/\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}} = \frac{C_{\text{э NaOH}} \cdot M\left(\frac{1}{z}\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}\right)}{1000}, \quad \text{г/мл}$$

В конце работы проводят статистическую обработку данных и делают вывод, совпадают ли полученные результаты концентрации  $C_3$  (NaOH) с аналитической  $C_3$  (NaOH), указанной на бутылочках как 0,1э NaOH.

**Статистическая обработка данных** проводится для выяснения ошибки эксперимента и представления результата в виде среднего значения  $\bar{X}$  с учетом этой ошибки (либо в виде  $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$ , либо в виде  $\bar{X} \pm \varepsilon$ , см. ниже).

*Среднее значение  $\bar{X}$*  рассчитывают как сумму ряда *вариант*  $X_i$ , деленную на число вариантов в ряду  $n$ :  $\bar{X} = X_1 + X_2 + \dots + X_n / n$ .

*Ошибку среднего  $\varepsilon$*  рассчитывают как произведение стандартного отклонения среднего  $s_{\bar{x}}$  и коэффициента Стьюдента (t-критерия)  $t_x$ :  $\varepsilon = s_{\bar{x}} \cdot t_x$ .

*Коэффициент Стьюдента* находится по таблице в зависимости от числа степеней свободы  $f$  ( $n-1$ ) и выбранного уровня значимости  $p$  (или иначе, доверительной вероятности, см. табл.4), который показывает, с какой долей вероятности допускается ошибка. В химии и биологии принят уровень значимости  $p=0,05$ .

Квадрат *стандартного отклонения среднего*  $S_{\bar{x}}^2$  – это есть квадрат стандартного отклонения  $S^2$  (или иначе, среднеквадратичная ошибка), деленный на число вариантов  $n$ :  $S_{\bar{x}}^2 = S^2 / n$ .

*Квадрат стандартного отклонения  $S^2$*  рассчитывается по формуле:  $S^2 = \frac{\sum d_i^2}{n-1}$ , где  $d_i$  – отклонение каждой варианты от среднего значения  $\bar{X}$ , то есть  $d_i = x_i - \bar{x}$ .

Для статистической обработки экспериментальных данных удобно использовать таблицы (см. пример в табл.3 и значения коэффициента Стьюдента в табл.4).

Табл. 3. Статистической обработки экспериментальных данных применительно к объему титранта  $V_{\text{мл}}(\text{NaOH})$

Варианта, $V_{(\text{NaOH}) i}$	$d_i$ $= V_i - \bar{V}$	$d_i^2$	$S^2$	$S_{\bar{v}}^2$	$\varepsilon$
$V_1 = 4,2$	0,08	0,0064	Рассчитываем по формуле: $\frac{\sum d_i^2}{n-1} = \frac{0,068}{4}$ $= 0,017$	Рассчитываем по формуле: $\frac{S^2}{n} = \frac{0,017}{5}$ $= 0,0034$	$S_{\bar{v}} \cdot t_v =$ $= \sqrt{S_{\bar{v}}^2} \cdot t_v$ $= 0,058 \cdot 2,8$ $= 0,162$
$V_2 = 4,0$	-0,12	0,0144			
$V_3 = 4,3$	0,18	0,0324			
$V_4 = 4,1$	-0,02	0,0004			
$V_5 = 4,0$	-0,12	0,0144			
$\bar{V} = \frac{\sum V_i}{5} = 4,12$		$\sum d_i^2 = 0,068$			

Табл.4. Значения коэффициента Стьюдента (t-критерия) для двух уровней значимости (или доверительной вероятности)  $p$  в зависимости от числа степеней свободы  $f$

$f = n-1$	$p$	
	0,05	0,01
1	12.7	63.6
2	4.3	9.9
3	3.2	5.8
4	<b>2.8</b>	4.6
5	2.6	4.0

Таким образом, результат стат. обработки показывает допустимые значения объемов титранта  $V_i(\text{NaOH})$  в интервале  $\bar{V} \pm \varepsilon$ :  $4,12 \pm 0,16$ . То есть, с вероятностью 95% истинные значения объемов щелочи находятся в интервале:  $3,96 < V_i < 4,28$ .

Если какое-то значение варианты (в нашем случае объема щелочи) не попадает в указанный интервал, то оно выбраковывается, а оставшиеся значения снова подвергаются стат. обработке. Наши же значения объемов  $V_i(\text{NaOH})$  (с учетом округления) все попадают в найденный интервал.

*Ответ:* с учетом стандартного отклонения среднего  $S_{\bar{v}}$ :  $V(\text{NaOH}) = 4,12 \pm 0,058$ ; а с учетом ошибки среднего  $\varepsilon$ :  $V(\text{NaOH}) = 4,12 \pm 0,16$ .

Студенты могут проводить статистическую обработку данных применительно к расчетному значению  $C_9(\text{NaOH})$ .

### Вопросы для защиты лабораторной работы.

1. Какие реакции, лежат в основе метода определения точной концентрации NaOH?
2. Для чего устанавливают титр NaOH?
3. Почему титр NaOH уточняют по щавелевой кислоте? Можно ли использовать для этой цели другой рабочий раствор?
4. Можно ли щавелевую кислоты использовать в качестве титранта?
5. Какая разница между стандартным рабочим раствором и титрованным рабочим раствором?
6. Как устанавливается точка эквивалентности в данной реакции?
7. Как обосновать выбор индикатора фенолфталеина?
8. Какая форма титрования используется в данной работе?
9. Привести примеры расчетов различных видов концентраций NaOH, его количества или массы, опираясь на закон эквивалентов, на основе данных проведенного эксперимента.
10. Предложите рабочий раствор для установки титра HCl. Напишите соответствующую реакцию.
11. Предложите метод определения аммиака с использованием обратного титрования. Напишите реакции, лежащие в основе этого метода. Как будете устанавливать точку эквивалентности в этом случае? Назовите все рабочие растворы. Напишите расчетные формулы для определения различных видов концентраций аммиака в этом методе, его массы.
12. Индикаторы в методе титрования. Исходя из определения, сделайте выход на их характеристики (pT, зона перехода цвета). Принцип действия кислотно-основного индикатора.
13. Какой индикатор следует применить при титровании:
  - а) слабых оснований сильными кислотами;
  - б) слабых кислот сильными основаниями?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2

### Применение метода нейтрализации (кислотно-основного титрования) для определения кислотности желудочного сока.



#### Теоретическая часть

Желудочный сок в просвете желудка имеет кислую **pH**: натощак в норме у взрослого человека примерно 1,5-2 и у новорожденных детей  $\approx$  3-4. После приёма пищи pH ещё ниже. Главный неорганический компонент желудочного сока – **соляная кислота**, которая вырабатывается обкладочными (париетальными) клетками желудка и находится в просвете желудка в свободном и связанном состоянии (главным образом с белками). Она поддерживает определенный уровень кислотности в желудке, препятствует проникновению в организм болезнетворных микроорганизмов и подготавливает пищу к эффективному гидролизу. Соляная кислота имеет постоянную и неизменную концентрацию – 160 ммоль/л.

Кроме белков в желудочном соке присутствуют и другие слабые кислоты: гидрокарбонаты, гидросульфаты, дигидро- и гидрофосфаты, фосфорная кислота, уксусная, молочная, пировиноградная, масляная, яблочная и некоторые другие. Поэтому различают *три вида кислотности*: **свободную** (или активную кислотность, обусловленную концентрацией свободных  $H^+$ ), **связанную** (или потенциальную, обусловленную наличием недиссоциированных в кислой среде желудка слабых кислот) и **общую** (суммарное содержание всех кислот).

В лабораториях кислотность желудочного сока выдается в титриметрических единицах.

Под **титриметрическими единицами** подразумевают объём (в мл) 0,1э раствора NaOH, необходимый для нейтрализации кислот в 100 мл желудочного сока.

На исследование берут не 100 мл желудочного сока, а 5-10 мл, и титруют не 0,1э NaOH, а обычно меньшей его концентрацией ( $\approx$  0,09э). Поэтому при расчёте кислотности желудочного сока в **титриметрических единицах** придется делать две поправки: на необходимый по условию объём желудочного сока (100 мл) и на необходимую по условию концентрацию раствора NaOH (0,1э).

С учётом этих поправок можно вывести **общую формулу для расчёта кислотности желудочного сока**:

$$\text{Кислотность ж. с.} = V_{\text{NaOH}}^{0.1\text{э}, 100} = 10C_3(\text{NaOH}) \cdot 100 \frac{V_{\text{NaOH}}^T}{V(\text{ж.сока})}, \quad \text{титр. ед.},$$

где  $V_{\text{NaOH}}^{0.1\text{э}, 100}$  – это параметры щёлочи согласно определению титриметрических единиц;  $V_{\text{NaOH}}^T$  – объём NaOH, затраченный на титрование

взятой на исследование пробы желудочного сока (5-10 мл, например);  
 $C_3(\text{NaOH})$  – концентрация рабочего раствора NaOH.

Если титрованный раствор NaOH окажется таким, какой необходим по условию – 0,1 моль/л, а объём желудочного сока, взятый на исследование  $V_{(\text{ж.сока})} = 5$  мл, то формула для расчёта кислотности упрощается:

$$\text{Кислотность ж. с. } V_{\text{NaOH}}^{0.1\%, 100} = 10 \cdot 0,1 \cdot 100 \frac{V_{\text{NaOH}}^T}{5} = 20 \cdot V_{\text{NaOH}}^T, \text{ титр. ед.}$$

Эти формулы применяют для определения любого вида кислотности желудочного сока: **свободной кислотности** (в присутствии метилового желтого, он же диметиловый желтый или 4-диметиламиноазобензол) или **общей кислотности** (в присутствии фенолфталеина, он же 4,4'-диоксифталофенон). В этом случае **связанную кислотность** определяют по разности общей и свободной кислотности.

*В норме (у здорового взрослого человека) общая кислотность составляет 40 ÷ 60 т.е., а свободная кислотность составляет 20 ÷ 40 т.е.*

**Цель работы.** Определить свободную, связанную и общую кислотности желудочного сока в титриметрических единицах методом нейтрализации и сравнить эти данные с соответствующими данными для здорового человека.

**Принцип метода.** При титровании желудочного сока титрованным рабочим раствором NaOH в присутствии двух индикаторов сначала оттитровывается свободная HCl, а затем малодиссоциируемые соединения.

#### **Реакции, лежащие в основе метода:**

1)  $\text{H}^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{HON}$  ( $\text{pH}_3$  кажущаяся 7,0;  $\text{pH}_3$  фактическая ~3,5 – это pH растворов малодиссоциируемых кислот, которые на первой стадии не должны оттитровываться). Точка эквивалентности устанавливается с помощью метилового желтого (зона перехода цвета этого индикатора pH 3,0 ÷ 4,0).

2)  $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{HON} + \text{CH}_3\text{COO}^-$  ( $\text{pH}_3$  ~8,7 в соответствии с незначительной обратной реакцией гидролиза соли по аниону). Точка эквивалентности устанавливается с помощью фенолфталеина (зона перехода цвета этого индикатора pH 8,2 ÷ 10,0)

#### **Оборудование и реактивы:**

1. Бюретки, воронки.
2. Пипетки на 5 мл.
3. Колбочки конические для титрования.
4. Желудочный сок (отфильтрованный).
5. Титрованный раствор NaOH (концентрацию которого заранее уточняли).
6. Индикаторы: спиртовые растворы 0,1% фенолфталеина и 0,1% метилового желтого.



## Практическая часть

### Порядок выполнения работы:

1. Заполнить бюретку титрованным раствором NaOH.
2. Отмерить пипеткой 5 мл желудочного сока, перенести в колбу для титрования.
3. Прибавить в колбу с желудочным соком по капле оба индикатора (фенолфталеин и метиловый желтый): появится ярко-красное окрашивание, обусловленное метиловым желтым, что указывает на присутствие свободной HCl.
4. Титровать раствором NaOH пока красная окраска раствора не сменится на *оранжевую* – сработает метиловый желтый (зона перехода цвета индикатора в области pH 3,0÷4,0). По бюретке *отмечаем объём щёлочи*, пошедшей на титрование (он эквивалентен содержанию свободной HCl). И если его ввести в формулу для расчёта кислотности, то получим *свободную кислотность* желудочного сока в титриметрических единицах.
5. Продолжаем титровать, *оранжевая окраска раствора сменится на желтую* (эту окраску даст метиловый желтый при выходе pH за зону его перехода цвета, т.е. pH > 4,0, см. рис.1), а затем появится снова *оранжевая окраска* (при входе в зону pH перехода цвета фенолфталеина 8,2÷10,0 (см. рис.1), где произойдет наложение окраски желтого цвета от метилового желтого и розового цвета от фенолфталеина). В этот момент прекращаем титрование и фиксируем объём щелочи (от нуля бюретки), пошедшей на титрование до появления *второй оранжевой окраски* (в сумме он эквивалентен содержанию всех кислотообразующих соединений). И если этот объём ввести в формулу для расчёта кислотности, то получим *общую кислотность* желудочного сока в титриметрических единицах.
6. Посчитаем *связанную кислотность* как разность между общей и свободной кислотностью.
7. Титрование провести 5 раз и каждый раз рассчитывать свободную, общую и связанную кислотности желудочного сока в титриметрических единицах. Результаты титрования и расчёты занести в таблицу.

Таблица 5. Данные титрования желудочного сока рабочим раствором NaOH

№	V <sub>пробы</sub> (желуд. сок), мл	C <sub>э</sub> (NaOH) титрованный, моль/л	V <sub>NaOH</sub> <sup>М.ж.</sup> , мл *	V <sub>NaOH</sub> <sup>Ф</sup> , мл (от нуля бюретки) *	V <sub>NaOH</sub> <sup>0.1э,100 (м.ж.)</sup> (свободная к-ть), титр.ед. *	V <sub>NaOH</sub> <sup>0.1э,100 (ф)</sup> (общая к-ть), титр.ед.*	Связанная кислотность, титр.ед
1	5	0,09					
2	5	0,09					

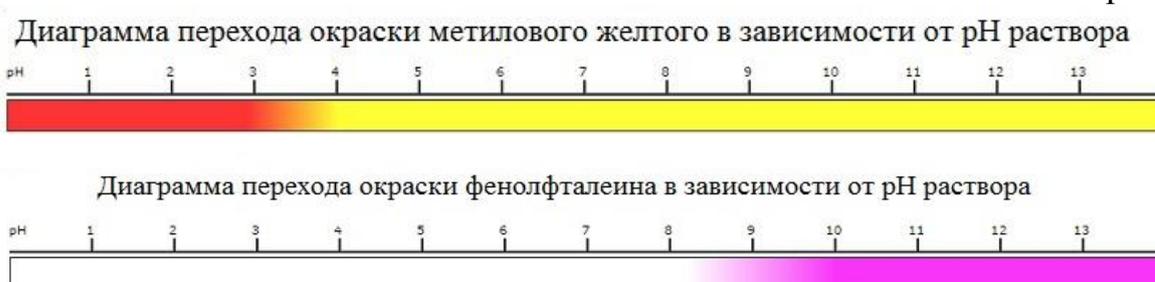
3	5	0,09					
4	5	0,09					
5	5	0,09					

\* При желании можно провести статистическую обработку любого экспериментально полученного параметра и выдать результат в виде  $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$  или  $\bar{X} \pm \varepsilon$  (см. предыдущую лабораторную работу).

**Обозначения** в таблице: м.ж. – метиловый желтый, ф – фенолфталеин, титр.ед. – титриметрические единицы.

8. Сделать выводы, сопоставляя средние значения полученных параметров с параметрами кислотности желудочного сока у здорового взрослого человека.

**Рис. 1.** Диаграммы перехода окраски индикаторов в зависимости от pH раствора



**Примеры расчётов:** допустим, на титрование 5 мл отфильтрованного желудочного сока с метиловым желтым израсходовали 1,3 мл 0,09э раствора NaOH, а с фенолфталеином (считая от нуля бюретки) – 3 мл титранта.

**Свободная кислотность** (в титр. ед.), обусловленная содержанием соляной кислоты, равна:

$$V_{\text{NaOH}}^{0.1\text{э}, 100 \text{ (м.ж.)}} = 10 \cdot 0,09 \cdot 100 \cdot \frac{1,3}{5} = 23,4 \text{ т. е.}$$

**Общая кислотность** (в титр. ед.), обусловленная содержанием как соляной кислоты, так и различными видами слабых кислот, равна:

$$V_{\text{NaOH}}^{0.1\text{э}, 100 \text{ (ф)}} = 10 \cdot 0,09 \cdot 100 \cdot \frac{3,0}{5} = 54 \text{ т. е.}$$

**Связанная кислотность** (в титр. ед.), обусловленная наличием недиссоциированных слабых кислот, равна разности между общей и свободной кислотностями желудочного сока:  $54 - 23,4 = 30,6$  т. е.

### Вопросы для защиты лабораторной работы.

1. Составляющие кислотности желудочного сока (или ее фракции: общая, свободная, связанная кислотность) и их определение.
2. Единицы измерения кислотности желудочного сока и формулы для расчетов.

3. Для чего при исследовании кислотности желудочного сока используются два индикатора?
4. Какие реакции лежат в основе метода определения двух фракций кислотности желудочного сока?
5. Обосновать выбор индикатора метилового желтого для определения свободной кислотности.
6. Обосновать выбор индикатора фенолфталеина для определения связанной кислотности.
7. Какую кислотность желудочного сока можно определить, используя только один индикатор – фенолфталеин?
8. Почему при титровании желудочного сока щелочью в присутствии двух индикаторов раствор в колбочке для титрования приобретает оранжевую окраску и в первой, и во второй точке эквивалентности? Для ответа используйте диаграммы перехода окраски индикаторов (рис.1)
9. Каковы значения кислотности желудочного сока у взрослого здорового человека?
10. При каких заболеваниях может быть повышена общая кислотность за счет свободной? При каких заболеваниях может наблюдаться понижение кислотности желудочного сока?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3

### **Кисотно-основные буферные растворы. Приготовление буферных растворов по заданному рН. Применение метода нейтрализации (кисотно-основного титрования) для определения буферной емкости сыворотки крови. Исследование влияния разбавления на рН и буферную емкость.**



#### **Теоретическая часть**

Буфер как сопряженная кислотно-основная пара характеризуется определенным значением  $pK_a$ . Если компоненты сопряженной кислотно-основной буферной пары будут находиться в соотношении 1:1, то буфер будет поддерживать рН в точке  $pK_a$ . Это видно из уравнения Гендерсона-Гассельбаха:

$$pH_{\text{буфера}} = pK_a(\text{кислота/основание}) + \lg \frac{[\text{основание}]}{[\text{кислота}]},$$

где квадратные скобки обозначают равновесную молярную концентрацию компонента.

Из этого же уравнения следует: если один из компонентов буфера преобладает над другим в 10 раз (что допустимо по определению буфера),

то буфер будет поддерживать рН в зоне  $pK_a \pm 1$ . Эту зону называют зоной буферного действия.

При выборе буфера руководствуются тем, чтобы его  $pK_a$  была как можно ближе к требуемому значению рН, поскольку такой буфер будет иметь примерно одинаковое содержание своих компонентов и в одинаковой степени эффективности защищать от сильных кислот и щелочей.

Если равновесные молярные концентрации в буферном уравнении заменить на аналитические, то буферное уравнение примет вид:

$$pH_{\text{буфера}} = pK_a(\kappa/o) + \lg \frac{C_o \cdot V_o}{C_{\kappa} \cdot V_{\kappa}}$$

Это уравнение используют на практике для расчета объемов растворов компонентов (кислотного и основного), из которых будет готовиться буфер с заданным рН.

Способность буферных растворов поддерживать постоянство рН (в зоне буферного действия  $pH = pK_a(\kappa/o) \pm 1$ ) неограничена. Она характеризуется буферной емкостью.

**Буферная ёмкость ( $V$ )** – это количество эквивалентов сильного электролита, которое надо прилить к 1 л буфера, чтобы изменить его рН на единицу.

$$\text{Отсюда, общая формула для расчета: } V = \frac{C_{\text{э}} \cdot V(\text{сильн.электролита})}{V(\text{буфера}) \cdot |\Delta pH|}, \text{ (моль/л),}$$

где  $|\Delta pH|$  – это разность (по абсолютной величине) между исходным значением рН буфера ( $pH_1$ ) и каким-либо фиксированным с помощью индикатора значением ( $pH_2$ ) после добавления сильного электролита:

$$|\Delta pH| = |pH_2 - pH_1|$$

*Различают буферную ёмкость по кислоте  $V_a$  и буферную ёмкость по основанию  $V_b$ .*

**Буферная ёмкость по кислоте  $V_a$**  – это количество эквивалентов сильной кислоты (обычно HCl), которое надо прилить к 1 л буфера, чтобы уменьшить его рН на единицу. Отсюда, формула для расчета:

$$V_a = \frac{C_{\text{э}} \cdot V(\text{сильн.кислоты})}{V(\text{буфера}) \cdot |\Delta pH|}, \text{ моль/л}$$

**Буферная ёмкость по основанию  $V_b$**  – это количество эквивалентов сильного основания (обычно NaOH), которое надо прилить к 1 л буфера, чтобы увеличить его рН на единицу. Отсюда, формула для расчета:

$$V_b = \frac{C_{\text{э}} \cdot V(\text{сильн.основания})}{V(\text{буфера}) \cdot |\Delta pH|}, \text{ моль/л}$$

Буферная емкость напрямую зависит от концентрации компонентов, составляющих буфер: чем больше концентрация кислотного (основного) компонента, тем выше буферная емкость по основанию (кислоте). Сравнивая

буферную емкость по кислоте и по основанию, можно судить, какой компонент буфера преобладает.

Судя по рН крови у здоровых людей (7,4 – и это больше, чем  $pK_a$  главных буферных систем плазмы крови), можно предположить преобладание в крови основных компонентов (гидрокарбонатов  $\text{HCO}_3^-$ , гидрофосфатов  $\text{HPO}_4^{2-}$  и др.) над кислотными (соответственно, угольной кислотой  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , дигидрофосфатами  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  и др.). Это позволило говорить о так называемом «щелочном резерве» организма. Наличие «щелочного резерва» имеет биологический смысл, поскольку позволяет предупреждать закисление организма продуктами катаболизма, главным образом, кислотного характера (это молочная кислота, пировиноградная кислота, углекислота, фосфорная кислота, щавелевая кислота, мочевиная кислота, аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты и др.). В наличии «щелочного резерва» организма можно убедиться и при исследовании буферной емкости крови.

В норме у здорового человека в сыворотке крови  $V_a=29$  ммоль/л,  $V_b=12$  ммоль/л.

**Цель работы:** 1) Выбрать подходящий буфер по заданному значению рН, приготовить его и исследовать влияние разведения буфера на рН. 2) Определить буферную ёмкость сыворотки крови по кислоте и по основанию методом нейтрализации и сравнить эти показатели между собой, а также с нормальными показателями. Установить влияние разведения на буферную емкость.

#### **Оборудование и реактивы.**

1. Бюретки
2. Пипетки на 5 мл и груши
3. Колбочки конические для титрования
4. Химические стаканчики, мензурки
5. Уксусная кислота  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,1М
6. Ацетат натрия  $\text{CH}_3\text{COONa}$  0,1 М
7. Дигидрофосфат натрия  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,1М
8. Гидрофосфат натрия  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,1 М
9. Гидроксид натрия  $\text{NaOH}$  0,1э
10. Соляная кислота  $\text{HCl}$  0,1 э
11. Индикаторы: спиртовые растворы 0,1% фенолфталеина и 0,1% метилового желтого.
12. Универсальная индикаторная бумага



## Практическая часть

**Задача 1.** Выбрать и приготовить подходящий буфер в объеме 20 мл для поддержания заданного значения рН.

*Порядок выполнения задачи (опыта) №1:*

- 1) Получить от преподавателя индивидуальные значения рН.
- 2) С учетом этого значения рН выбрать подходящий буфер из двух представленных: ацетатного -  $pK_a$  4,8 и фосфатного –  $pK_a$  6,8.
- 3) Рассчитать объемы компонентов выбранного буфера с учетом того, что концентрации компонентов одинаковы.
- 4) Отмерить пипеткой (или мензуркой) рассчитанные объемы кислотного и основного компонентов буфера и перенести их в стаканчик. Перемешать.
- 5) Определить рН приготовленного буфера по индикаторной бумажке и использовать этот буфер для решения задачи 2.

**Задача 2.** Выяснить и объяснить, что произойдет с рН буфера при разбавлении его водой.

*Порядок выполнения задачи (опыта) №2:*

- 1) В отдельный стаканчик отмерить пипеткой 1 мл буферного раствора, приготовленного в первом опыте. Это будет *опытная* проба. Исходный буфер послужит *контролем*.
- 2) Разбавить опытную пробу водой в 10 раз.
- 3) С помощью индикаторной бумажки определить рН в опытной пробе и полученное значение сравнить с контролем.
- 4) Сделать вывод и объяснить результат.

**Задача 3.** Определить буферную емкость сыворотки крови по кислоте и по основанию, используя метод нейтрализации.

*Порядок выполнения задачи (опыта) №3:*

- 1) Заполнить бюретку титрованным (0,1э) раствором HCl.
- 2) В две колбы для титрования внести пипеткой по 5 мл сыворотки крови, рН которой 7,4.
- 3) В одну из колб прибавить 2-3 капли индикатора метилового желтого и титровать из бюретки раствором HCl до появления оранжевой окраски ( $pH \approx 3,4$ ).
- 4) По бюретке отметить объем израсходованной кислоты и, зная её концентрацию, рассчитать буферную емкость сыворотки крови по кислоте.
- 5) Слить из бюретки раствор HCl и промыть бюретку водой.
- 6) Заполнить бюретку титрованным (0,1э) раствором NaOH.
- 7) Во вторую колбу с сывороткой крови прибавить 2 капли фенолфталеина и титровать из бюретки раствором NaOH до появления малиновой окраски ( $pH \approx 9,4$ ).

8) Отметить по бюретке объём потраченной щёлочи и, зная его концентрацию, рассчитать буферную ёмкость сыворотки крови по основанию.

9) Убедиться, что буферная ёмкость сыворотки крови по кислоте больше, чем буферная ёмкость по основанию. Сравнить с нормами и сделать вывод.

*# Если необходимо выяснить ошибку эксперимента, то каждое титрование следует повторять пять раз и сделать статистическую обработку результатов по необходимому параметру (см. Лабораторную работу №1, стр. 13).*

**Задача 4.** Выяснить и объяснить, что произойдет с буферной емкостью сыворотки крови при разбавлении ее водой.

*Порядок выполнения задачи (опыта) №4:*

1) Развести 5 мл сыворотки крови в 2 раза водой. Разделить пробу на две части.

2) Одну часть протитровать титрованным раствором HCl в присутствии индикатора метилового желтого, а другую часть – титрованным раствором NaOH в присутствии фенолфталеина. Записать объемы титрантов, потраченные на титрование, и рассчитать буферные емкости сыворотки крови по кислоте и по основанию.

3) Сделать выводы и обосновать влияние разведения сыворотки на буферную емкость.

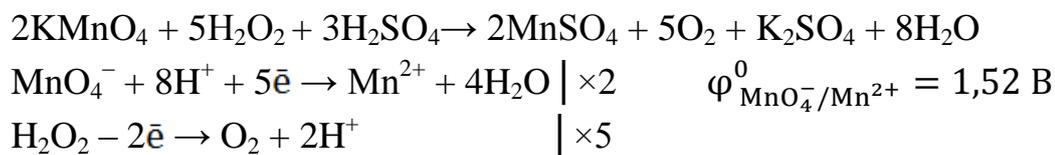
#### **Вопросы для защиты лабораторной работы.**

1. От чего зависит рН буферного раствора?
2. Каким будет значение рН буферного раствора, если кислота и сопряженная ей основание содержатся в эквимольных количествах (т. е их равновесные молярные концентрации в буфере одинаковы)?
3. Каким будет значение рН буферного раствора при преобладании кислоты или основания?
4. При каких значениях рН буфер будет в одинаковой степени защищать от сильных кислот и сильных оснований (т.е. иметь оптимальную буферную емкость)?
5. Как правильно выбрать буфер для поддержания требуемого рН?
6. Как рассчитать соотношение объемов исходных компонентов буфера по заданному рН, если аналитические концентрации этих компонентов одинаковы? Какой параметр нужно задать дополнительно, чтобы рассчитать объем каждого компонента буфера?
7. Какую общую формулу можно использовать для расчета объема кислотного компонента буфера.
8. Почему при добавлении к буферу воды рН не меняется?
9. Для чего определяют буферную емкость по кислоте, по основанию?



(окислители), стандартный окислительно-восстановительный потенциал которых  $\varphi^0$  больше **0,68 В**.

Например, в реакциях с очень сильными окислителями ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{KClO}_3$ ) пероксид водорода выступает в качестве восстановителя:



Фактор эквивалентности  $f_3$  (эквивалент) равен  $\frac{1}{z}$ , где  $z$  – количество принятых или отданных электронов. Перманганат-ион в данной реакции принимает  $5\bar{e}$ , следовательно,  $f_3(\text{MnO}_4^-) = 1/5$ . Что касается пероксида водорода, то он отдает 2 электрона, следовательно,  $z(\text{H}_2\text{O}_2) = 2$ , а эквивалент восстановителя  $\frac{1}{z}(\text{H}_2\text{O}_2) = \frac{1}{2}$

Приведенная выше полуреакция для перманганат-иона лежит в основе метода титриметрического анализа, называемого перманганатометрией. А суммарная реакция отражает принцип определения пероксида водорода методом перманганатометрии путем прямого титрования. В качестве титранта используется титрованный 0,02э раствор перманганата калия  $\text{KMnO}_4$ . Титрование проводят в сильноокислых, чаще всего серноокислых растворах. Кислоты  $\text{HCl}$  и  $\text{HNO}_3$  не применяют, т. к. в присутствии этих кислот могут протекать конкурирующие окислительно-восстановительные реакции. В кислой среде легко устанавливается точка эквивалентности: здесь сам титрант  $\text{KMnO}_4$  является индикатором, поскольку продукт его восстановления ион  $\text{Mn}^{2+}$  бесцветный, и на его фоне хорошо заметна лишняя капля титранта  $\text{KMnO}_4$ , окрашивающая титруемый раствор в колбочке в розовый цвет.

Прямым титрованием в перманганатометрии определяют любые восстановители с потенциалом в своей сопряженной редокс-паре  $\varphi^0(\text{ox/red}) < +1,52 \text{ В}$ .

Есть и другие варианты использования метода перманганатометрии – это обратное и косвенное титрование. Так, обратным титрованием (титрованием по избытку) определяют окислители с потенциалом в своей сопряженной редокс-паре  $\varphi^0(\text{ox/red}) \approx 1,52 \text{ В}$ . При этом используется вспомогательный стандартный раствор щавелевой кислоты  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (или ее натриевой соли  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ), обладающий восстановительными свойствами:  $\varphi^0(\text{ox/red}) = -0,49 \text{ В}$ . Раствор щавелевой кислоты добавляют в избытке, а затем избыток оттитровывают титрованным раствором перманганата калия до появления розовой окраски.

*# Щавелевую кислоту или ее соль используют для установления титра  $\text{KMnO}_4$ , раствор которого точно приготовить не представляется*

возможным. Можно для этой же цели использовать соль Мора  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ , где роль восстановителя играют ионы  $\text{Fe}^{2+}$ .

В медицинской практике перманганатометрический метод применяется для определения содержания мочевой кислоты в моче, сахара в крови, ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в пробе крови, содержания некоторых витаминов в водных средах, а также для определения активности некоторых ферментов, например, каталазы.

**Цель работы:** научиться определять концентрацию фармакопейного препарата раствора пероксида водорода прямым перманганатометрическим титрованием в кислой среде.

### Принцип метода:

Пероксид водорода в кислой среде вызывает восстановление перманганат-иона до катиона марганца, что приводит к обесцвечиванию раствора перманганата калия, который используется в качестве титранта. Лишняя капля перманганата калия окрасит титруемый раствор в розовый цвет, что укажет на конец титрования.

### Реактивы и оборудование:

1. Бюретки, воронки
2. Мерные пробирки на 10 мл и мерная колба на 100 мл
3. Пипетки на 2 (5) мл
4. Колбочки для титрования
5. Рабочий раствор перманганата калия 0,02э  $\text{KMnO}_4$  (титрант, он же индикатор).
6. Раствор серной кислоты 2э.
7. Фармакопейный раствор перекиси водорода 3%.
8. Дистиллированная вода.



### Практическая часть

#### Порядок выполнения работы.

1. Исследуемый раствор пероксида водорода разбавить дистиллированной водой в 100 раз. Для этого 1 мл  $\text{H}_2\text{O}_2$  перенести пипеткой в мерную колбу на 100 мл и объём долить до метки дистиллированной водой.

*Необходимость разбавления.* Так как фармакопейный препарат  $\text{H}_2\text{O}_2$  имеет концентрацию 3%, то  $C_3(\text{H}_2\text{O}_2) = \frac{C\% \cdot 10\rho}{M(\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}_2)} = \frac{3 \cdot 10 \cdot 1}{34:2} \approx 1,8$  моль/л, и это превышает  $C_3 \text{KMnO}_4$  (титрант) в 90 раз ( $\frac{1,8}{0,02}$ ). На титрование 5 мл такого раствора пероксида потребовался бы объём  $\text{KMnO}_4$ :

$$V(\text{KMnO}_4) = \frac{C_3 \cdot V(\text{H}_2\text{O}_2)}{C_3(\text{KMnO}_4)} = \frac{1,8 \cdot 5}{0,02} = 450 \text{ мл,}$$
 что не согласуется с принципами титрования.

Если же фармакопейный 3% раствор пероксида водорода разбавить в 100 раз, то его концентрация уменьшится в 100 раз и на титрование тех же 5 мл гидропероксида потребуется в 100 раз меньший объем раствора  $\text{KMnO}_4$ , т.е. всего 4,5 мл. Это тот объем, на который можно ориентировать титриметрический анализ.

2. Заполнить бюретку рабочим раствором  $\text{KMnO}_4$ .

3. В колбу для титрования внести пипеткой 5 мл разбавленного раствора пероксида водорода и в эту же колбу прилить *мерной пробиркой* 3÷5 мл раствора 2э  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

4. Исследуемый подкисленный раствор  $\text{H}_2\text{O}_2$  оттитровать 0,02э раствором  $\text{KMnO}_4$  до появления стойкого розового цвета. Титрование повторить 5 раз. Результаты оформить в виде таблицы.

Табл. 6. Результаты титрования разбавленного в 100 раз фармакопейного раствора пероксида водорода рабочим раствором  $\text{KMnO}_4$ .

№ опыта	$V(\text{H}_2\text{O}_2)_{\text{разб}}$ , мл	$C_3(\text{KMnO}_4)$ , моль/л	$V(\text{KMnO}_4)$ , мл
1	5,0	0,02	
2	5,0	0,02	
3	5,0	0,02	

5. По среднему объёму перманганата калия  $\bar{V}(\text{KMnO}_4)$  рассчитать массовую долю фармакопейного (неразбавленного) раствора пероксида водорода  $C\%(\text{H}_2\text{O}_2)_{\text{фарм}}$ , принимая  $\rho_{(\text{H}_2\text{O}_2)_{\text{разб}}} = 1 \text{ г/мл}$ .

6. Оформить отчёт о лабораторной работе:

а) название работы, принцип метода, реакция в основе метода, титрант и индикатор, вид титрования, молярные массы эквивалентов окислителя и восстановителя в данной реакции, формулы для расчета  $C\%(\text{H}_2\text{O}_2)_{\text{фарм}}$ ;

б) сделать вывод о пригодности исследуемого фармакопейного препарата.

### Вопросы для защиты лабораторной работы.

1. Что и как можно определять методом перманганатометрии?
2. Принцип метода и реакция, лежащая в основе определения гидропероксида водорода прямым титрованием его раствора рабочим раствором перманганата калия.
3. Как устанавливается точка эквивалентности в перманганатометрии?
4. Какие свойства пероксида водорода проявляются при прямом титровании его раствора перманганатом калия?

5. Можно ли в принципе использовать для определения гидропероксида водорода методом перманганатометрии обратное титрование? Ответ обосновать.

6. Для чего в методе перманганатометрии используется щавелевая кислота?

7. Почему перманганатометрию проводят в кислой среде (а именно, в среде серной кислоты)?

8. Отражается ли рН среды на титре раствора перманганата калия? Ответ обосновать.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5

### Определение активного хлора в хлорной извести методом йодометрии.



#### Теоретическая часть

**Хлорная известь** (она же белильная известь, попросту хлорка) – представляет собой технический гипохлорид кальция, т.е.  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  с примесями  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  и  $\text{CaCl}_2$  и кристаллизационной воды. Относится к так называемым смешанным солям. Формально ее состав выражают формулой  $\text{Ca}(\text{Cl})\text{OCl}$ . Это белый или слегка сероватый порошок с запахом хлора, частично растворимый в воде. На воздухе (под влиянием углекислоты) **выделяет хлор**, который оказывает дезинфицирующее и антисептическое действие, являясь сам по себе сильным окислителем, а при взаимодействии с водой образует новый окислитель – хлорноватистую кислоту  $\text{HOCl}$ , которая, в свою очередь, неустойчива и при разложении производит атомарный кислород (сильнейший окислитель).

Дезинфицирующая способность хлорной извести зависит от процентного содержания активного хлора. В зависимости от марки и сорта массовая доля активного хлора в технической хлорной извести составляет от 27% до 35% (свежая хлорная известь может содержать до 30-38% активного хлора). По государственной фармакопее в хлорной извести, поступающей в продажу, должно содержаться не менее 25 % активного хлора. Хлорная известь, в которой меньше 15% активного хлора, для дезинфекции непригодна.

Применяют хлорную известь для дезинфекции сточных вод, медицинских и сельскохозяйственных помещений при ящуре, туберкулезе, сибирской язве, контагиозной плевропневмонии и многих других заболеваниях. Добавление кислот и натрия хлорида в растворы и взвеси хлорной извести усиливает ее бактерицидность. В лаборатории ее можно использовать для получения хлора

Из-за медленного разложения, особенно во влажном состоянии, она всегда пахнет хлором. При хранении хлорной извести теряется до 10% активного хлора в год. Разложение ускоряется с повышением влажности и температуры, при освещении, в присутствии тяжелых металлов и углекислого газа. Раствор хлорной извести, стоящий на солнечном свете, за сутки теряет до 5% активного хлора.

В присутствии воздуха, солнечного света, тепла и влаги, а также органических примесей (древесных опилок, угольной пыли, масла) и металлов, действующих каталитически (железо, медь, цинк, олово, кобальт, никель), известь разлагается, что иногда сопровождается самовозгоранием со вспышкой и взрывом. Поэтому *нужно соблюдать условия ее хранения.*

Хлорная известь обесцвечивает ткани, вызывает коррозию металлов, раздражает дыхательные пути, глаза, кожу и зубную эмаль, при работе с ней необходимо также соблюдать меры предосторожности.

**Цель работы:** Определить процентное содержание активного хлора в хлорной извести методом иодометрии и выяснить пригодность извести для практического использования путем сравнения с фармакопейным ГОСТом.

В иодометрии окислители с потенциалом в своей сопряженной паре более 0,54 В определяют косвенным титрованием. В данном случае будем исходить из сопряженной пары  $Cl_2/2Cl^-$ : ее стандартный редокс потенциал  $\varphi_{Cl_2/2Cl^-}^0 = +1,36$  В ( $z_{ox} = 2$ ), что указывает на возможность определять  $Cl_2$  косвенным иодометрическим титрованием с использованием в качестве восстановителя иодид-анионы ( $\varphi_{I_2/2I^-}^0 = +0,54$  В).

**Принцип метода.** К хлорактивному соединению (хлорной извести), подкисленному соляной кислотой, добавляют избыток иодида калия KI, а образовавшийся продукт реакции  $I_2$  (который хорошо растворяется в избытке KI) титруют тиосульфатом натрия  $Na_2S_2O_3$  известной концентрации в присутствии крахмала (индикатора на иод).

#### Основные реакции метода:



# Продуктом окисления тиосульфат-иона в последней реакции является тетраионат-ион  $S_4O_6^{2-}$ ;  $\varphi_{S_4O_6^{2-}/2S_2O_3^{2-}}^0 = +0,20$  В ( $z_{red} = 1$ ).

# Точка эквивалентности устанавливается с помощью индикатора крахмала, который в присутствии иода синее, а когда исчезает иод, исчезает и синяя окраска крахмала.

# Количество эквивалентов тиосульфата натрия косвенно равно количеству эквивалентов хлора, выделенного из хлорактивного соединения под действием кислоты (в первой реакции). Поэтому рассчитать массу активного хлора в пробе, взятой для титрования  $m^T(Cl_2)$ , несложно:

$$m^T(Cl_2) = \frac{M(Cl_2)}{z(Cl_2)} \cdot C_3(Na_2S_2O_3) \cdot V_n(Na_2S_2O_3), \text{ г}$$

А затем эту массу надо будет пересчитать на навеску хлорной извести  $m^\Sigma(CaOCl_2)$ . Для этого, зная объем раствора, в котором была растворена навеска  $V^\Sigma(CaOCl_2)$  и объем пробы, взятой на титрование  $V^T(CaOCl_2)$ , найдем всю массу активного хлора в навеске:  $m^\Sigma(Cl_2) = \frac{m^T(Cl_2) \cdot V^\Sigma(CaOCl_2)}{V^T(CaOCl_2)}$ .

Остается вычислить процентное содержание активного хлора в хлорной извести:  $\omega\%(Cl_2) = \frac{m^\Sigma(Cl_2) \cdot 100}{m^\Sigma(CaOCl_2)}$ .

Итак, рабочими растворами являются: раствор **йодида калия** и раствор титрованного **тиосульфата натрия  $Na_2S_2O_3$** . Индикатор – крахмал.

#### **Оборудование и реактивы:**

1. Мерные колбы вместимостью 50, 100 мл.
2. Пипетки.
3. Стеклоаные пробирки объёмом 20 мл.
4. Бюретки.
5. Вода дистиллированная.
6. Раствор йодида калия KI 10%-ный.
7. Раствор соляной кислоты HCl 4э.
8. Титрованный рабочий раствор тиосульфата натрия  $Na_2S_2O_3$  0,02 э.
9. Раствор крахмала 5%-ный.



#### **Практическая часть**

##### **Порядок выполнения работы.**

- 1) Полученную навеску белильной извести переносят в фарфоровую ступку, добавляют 10-20 мл воды дистиллированной и растирают пестиком до образования однородной массы. Затем полученную массу тщательно смывают дистиллированной водой в мерную колбу ёмкостью 100 мл и добавляют дистиллированной воды до метки.

- 2) Из приготовленной суспензии берут пипеткой 10 мл и вносят в колбу на 50 мл. Сюда же приливают 10 мл 10% раствора йодистого калия и 10-15 капель концентрированной соляной кислоты.
- 3) Хлор, выделяющийся из хлорсодержащих препаратов, вытесняет эквивалентное количество йода. Содержимое в колбе окрашивается в интенсивный жёлтый цвет. Через 5 мин выделившийся йод титруют раствором  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  до соломенно-желтого цвета, добавляют 2-3 капли 5% раствора крахмала и продолжают титрование до полного обесцвечивания раствора (исчезновения синей окраски).
- 4) Повторить титрование 3 раза. Для расчета взять средний объем тиосульфата.
- 5) Рассчитать процентное содержание активного хлора в белильной извести (массовую долю активного хлора в навеске не путать с процентной концентрацией хлора в суспензии):
  - б) Оформить отчёта о лабораторной работе:
    - 7) а) указать метод и вид титрования; написать все уравнения реакции в молекулярном виде, составить для каждой ионно-электронный баланс, написать формулы молярных масс эквивалентов окислителей и восстановителей в данных реакциях;
    - 8) б) сделать вывод о пригодности белильной извести (стандартная хлорная известь должна содержать не менее 25% активного хлора).

### **Вопросы для защиты лабораторной работы.**

1. Какими свойствами обладает хлорная известь? С чем связаны эти свойства?
2. Где применяется хлорная известь?
3. Как оценивается содержание активного хлора в белильной извести?
4. Основные реакции и рабочие реактивы метода косвенного йодометрического титрования.
5. Как устанавливается точка эквивалентности в методе йодометрии?
6. Почему метод косвенного титрования называется методом по замещению?
7. В каких условиях осуществляется йодометрия (при любом способе титрования)?
8. Зачем для определения активного хлора в белильной извести применяется соляная кислота?
9. Для чего при косвенном титровании нужна титриметрическая система, если она не участвует в расчетах?
10. Как рассчитывается процентное содержание активного хлора в белильной извести?

### Определение хлоридов в биологической жидкости методом Фольгарда (метод осаждения)



#### Теоретическая часть

Важнейшими анионами внеклеточного пространства являются хлорид-ионы, в нем содержится до 90% общего количества хлора. Они находятся в организме преимущественно в виде солей Na, K, Ca, Mg и играют важную роль в создании осмотического давления, в поддержании кислотно-щелочного равновесия. Основным депо хлора является кожа, подкожная клетчатка и соответствующая межклеточная жидкость, где депонируется от 30 до 60% введенного хлора. В крови хлор встречается главным образом в комплексе с ионами натрия. В эритроцитах ионов хлора в 2 раза меньше, чем в плазме. С мочой выводится до 90%, остальное количество удаляется с потом и калом.

В физиологических условиях изменения концентрации хлора вторичны к изменениям других электролитов и направлены в первую очередь на создание электронейтральности среды. Нескомпенсированная гиперхлоремия приводит к метаболическому ацидозу.

Содержание ионов хлора в плазме крови здоровых людей колеблется в пределах 95 – 110 ммоль/л. Снижение их уровня наблюдается при образовании отеков, скоплении жидкости в полостях, избыточном потоотделении, поносе и др. Увеличение содержания ионов хлора в плазме происходит при обезвоживании, вызванном недостаточным поступлением в организм жидкости, глубоком расстройстве сердечной деятельности и некоторых других состояниях. В норме около 90 % потребляемых хлоридов выводится с мочой (в сутки 8 – 15 г).

Для определения содержания хлора в биологических жидкостях используются разные группы методов: ртутнометрические, колориметрические, электрохимические, изотопные, осадочные

Метод осаждения – один из методов титриметрического анализа, основанный на взаимодействии титранта с анализируемым веществом, приводящем к образованию осадка. Методы осаждения тесно связаны с понятием произведения растворимости ПР.

К реакциям осаждения предъявляются следующие требования:

- 1) Осадок, осаждаемый при титровании должен быть практически нерастворимым. Для достаточной точности осадительного титрования применяют реакции осаждения, при которых образуются осадки с  $ПР \leq 10^{-10}$ .
- 2) Скорость образования осадка должна быть большой, и осадок образуется согласно стехиометрии взаимодействия титранта с определяемым веществом.
- 3) Отсутствие процесса соосаждения других ионов.

4) Наличие подходящего индикатора.

Чувствительность метода осадительного титрования определяется произведением растворимости осадка. Чем меньше ПР осадка, тем меньше его растворимость и следовательно больше чувствительность метода. Например: при взаимодействии нитрата серебра с хлоридами, бромиды и йодидами образуются нерастворимые в воде осадки.  $ПР_{AgCl}=1,8 \cdot 10^{-10}$ ;  $ПР_{AgBr}=4,9 \cdot 10^{-13}$ ;  $ПР_{AgI}=1 \cdot 10^{-16}$ .

Следовательно, точность аргентометрического определения йодид иона выше чем других ионов.

Методы осадительного титрования широко используются для анализа ряда лекарственных веществ, содержащих в своем составе атомы галогенов (Cl, Br, I). В фармацевтическом анализе наиболее часто используют аргентометрическое и тиоцианатометрическое (роданометрическое, метод Фольгарда) титрование. Посредством этих методов проводят количественные определения неорганических лекарственных веществ - галогенидов щелочных металлов (NaBr, KBr, KI), четвертичных аммониевых оснований, гидрогалогенидов органических оснований (ксикаин, тримекаин), в том числе алкалоидов (морфина гидрохлорид, эфедрин гидрохлорид). Лекарственные вещества, содержащие атомы галогенов, связанные с органической частью молекулы ковалентной связью, обычно определяют методом тиоцианатометрии (метод Фольгарда) после кипячения с титрованным раствором  $AgNO_3$ .

В тиоцианатометрии (роданометрии) титрантом служит раствор  $KSCN$  ( $NH_4SCN$ ), индикатором является раствор железоммонийных квасцов –  $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ , подкисленный  $HNO_3$  для подавления гидролиза этой соли по катиону. В точке эквивалентности наблюдается бледно-красное окрашивание вследствие реакции:

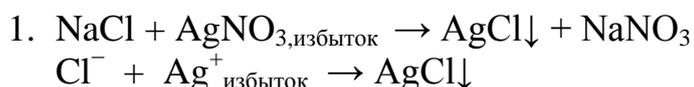


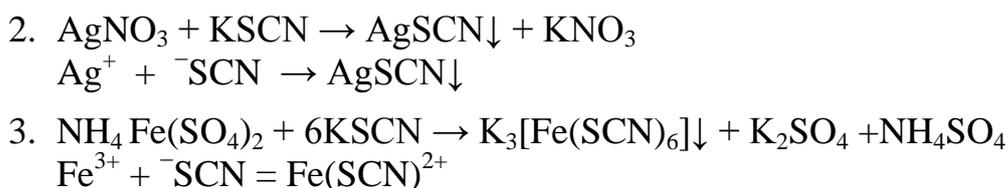
### **Цель работы:**

Определить массу хлорид-ионов в биологической жидкости методом Фольгарда.

**Принцип метода:** К исследуемому раствору хлорида натрия добавляют фиксированный избыток вспомогательного раствора нитрата серебра, после появления осадка хлорида серебра избыток нитрата серебра оттитровывают тиоцианатом калия в присутствии железоммонийных квасцов до появления розовой окраски. Таким образом, метод Фольгарда представляет собой обратное титрование (обратную аргентометрию – измерение избытка ионов серебра).

### **Реакции, лежащие в основе метода:**





Отсюда, **формулы для расчета** массы хлорид-ионов в пробе  $m^T(\text{Cl}^-)$ :

$$m^T(\text{Cl}^-) = M\left(\frac{1}{2}\text{Cl}^-\right) \cdot C_3(\text{AgNO}_3) \cdot V_{\text{мл1}}(\text{AgNO}_3) \cdot 10^{-3} =: \text{г}$$

$$V_1(\text{AgNO}_3) = V^\Sigma(\text{AgNO}_3) - V_2(\text{AgNO}_3) =: \text{мл}$$

$$V_2(\text{AgNO}_3) = \frac{C_3(\text{KSCN}) \cdot V(\text{KSCN})}{C_3(\text{AgNO}_3)} =, \text{мл}$$

где  $V^\Sigma(\text{AgNO}_3)$  – весь объем в мл раствора  $\text{AgNO}_3$ , добавленный в избытке;  
 $V_{\text{мл1}}(\text{AgNO}_3)$  – объем в мл раствора  $\text{AgNO}_3$ , пошедший в первую реакцию;  
 $V_2(\text{AgNO}_3)$  – объем в мл раствора  $\text{AgNO}_3$ , пошедший во вторую реакцию.

*Концентрацию хлорид-ионов в г/л (т.е. массовую концентрацию) можно определить по формуле:*  $C_m(\text{Cl}^-) = \frac{m^T(\text{Cl}^-)}{V_{\text{л(пробы)}}} = \frac{m^T(\text{Cl}^-)}{V_{\text{мл(пробы)}} \cdot 10^{-3}}$

*Эквивалентную концентрацию хлоридов в моль/л можно также рассчитать, исходя из массы хлорид-ионов в пробе:*  $C_3(\text{Cl}^-) = \frac{m^T(\text{Cl}^-)}{M\left(\frac{1}{2}\text{Cl}^-\right) \cdot V_{\text{мл(пробы)}} \cdot 10^{-3}}$

### Реактивы и оборудование:

1. Титрованный раствор нитрата серебра  $\text{AgNO}_3$ , 0,1Э
2. Титрованный раствор тиоцианата (родонида) калия  $\text{KSCN}$  или тиоционата (родонида) аммония  $\text{NH}_4\text{SCN}$ , 0,1Э
3. Железоаммиачные квасцы  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , подкисленные 1Э  $\text{HNO}_3$
4. Раствор хлорида натрия  $\text{NaCl}$  или биологическая жидкость
5. Бюретка, пипетка, колбы для титрования



### Практическая часть

#### Порядок выполнения работы

1. Бюретку заполнить титрованным раствором  $\text{KSCN}$  ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ).
2. К полученному для анализа раствору биологической жидкости, содержащей  $\text{NaCl}$  (объемом 8 мл), добавить 10 мл титрованного раствора  $\text{AgNO}_3$ . Перемешав, добавить 6-8 капель индикатора (железоаммиачных квасцов) и снова перемешать.
3. Когда осадок осядет на дно колбы, а жидкость над ним станет прозрачной, избыток  $\text{AgNO}_3$  аккуратно (не взбалтывая осадок!) оттитровать раствором тиоцианата калия (аммония)  $\text{KSCN}$  ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ) до появления бледно-розовой окраски раствора.

Объем титранта, пошедший на титрование, записать. Титрование повторить 5 раз. Результаты занести в Таблицу 7.

Таблица 7. Исходные и расчетные данные опыта по определению хлорид ионов методом Фольгарда

№ п/п	1	2	3	4	5
Объем биологической жидкости, мл					
Объем добавленного $\text{AgNO}_3$ , мл					
Объем $\text{AgNO}_3$ , израсходованный в 1-ой реакции (с $\text{NaCl}$ ), мл					
Объем $\text{AgNO}_3$ , израсходованный во 2-ой реакции (с $\text{KSCN}$ или $\text{NH}_4\text{SCN}$ ), мл					
Объем титранта $\text{KSCN}/\text{NH}_4\text{SCN}$ , затраченный на титрование, мл					
Концентрация $\text{KSCN}/\text{NH}_4\text{SCN}$ , моль/л					
Концентрация $\text{AgNO}_3$ , моль/л					
Определяемая масса хлорид-ионов $\text{Cl}^-$ , в пробе $m^T(\text{Cl}^-)$ , г					
Определяемая концентрация хлорид-ионов $C_3(\text{Cl}^-)$ , ммоль/л					

# Провести статистическую обработку результатов последней строки (см. пример статобработки результатов в лабораторной работе №1) и выдать ответ по эквивалентной концентрации с учетом ошибки:  $\bar{C}_3(\text{Cl}^-) \pm s_{\bar{C}_3}$  (то есть  $\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$ ).

Полученные результаты сравнить с нормами у здорового человека.

### Вопросы для защиты лабораторной работы

1. В чем сущность методов осаждения? Перечислите требования к реакциям в осадительном титровании.

2. В каком порядке будут выпадать осадки при аргентометрическом определении смеси, содержащей  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  и  $\text{I}^-$  - ионы одинаковой концентрации?
3. Приведите уравнения реакций, протекающих при титровании  $\text{KBr}$  по Фольгарду.
4. Почему титрование по методу Фольгарда проводят в среде азотной кислоты?
5. Как фиксируется точка эквивалентности при титровании по методу Фольгарда?
6. Суть обратной аргентометрии.
7. Можно ли определять хлориды прямой аргентометрией? Какие здесь могут возникнуть проблемы?

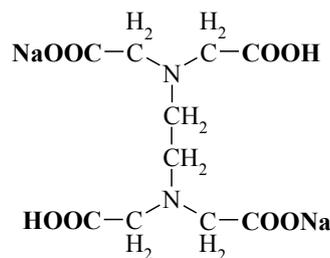
## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №7

### Определение жесткости воды и концентрации ионов кальция в биологических жидкостях методом комплексометрии



#### Теоретическая часть

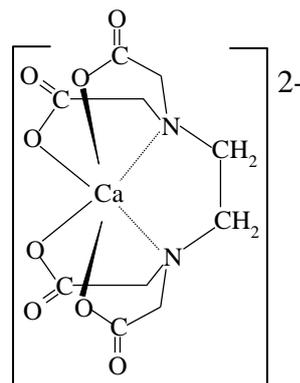
Метод комплексометрии – один из методов титриметрического анализа, основанный на образовании прочных и хорошо растворимых в воде внутрикомплексных соединений ионов металлов с титрантом (комплексонами). Комплексоны – это группа органических соединений, являющихся полидентатными лигандами. Комплексонами выступают аминополикарбоновые кислоты и их соли. На практике наиболее широкое применение нашел **комплексон III** – динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты ( $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$  или Трилон-Б;  $M_{\text{дигидрата}} = 372,24$  г/моль), сокращенно  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$  (см. формулу справа).



В водном растворе трилон Б диссоциирует и имеет кислую реакцию:



ЭДТА образует со многими катионами металлов устойчивые малодиссоциированные растворимые в воде внутрикомплексные соли. В комплексах часть связей носит ионный характер, часть – донорно-акцепторный. Трилон Б с ионами металлов любого заряда образует четырех- пяти- или шестикоординационный комплекс с пятичленными

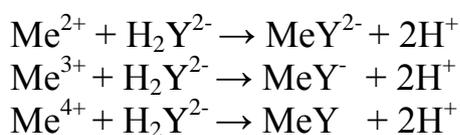


циклами. Атом металла находится в окружении атомов кислорода и атомов азота, находящихся в цис-положении.

Устойчивость комплексов с ЭДТА возрастает с увеличением заряда центрального иона, поэтому однозарядные катионы в водных растворах коплексонометрически не определяют.

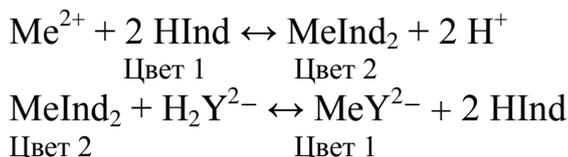
Очень важным является то, что реакции комплексообразования аминополикарбонновых кислот с ионами металлов проходят стехиометрически в соотношении 1:1 с образованием лишь одного комплексного соединения, т.е. отсутствует ступенчатость. Следовательно, молярная масса эквивалента ЭДТА и определяемого иона металла равны их молярным массам.

Так, при титровании ЭДТА солей металлов – комплексообразователей – протекают следующие реакции:



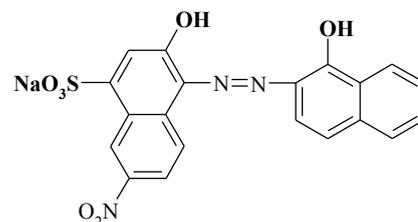
Во всех реакциях 1 моль металла (независимо от его степени окисления) всегда связывает 1 моль комплексона (независимо от степени его лигандности) и освобождается 2 моль ионов водорода. Образующиеся комплексные соединения различаются лишь по заряду. Ионы водорода понижают рН раствора, в результате повышения кислотности среды требуемого комплексного соединения может не получиться. Поэтому титрование проводят в буферном растворе, поддерживающем определенное значение рН. Все это позволяет использовать ЭДТА для титриметрического определения солей металлов.

Для установки точки эквивалентности используют металлоиндикаторы (металлохромные индикаторы) – вещества, образующие с ионами металлов интенсивно окрашенные комплексные соединения. К таковым относятся: мурексид, ксиленоловый оранжевый, эриохром черный Т и др. Окраска комплексного соединения индикатора и катиона отличается от окраски свободного индикатора, поэтому в точке эквивалентности происходит изменение окраски титруемого раствора.



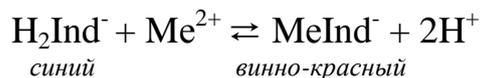
Наиболее широкое применение в комплексонометрии нашел **эриохром черный Т** (*хромоген черный*), относящийся к группе азокрасителей и имеющий в молекуле хелатообразующие **ОН**-группы:

В зависимости от рН раствора *существуют три окрашенные формы этого красителя*. При рН < 6 раствор имеет винно-

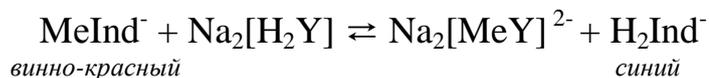


красный цвет, *при pH = 7-11 – синий цвет*, при pH > 11,5 – желто-оранжевый цвет. *В слабо щелочном растворе эриохром черный Т образует с ионами магния, цинка и некоторыми другими катионами интенсивно окрашенные винно-красные комплексы.* Поэтому *при pH 8-10 переход окраски индикатора из винно-красной в синюю окраску проявляется наиболее отчетливо.*

При добавлении к анализируемому раствору индикатора эриохрома черного Т, последний образует с ионами металлов окрашенные комплексы:



При титровании трилоном Б пробы с эриохромом черным Т вблизи точки эквивалентности раствор меняет цвет с винно-красного (или красно-фиолетового) на синий. Причина в том, что образующийся комплекс эриохрома черного Т с катионом металла менее прочен, чем комплекс того же металла с трилоном Б (комплексом), поэтому при титровании трилон Б будет вытеснять индикатор из его соединения с катионом металла:



Чтобы химическое равновесие указанных реакций было сдвинуто вправо, для полноты протекания реакций комплексообразования требуется щелочная среда. Однако в сильнощелочных растворах (при pH > 10) наблюдается образование оксикомплексных соединений металлов или выпадение осадков гидроксидов металлов. В связи с этим для создания щелочной среды к исследуемому раствору добавляют аммиачный буферный раствор (NH<sub>4</sub>Cl / NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O), который поддерживает pH = 8-10.

Комплексометрия позволяет определять практически все металлы Периодической системы Д.И. Менделеева. Метод является одним из основных фармакопейных методов анализа лекарственных веществ. Так комплексометрия на практике применяется для количественного определения неорганических фармакопейных препаратов магния (магния сульфат, магния карбонат основной, магния оксид), цинка (цинка оксид, цинка сульфат), кальция (кальция хлорид), висмута (висмута нитрат). Аналогично определяют кальциевые соли органических кислот (кальция лактат, кальция глюконат, кальция пангамат и др.). Метод нашел применение и в токсикологическом анализе (определение «металлических» ядов), а также для установления концентрации соответствующих металлических ионов в биологических жидкостях.

Константы устойчивости комплексных соединений кальция и магния с трилоном Б различаются на два порядка (2·10<sup>11</sup> и 2·10<sup>9</sup>), поэтому эти ионы нельзя оттитровать отдельно, используя только различие в константах устойчивости комплексов. Титруя исследуемый раствор при pH = 10 с эриохромовым черным Т определяют сумму кальция и магния.

**Создавая pH 12 с помощью NaOH**, можно осадить ионы магния в виде гидроксида, а затем определить ионы кальция в присутствии мурексида, который при pH12 дает сиреневую окраску. Мурексид представляет собой аммониевую соль 5,5'-нитрилодибарбитуровой кислоты, или пурпурат аммония. Ионы кальция мурексид комплексует при pH 10,8÷13,2. При других значениях pH мурексид комплексует другие ионы.



В питьевой воде присутствуют сульфаты и фосфаты кальция и магния, которые и определяют так называемую *постоянную жесткость воды*.

Согласно определению, **жесткость воды** – это количество миллимоль эквивалентов катионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ , содержащихся в 1 литре воды.

Отсюда, формула для определения жесткости воды:

$$Ж_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{n(\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}) \cdot 10^3}{V_{\text{л}}(\text{H}_2\text{O})} = \frac{n(\frac{1}{2}\text{трилона Б}) \cdot 10^3}{V_{\text{л}}(\text{H}_2\text{O})} = \frac{(C_{\text{э}} \cdot V_{\text{л}})_{\text{трилона Б}} \cdot 10^3}{V_{\text{л}}(\text{H}_2\text{O})}, \quad \text{ммоль/л}$$

По величине жесткости вода характеризуется, как мягкая, средняя и жесткая (табл.8):

Таблица 8. Характеристика воды по степени жесткости в ммоль/л (Химический энциклопедический словарь, 1983)

Вода	Мягкая	Средней жесткости	Очень жесткая
Концентрация солей, ммоль/л	до 2	2 – 10	>10

# Общая жесткость воды рек и озер в тайге и тундре составляет 0,1÷0,2 ммоль/л; морей, океанов, подземных водоемов 80÷100 ммоль/л.

# Использование жесткой воды приводит к образованию накипи в котлах и отопительных системах, повышает расход мыла. Верхний предел жесткости в системах водоснабжения составляет, как правило, 7 ммоль/л (в исключительных случаях до 10 ммоль/л).

### Цель работы:

Определить общую жесткость воды и концентрацию ионов кальция  $\text{Ca}^{2+}$  в биологической жидкости методом комплексонометрии.

### Реактивы и оборудование:

1. Бюретка
2. Пипетка на 5 мл и 10 мл
3. Колбы для титрования на 100 мл
4. Мерный цилиндр на 50 мл
5. Мерные пробирки на 10 мл
6. Индикаторы: эриохром черный и мурексид
7. Титрованный 0,05 Э раствор Трилон Б
8. Биологическая жидкость
9. Раствор NaOH - 10% (или 2Э)
10. Шпатель
11. Аммиачный буферный раствор с pH10



### Практическая часть

#### Опыт 1. Определение общей жесткости воды

**Принцип метода:** Трилон Б в щелочной среде вытесняет индикатор эриохром черный Т из его комплекса с катионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ . Свободный эриохром в щелочной среде окрашивает раствор в синий цвет. Поэтому титрование проводят до появления синей окраски.

#### Порядок выполнения работы

- 1) К 50 мл исследуемой воды прибавляют 2 мл аммиачного буфера и 4 капли индикатора - эриохрома черного Т. Все перемешивают.
- 2) Бюретку заполняют 0,05Э раствором трилона Б и титруют исследуемый раствор до перехода окраски от винно-красной через фиолетовую к синей.
- 3) Титрование проводят 3-5 раз. Для расчета жесткости воды берут средний арифметический объем титранта.
- 4) Делают вывод о жесткости воды.

#### Опыт 2. Определение содержания кальция в биологической жидкости

По данным литературы, содержание кальция в крови зависит от возраста. У взрослых людей концентрация общего кальция в крови составляет 2,1 -2,6 ммоль/л (9-12 мг% или 90-120 мг/л). Ионизированного (свободного) кальция  $\text{Ca}^{2+}$  1,05-1,3 ммоль/л (4,2-5,2 мг% или 42-52 мг/л). В моче здорового человека содержится 50–150 мг/сутки (1,2–3,7 ммоль/сутки).

Пониженный уровень кальция в крови может быть обусловлен дефицитом этого макроэлемента и витамина D. Пониженный уровень кальция в крови также может быть вызван нарушениями всасываемости веществ, заболеваниями почек и печени,

эндокринными и другими расстройствами. Пониженный уровень кальция в крови может быть результатом приема некоторых лекарств противосудорожных препаратов, противоопухолевых средств, неомицина и пр.

Уровень кальция в крови не может быть единственным четким критерием остеопороза, поскольку не указывает на содержание кальция в костной ткани. Если в организм поступает недостаточно этого макроэлемента или он теряется из-за сниженного уровня женского гормона эстрогена, кальций начинает вымываться из костей, чтобы компенсировать дефицит в крови. То есть костная ткань страдает, чтобы остальные органы мозг, сердце, нервы, мышцы могли работать нормально.

Повышенный уровень кальция в крови часто указывает на гипервитаминоз D. Повышенный уровень кальция в крови может быть следствием приема ряда лекарств (с содержанием лития, диуретиков-тиазидов). Повышенный уровень кальция в крови может свидетельствовать и о более серьезных расстройствах – гипертиреозе, гиперпаратиреозе, выраженном остеопорозе, злокачественных новообразованиях и пр.

Все физиологические эффекты кальция (участие в мышечном сокращении, в механизмах секреции гормонов, рецепторных процессах, в механизмах клеточного деления и др.) осуществляются его ионизированной формой ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Свободный кальций составляет от 43% до 50% общего кальция. Его концентрация варьирует в течение суток: минимальная концентрация в 20 ч, максимальная в 2 - 4 часа ночи. Уровень ионизированного кальция поддерживается паратгормоном, кальцитонином, активной формой витамина D<sub>3</sub>. Продукция этих гормонов, в свою очередь, зависит от уровня  $\text{Ca}^{2+}$ . На его концентрацию в крови влияют многие факторы - белки, магний (необходимо обязательно исследовать концентрацию магния, если обнаруживается гипокальциемия!). Очень важным является кислотно-основное состояние (КОС): алкалоз увеличивает связывание и снижает концентрацию, а ацидоз, напротив, снижает связывание и увеличивает концентрацию ионизированного кальция в крови. Определение ионизированного кальция более информативно, по сравнению с исследованием общего кальция, для диагностики гиперкальциемических состояний, в частности при первичном гиперпаратиреозидизме (для которого характерно повышение в крови концентрации свободного кальция и неизменный уровень общего кальция), у больных с онкопатологией, у пациентов, находящихся на диализе.

### **Принцип метода определения кальция.**

В присутствии концентрированной щелочи ионы магния осаждаются, а ионы кальция в среде с  $\text{pH } 10,8 \div 13,2$  дают с мурексидом комплекс, окрашенный в *розовый цвет (при pH 12)* (цвет будет зависеть от создаваемой pH и может быть красным). При титровании Трилоном Б индикатор мурексид высвобождается из комплекса, что сопровождается изменением цвета раствора от розового *на сиреневый* вблизи точки эквивалентности (этот цвет тоже будет зависеть от pH и может быть лилово-фиолетовым).

### **Порядок выполнения работы**

1) В колбу для титрования вносят 10 мл исследуемой биологической жидкости (мочи), добавляют 40 мл дистиллированной воды, 5 мл 10% (или 2Э) раствора NaOH (отмерить мерной пробиркой) и на кончике шпателя – индикатор мурексид. Раствор приобретает красно-оранжевую (розовую) окраску.

2) Содержимое колбы медленно титруют, добавляя по каплям из бюретки раствор трилона Б до перехода окраски в сиреневую.

3) Титрование проводят 3-5 раз, для расчета берут средний объем титранта. Масса ионов кальция, взятая на титрование  $m^T$  (то есть, в 10 мл мочи):

$$m^T(\text{Ca}^{2+}) = M\left(\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}\right) \cdot C_3(\text{трил. Б}) \cdot \overline{V}_{\text{мл}}(\text{трил. Б}) \cdot 10^{-3}, \text{ г}$$

В пересчете на суточный объем мочи  $\approx 1500$  мл это будет:

$$m(\text{Ca}^{2+})_{\text{сутки}} = \frac{m^T(\text{Ca}^{2+}) \cdot 1500}{10} = 150 \cdot m^T(\text{Ca}^{2+}), \text{ г/сутки}$$

*Сравниваем с нормой и делаем вывод.*

### **Вопросы для защиты работы**

1. Чем обусловлена жесткость воды? В каких единицах она измеряется?
2. Охарактеризовать метод комплексонометрии (суть метода, рабочие растворы, индикаторы, требования к индикатору и титранту). Для чего нужна щелочная среда?
3. Что такое эриохром черный Т? Как он ведет себя в разных средах?
4. Что такое комплексоны? Приведите примеры.
5. Что из себя представляет трилон Б? Как он реагирует с катионами металлов?
6. В роли чего выступают определяемые ионы кальция и магния?
7. Для чего при определении жесткости воды методом комплексонометрии применяют аммиачный буфер?
8. Написать реакции, лежащие в основе метода определения общей жесткости воды. Какой способ титрования используется в данной работе?
9. Что общего в принципах определения жесткости воды и ионов кальция в биологической жидкости? В чем отличие?
10. Как устанавливается точка эквивалентности при определении ионов кальция в биологической жидкости.
11. Почему при определении ионов кальция используют индикатор мурексид, а не эриохром черный Т?
12. Зачем при определении ионов кальция в биологической жидкости используют концентрированный раствор NaOH, а не аммиачный буфер?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №8

### Скорость химических реакций и факторы, влияющие на нее. Химическое равновесие



#### Теоретическая часть

Под *скоростью химической реакции* понимают изменение концентрации какого-либо из реагирующих веществ или конечных продуктов реакции в единицу времени.

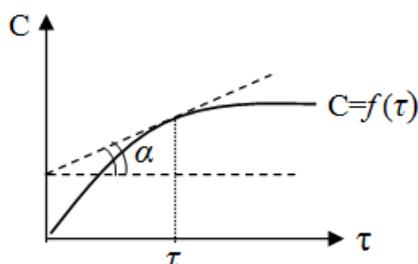
На практике обычно измеряют *среднюю скорость* либо по уменьшению концентрации исходного вещества (тогда  $\Delta C = C_2 - C_1 < 0$ ), либо по увеличению концентрации конечного продукта (тогда  $\Delta C = C_2 - C_1 > 0$ ) за данный промежуток времени ( $\tau$ ). Поскольку величина скорости может быть только положительной, то для гомогенной реакции берется модуль отношения  $\Delta C / \Delta \tau$ :

$$v = \left| \frac{\Delta C}{\Delta \tau} \right|$$

*Истинная (мгновенная) скорость* гомогенной реакции (скорость в данный момент времени) есть изменение концентрации веществ, отнесенное к бесконечно малому промежутку времени. Выражается пределом, к которому стремится отношение  $\Delta C$  при  $\tau \rightarrow 0$  (то есть, это производная скорости по времени):

$$v = \left| \frac{dC}{d\tau} \right|$$

Поэтому мгновенная скорость определяется как тангенс угла наклона касательной к кривой  $C = f(\tau)$  в данной точке  $\tau$ .



$$\frac{dC}{dt} = \operatorname{tg} \alpha$$

В первом приближении скорость реакции (относительную скорость) можно оценить по величине обратной времени:

$$v = \frac{1}{\tau}$$

где  $\tau$  – интервал времени, проходящий от момента введения исходных веществ в реакцию до момента обнаружения каких-либо видимых изменений в системе (изменение цвета, прозрачности, образования осадка и т.п.). Чем больше этот интервал, тем меньше скорость реакции.

Такая временная характеристика скорости реакции наиболее проста в экспериментальном отношении и как относительная величина может быть использована для сравнения скоростей химических реакций, проводимых при разных условиях. Это позволяет изучать зависимость скорости реакции от различных факторов (вспомните факторы, влияющие на скорость гомогенных и гетерогенных реакций).

### **Химическое равновесие.**

Большинство химических реакций обратимы: наряду с прямой реакцией (взаимодействие исходных веществ) происходит и обратная (взаимодействие продуктов реакции между собой). Поскольку каждая из реакций непрерывно поставляет реагенты для реакции противоположного направления, ни одна из них не прекращается, и вся система в целом носит динамический характер. В некоторый момент времени скорости прямого и обратного процессов выравниваются – в системе устанавливается *химическое равновесие*. Химическое равновесие является динамическим равновесием, поскольку при нем два противоположно направленных процесса протекают с равными скоростями.

Химическая система, достигшая состояния равновесия, будет находиться в нем до тех пор, пока не изменятся те условия, при которых это равновесие установилось. Изменение состояния равновесия в результате изменения внешних условий называют *смещением химического равновесия*. Если в результате изменения внешних условий начинает преобладать прямая реакция, то говорят, что равновесие сместилось вправо. Напротив, преимущественное ускорение обратной реакции расценивается как смещение равновесия влево (вспомните факторы, влияющие на смещение химического равновесия)

### **Цель работы:**

1. Определить зависимость скорости химической реакции от концентрации реагирующих веществ, температуры и наличия катализатора.
2. Определить влияние температуры и концентрации участвующих в реакции веществ на смещение химического равновесия.

### **Реактивы и оборудование:**

1. Термостат
2. Водяная баня
3. Термометр
4. Секундомер
5. Пробирки
6. Химический стакан
7. Пипетки на 5мл и 10 мл
8. 2% раствор серной кислоты  $H_2SO_4$
9. 2% раствор тиосульфата натрия  $Na_2S_2O_3$
10. 2% раствор крахмала

11. Насыщенные растворы хлорида железа  $\text{FeCl}_3$ , роданида калия  $\text{KSCN}$ , хлорида калия  $\text{KCl}$ , сульфата меди  $\text{CuSO}_4$

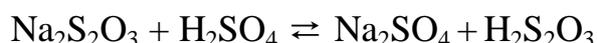
12. Раствор Люголя (в капельницах).



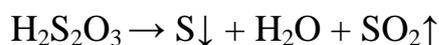
## Практическая часть

### Опыт 1. Зависимость скорости химической реакции от концентрации реагирующих веществ

Зависимость скорости химической реакции от концентрации реагирующих веществ изучим на реакции взаимодействия тиосульфата натрия с серной кислотой:



Образующаяся тиосерная кислота  $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$  неустойчива и легко разлагается:



Суммарно процесс можно представить так:



О прохождении реакции можно судить по изменению прозрачности раствора. В результате реакции выделяется свободная сера, что вызывает помутнение раствора.

Для исследования влияния концентрации одного из реагирующих веществ на скорость данной реакции следует провести ее несколько раз, варьируя концентрацию раствора одного исходного реагента (например, тиосульфата натрия), но оставляя концентрацию постоянной второго реагента (например, серной кислоты).

Для каждого значения концентрации тиосульфата натрия будем замерять время от момента сливания растворов (тиосульфата натрия и серной кислоты) до начала помутнения. По этому промежутку времени ( $\tau$ ) будем судить об относительной скорости химической реакции: чем меньше времени будет затрачено на реакцию, тем выше скорость реакции.

### Порядок выполнения работы

1. В пять пробирок пипеткой (на 10 мл) наберите по 10 мл раствора 2%-й серной кислоты.
2. В пять других пробирок пипетками (на 5 мл) наберите раствор 2%-го тиосульфата натрия и воду в количествах, указанных в таблице 9 (пипетки не путать!)
3. Парно сливая приготовленные растворы тиосульфата натрия и серной кислоты в химический стакан, замерьте по секундомеру время от момента сливания растворов до начала помутнения. Время запишите в таблицу 9. Раствор с осадком вылейте, стакан тщательно вымойте, сполосните дистиллированной водой и проводите в нем следующий опыт.

5. Рассчитайте относительные скорости проведенных пяти реакций по формуле, указанной в последней колонке таблицы, и результаты занесите в таблицу.

6. Рассчитайте относительную концентрацию  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  по формуле:

$$C_{\text{отн}} = \frac{a}{a + b + c},$$

где  $a$  – объем раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , мл;

$b$  – объем раствора  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , мл;

$c$  – объем  $\text{H}_2\text{O}$ , мл.

Эти результаты тоже занесите в таблицу.

Таблица 9. Изучение зависимости скорости реакции разложения тиосульфата натрия под действием серной кислоты от концентрации тиосульфата

№ опыта	Объем, мл			Относительная концентрация $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Время до начала помутнения раствора $\tau$ , с	Относительная скорость реакции $v = 1/\tau$ , $\text{с}^{-1}$
	Раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	$\text{H}_2\text{O}$	$\text{H}_2\text{SO}_4$			
1	5	10	10			
2	8	7	10			
3	10	5	10			
4	12	3	10			
5	15	0	10			

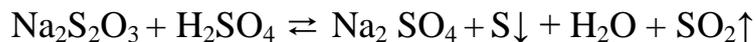
7. Постройте график зависимости относительной скорости реакции от относительной концентрации  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

8. Сделайте вывод о влиянии концентрации на скорость реакции. Отметьте характер зависимости скорости данной реакции от концентрации (прямая, проходящая через начало координат, парабола). Каков порядок изучаемой реакции по данному реагенту? Сделайте обобщенный вывод о том, как меняется скорость реакции с увеличением концентрации реагирующих веществ.

9. Напишите кинетическое уравнение скорости реакции (или уравнение действующих масс) при условии, что порядок реакции по веществу серной кислоты такой же, как по тиосульфату.

## Опыт 2. Зависимость скорости химической реакции от температуры

Зависимость скорости химической реакции от температуры реагирующих веществ изучим на той же реакции:



В этом случае концентрации тиосульфата натрия и серной кислоты остаются неизменными, а изменяют температуру, при которой проводят опыт.

### Порядок выполнения работы

1. В две пробирки пипеткой на 5 мл налейте по 15 мл 2%-го раствора тиосульфата натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .
2. Пипеткой на 10 мл в другие две пробирки налейте по 10 мл 2%-го раствора серной кислоты  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .
3. Две пробирки с растворами  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  нагрейте на водяной бане, в которой температура воды отличается от комнатной температуры на  $10^\circ\text{C}$  (плюс  $2-3^\circ\text{C}$  на прогревание стекла пробирок и рассеивание).
4. Нагретые растворы слейте в химический стакан, запишите время от момента сливания растворов до появления помутнения.
5. Прodelайте еще раз опыт с теми же объемами реагирующих веществ, используя следующие две пробирки, но при температуре на  $20^\circ\text{C}$  (плюс  $2-3^\circ\text{C}$ ) выше первоначальной. Запишите время до начала помутнения раствора. Время появления мути при комнатной температуре взять из таблицы 9 (опыт 5).
6. Вычислите относительную скорость реакции и температурный коэффициент скорости реакции  $\gamma$  (коэффициент Вант-Гоффа), а результаты занесите в таблицу 10.

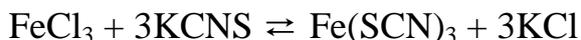
Таблица 10. Изучение зависимости скорости реакции разложения тиосульфата натрия серной кислотой от температуры.

№ опыта	Объем, мл		Температура опыта, $^\circ\text{C}$	Время до начала помутнения $\tau$ , с	Относительная скорость реакции $v = 1/\tau$	$\gamma = \frac{V_{t_2}}{V_{t_1}}$
	Раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	$\text{H}_2\text{SO}_4$				
1	15	10	Комн.			
2	15	10	Комн.+ $10^\circ\text{C}$			
3	15	10	Комн.+ $20^\circ\text{C}$			

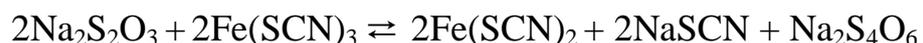
7. На основании полученных данных сделайте вывод о влиянии температуры на скорость реакции.

### Опыт 3. Зависимость скорости химической реакции от катализатора

При взаимодействии роданида калия и хлорида железа (III) образуется роданид железа (III) красного цвета:



При добавлении к роданиду железа (III) тиосульфата натрия происходит исчезновение красной окраски вследствие протекания реакции восстановления ионов железа:



Катализатором для данной реакции являются ионы  $\text{Cu}^{2+}$ .

#### Порядок выполнения работы

1. К 20 мл воды в небольшом стакане прибавьте по 1–2 капли насыщенных растворов  $\text{FeCl}_3$  и  $\text{KSCN}$ . (Если раствор получили очень насыщенной окраски, т. е. непрозрачный, его необходимо разбавить водой до бледно-красного цвета).
2. Полученный раствор разлейте в 2 пробирки по 7,5 мл.
3. В две другие пробирки налейте по 5 мл раствора тиосульфата натрия; в одну из них добавьте 2 капли раствора сульфата меди.
4. В первую пробирку с раствором роданида железа быстро влейте раствор тиосульфата натрия, одновременно включая секундомер. Отметьте время, через которое исчезнет красная окраска.
5. Во вторую пробирку с раствором роданида железа быстро влейте раствор тиосульфата натрия с сульфатом меди, одновременно включая секундомер. Отметьте время, через которое исчезнет красная окраска.
6. Произведите расчет относительной скорости реакции. Результаты запишите в таблицу 11.

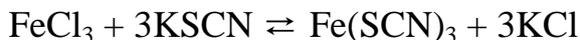
Таблица 11. Изучение влияния ионов  $\text{Cu}^{2+}$  на скорость реакции восстановления роданида железа (III) тиосульфатом натрия.

№ опыта	Объемы растворов, мл		Катализатор $\text{CuSO}_4$ , капель	Время протекания реакции $\tau$ , с	Относительная скорость реакции $v = 1/\tau$
	$\text{Fe}(\text{CNS})_3$ , мл	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , мл			
1	7,5	5	-		
2	7,5	5	2		

7. Сделайте вывод о влиянии ионов  $\text{Cu}^{2+}$  на скорость протекания реакции.
8. Непишите кинетическое уравнение реакции.

#### Опыт 4. Влияние концентрации на смещение химического равновесия

Влияние концентрации на смещение химического равновесия удобно изучить на реакции образования роданида железа (III) по изменению окраски реакционной смеси при увеличении концентрации одного из реагирующих веществ:



Роданид железа  $\text{Fe}(\text{SCN})_3$  интенсивно окрашен в темно-красный цвет,  $\text{FeCl}_3$  – в желтый,  $\text{KSCN}$  и  $\text{KCl}$  – бесцветные, и при изменении концентрации  $\text{Fe}(\text{SCN})_3$  окраска раствора меняется, что указывает на направление смещения равновесия.

#### Порядок выполнения работы

1. К 20 мл воды в небольшом стакане прибавьте по 1–2 капли насыщенных растворов  $\text{FeCl}_3$  и  $\text{KSCN}$ . Если раствор получили очень насыщенной окраски, т. е. непрозрачный, его необходимо разбавить водой до бледно-красного цвета.
2. Полученный раствор разлейте в 4 пробирки.
3. В первую пробирку добавьте несколько капель раствора  $\text{FeCl}_3$ , во вторую – несколько капель раствора  $\text{KSCN}$ , в третью –  $\text{KCl}$ , четвертую оставьте для сравнения. Результаты запишите в таблицу 12.

Таблица 12. Изучение влияния изменения концентраций исходных и конечных веществ на положение равновесия

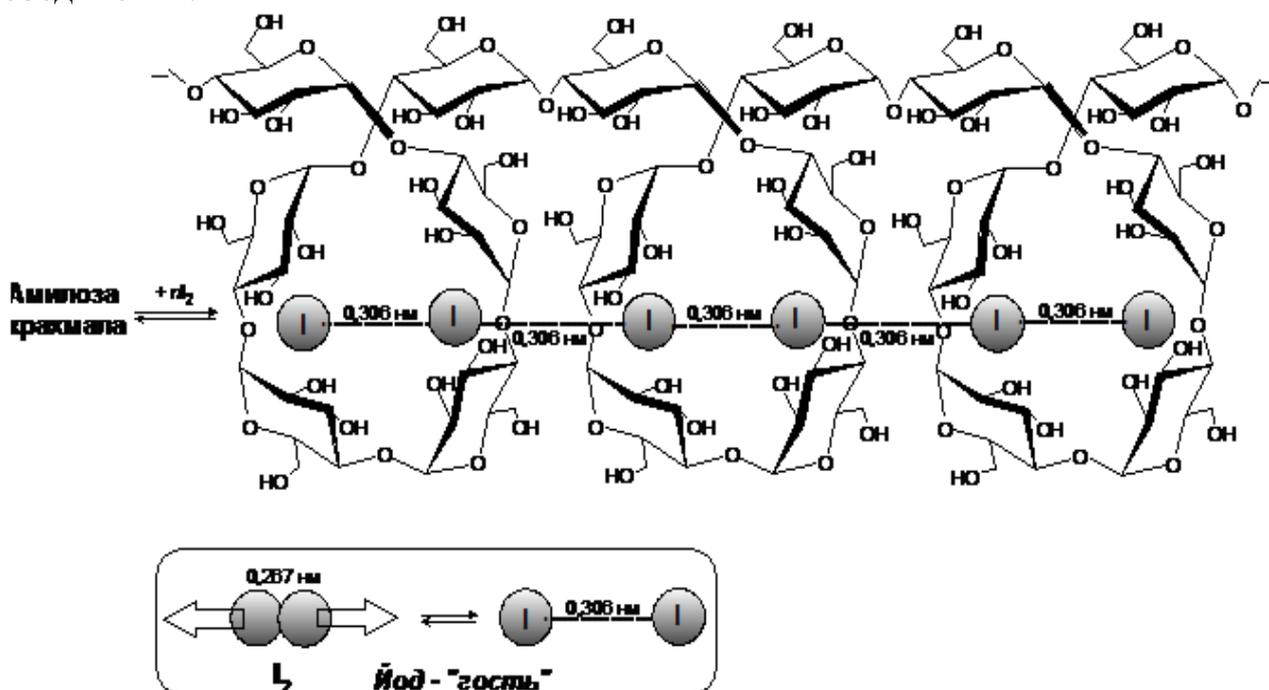
№ опыта	Добавленный раствор	Изменение интенсивности окраски (усиление, ослабление)	Направление смещения равновесия (влево, вправо)
1	$\text{FeCl}_3$		
2	$\text{KSCN}$		
3	$\text{KCl}$		
4	контроль		

4. Объясните наблюдаемые явления с помощью принципа Ле-Шателье. Напишите выражение для константы равновесия. Сделайте обобщенный вывод о влиянии изменения концентраций исходных и конечных веществ на положение равновесия.

#### Опыт 5. Влияние температуры на смещение химического равновесия

Влияние температуры на положение химического равновесия изучается на реакции взаимодействия йода с крахмалом по системе "гость-хозяин", с

образованием окрашенного в синий цвет сложного комплексного соединения:



### Порядок выполнения работы

1. В две пробирки налейте по 5 мл раствора крахмала и добавьте по каплям раствор йода до появления синей окраски.
2. Одну из пробирок оставьте для сравнения, другую нагрейте. Отметьте изменение окраски.
3. Охладите пробирку водой (под краном). Сравните цвет в обеих пробирках.
4. Объясните наблюдаемые явления с помощью принципа Ле-Шателье. Укажите направление смещения равновесия в зависимости от повышения или понижения температуры. Сделайте обобщенный вывод о влиянии температуры на положение равновесия.

### Вопросы для защиты работы

1. Что понимается под скоростью химической реакции? Дайте понятие средней и истинной скорости реакции. Какую скорость реакции определяли Вы в опытах 1-3?
2. От каких основных факторов зависит величина скорости реакции? Охарактеризуйте изменение скорости реакции в зависимости от изменения этих факторов.
3. Что такое кинетическое уравнение реакции?
4. Что такое температурный коэффициент Вант-Гоффа? В чем его смысл?
5. Что понимается под обратимостью химических реакций? В чем заключается динамический характер химического равновесия?
6. Как можно прогнозировать направление смещения химического равновесия при изменении условий проведения реакции (температуры, давления, концентраций веществ)?

**Коллоидные растворы: методы получения и очистка**



**Теоретическая часть**

Система, состоящая из раздробленного вещества (*дисперсная фаза*), взвешенного в окружающей его среде (*дисперсионная среда*), называется *дисперсной системой*. Дисперсные системы, у которых частицы дисперсной фазы имеют размер порядка  $10^{-9}$ – $10^{-7}$  м относятся к коллоидным системам.

Промежуточное положение между истинными растворами и грубодисперсными системами занимают коллоидно-дисперсные системы *золи* (дисперсная среда – жидкость, а дисперсная фаза – твёрдое вещество). Структурной единицей золя является *мицелла* – частица твердого вещества, диспергированного в объеме дисперсной среды, состоящая из ядра (1), адсорбционного слоя (4) и диффузионного слоя (5). Адсорбционный слой представлен растворимым в воде электролитом – стабилизатором и состоит из потенциалопределяющих ионов (ПОИ) и противоионов (ПРОИ):

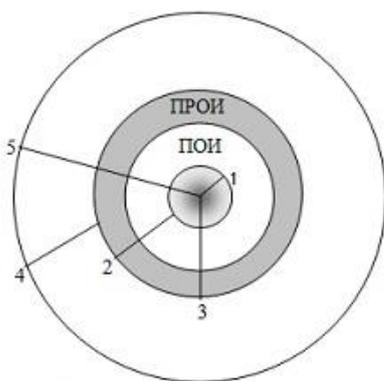


Рис. 1. Схематичное строение мицеллы  
 1- ядро, 2- адсорбционный слой, состоящий из потенциалопределяющих ионов (ПОИ) и противоионов (ПРОИ), 3- гранула, 4- диффузионный слой ионов, 5- мицелла

Потенциалопределяющие, или потенциалобразующие (ПОИ) ионы растворимого в воде электролита – стабилизатора непосредственно избирательно адсорбируются ядром согласно *правилу Панета-Фаянса*: *адсорбируется тот ион, который может достраивать кристаллическую решетку ядра (входит в нее или изоморфен ей)*. Вслед за ПОИ идут противоионы (ПРОИ) того же электролита, причем, они только частично компенсируют возникший на поверхности ядра заряд, так как часть ПРОИ будет смываться водой и существовать в так называемом диффузном, размытом слое. В результате на границе раздела гранула/диффузный слой возникает двойной электрический слой (ДЭС), который называют дзета-потенциалом ( $\xi$ ), или электрокинетическим потенциалом. Он обнаруживается и измеряется при любом перемещении гранулы и диффузного слоя относительно друг друга. Величина  $\xi$ - потенциала невелика и составляет 50 – 100 мВ, но она достаточна, чтобы поддерживать определенную толщину диффузного слоя и агрегативную устойчивость золя.

Получают золи двумя методами:

1. Физической или химической конденсацией (объединением) атомов или молекул в агрегаты.
2. Диспергированием (дроблением) крупных частиц вещества до частиц коллоидной степени дисперсности.

Конденсацией, применительно к получению коллоидных растворов, называется возникновение в перенасыщенном растворе центров кристаллизации и рост их с образованием мельчайших частиц дисперсной фазы – мицелл.

Основными условиями образования золь при химической конденсации являются:

- ✓ малые концентрации растворов,
- ✓ избыток одного из реагентов, выступающего в роли стабилизатора.

Наиболее популярными реакциями, лежащими в основе методов химической конденсации являются реакции двойного обмена и реакции гидролиза. Наиболее популярным методом физической конденсации является метод замены растворителя.

Диспергирование же крупных частиц до размера коллоидных проводят в шаровых и коллоидных мельницах, вольтовой дуге, ультразвуком, пептизацией (разрушение рыхлых свежеприготовленных осадков с помощью, например, пептизаторов – кислот, щелочей, солей – или другим путем).

Для очистки полученных золь от грубодисперсных примесей применяют обычное фильтрование, а от примесей ионов — диализ с использованием полупроницаемых мембран.

**Цель работы:** получить коллоидные растворы различными способами и провести их очистку.

**Реактивы и оборудование:**

1. Штативы с пробирками
2. Пипетки на 1,5 и 10 мл
3. стакан или коническая колба на 100, 200 мл
4. Мерные цилиндры
5. Воронка
6. Электроплитка с закрытой спиралью
7. Спиртовка
8. Спички
9. Кристаллизатор
10. Растворы:
  - 10%, 2% растворы  $\text{FeCl}_3$
  - 5% раствор  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$
  - 0,1Э раствор щавелевой кислоты
  - 2% спиртовой раствор канифоли
  - насыщенный раствор серы в спирте

- 0,01Э раствор  $\text{AgNO}_3$
- раствор коллодия
- 0,01Э раствор  $\text{KI}$
- 0,1% раствор гексацианоферрата (II) калия  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$

11. Бумажные фильтры, индикаторная бумага

12. Дистиллированная вода



## Практическая часть

### Опыт 1. Получение золя гидроксида железа (III) методом пептизации.

Пептизацией называется конденсационный метод получения коллоидных растворов, заключающийся в переводе свежеприготовленного рыхлого осадка, полученного в ходе химической реакции, в коллоидный раствор. Пептизация может происходить в результате промывания осадка (удаление избытка электролита – коагулятора) или под действием специально вводимых веществ – *пептизаторов*. Пептизаторами могут быть поверхностно активные вещества или низкомолекулярные электролиты. Пептизатор адсорбируется частицами осадка и, если пептизатор является ионом, то это приводит к образованию двойного электрического слоя (ДЭС), а также сольватной оболочки на их поверхности – главных факторов агрегативной устойчивости.

#### Порядок выполнения работы

1. В стакан или коническую колбу отмерить 25 мл дистиллированной воды и 0,5 мл 10% раствора  $\text{FeCl}_3$ .
2. К полученному раствору добавляют по каплям 5% раствор аммиака до тех пор, пока количество образующегося осадка не перестанет увеличиваться.
3. Дать осадку осесть и декантировать его, то есть осторожно слить раствор над осадком в кристаллизатор, следя, за тем, чтобы осадок оставался на стакане.
4. Добавить к осадку, приблизительно 30 мл дистиллированной воды, взболтать, дать отстояться и снова декантировать. Повторить декантацию ещё два раза.
5. К отмытому осадку добавить 25 мл дистиллированной воды, взболтать и, не давая осадку осесть, перенести пипеткой по 2 мл образовавшийся суспензии в 5 чистых (!) пробирок.
6. Добавлять в каждую пробирку указанные в таблице 13 объёмы дистиллированной воды и пептизатора (10% раствор  $\text{FeCl}_3$ ). Энергично перемешать содержимое всех пробирок и поставить их в штатив на один час.

Таблица 13. Получение золя гидроксида железа методом пептизации с использованием пептизатора.

№ пробирки	1	2	3	4	5
Объём суспензии Fe(OH) <sub>3</sub> , мл	2	2	2	2	2
Объём воды, мл.	5	4,8	4,6	4,4	4,2
Объём 10% FeCl <sub>3</sub> , мл	–	0,2	0,4	0,6	0,8
Степень пептизации					

7. По истечении часа сравнить объём осадка в пробирках с пептизатором с объёмом осадка в контрольной пробирке № 1 (без пептизатора). Отметить в таблице 13 степень пептизации (условно, с помощью крестиков). Сделать вывод по этому показателю.

### **Опыт 2. Получение золя гидроксида железа (III)**

1. Налить в пробирку 10 мл воды и нагреть на спиртовке до кипения.
2. В горячую воду добавить по каплям 2 мл 2% раствора FeCl<sub>3</sub> при постоянном перемешивании. Образуется золь красно-бурого цвета, напоминающий крепко заваренный чай.
3. Записать уравнение реакции и формулу мицеллы золя.
4. Определить заряд гранулы методом капиллярного анализа (см. опыт № 9) и сделать вывод о соответствии экспериментально полученного заряда с формульным.

### **Опыт 3. Получение гидрозоль серы методом замены растворителя**

В этом случае пересыщение системы достигается при смешивании достаточно концентрированного раствора какого-либо вещества с большим объёмом жидкости, являющейся для этого вещества плохим растворителем.

Необходимым условием такого метода получения зольей является полная смешиваемость «плохого» и «хорошего» растворителей при данной температуре. Стабилизатором золя обычно является адсорбирующиеся примеси или продукты гидролиза.

#### *Порядок выполнения работы*

Отмерить в пробирку 5 мл дистиллированной воды и добавить несколько капель<sup>?</sup> отфильтрованного насыщенного раствора серы в спирте. Через 1 – 2 минуты появляется глубокое свечение раствора при боковом освещении (опалесценция) – признак образования золя серы.

#### **Опыт 4. Получение гидрозоля канифоли методом замены растворителя**

К 5 мл воды, нагретой до появления пара, прилить 0,5 мл 2% спиртового раствора канифоли (составная часть смолистых веществ хвойных деревьев). Отфильтровать полученный опалесцирующий золь.

#### **Опыт 5. Получение золя иодида серебра реакцией обмена**

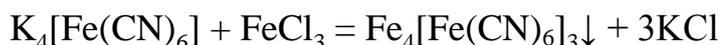
Метод основан на получении трудно растворимых соединений, образующих дисперсную фазу, с помощью химических реакций различных типов (обмена, гидролиза, окисления – восстановления и др.). Стабилизатором обычно служит один из исходных электролитов (тот, который взят в избытке).

##### *Порядок выполнения работы*

1. В две пробирки отмерить раствор иодида калия: в первую 2 мл, во вторую – 3 мл.
2. Медленно, по каплям, добавить из бюретки 0,01Э раствор нитрата серебра: в первую пробирку 3 мл, во вторую – 2 мл.
3. Образуется золь иодида серебра. Его интенсивная опалесценция смешивается с жёлтой окраской раствора и выглядит жёлто – зелёной.
4. Записать формулы мицелл в первой и второй пробирках. Определить заряд гранулы методом капиллярного анализа (см. опыт № 9) и сделать вывод о соответствии экспериментально полученного заряда с формульным.

#### **Опыт 6. Получение синего золя железной лазури реакцией обмена**

1. Отмерить в пробирку 10 мл 0,01% раствора гексацианоферрата (II) калия (жёлтой кровяной соли).
2. Добавить 1-2 капли 2% раствора хлорида железа (III). В результате реакции:



Получается золь с глубокой синей окраской.

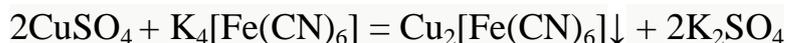
3. Записать формулу мицеллы золя.
4. Определить заряд гранулы методом капиллярного анализа (см. опыт № 9) и сделать вывод о соответствии экспериментально полученного заряда с формульным.

#### **Опыт 7. Получение зелёного золя железной лазури реакцией обмена**

1. Отмерить в пробирку 10 мл 2% раствора  $\text{FeCl}_3$ .
2. Добавить 1 – 2 капли 0,01% раствора гексацианоферрата (II) калия (при энергичном встряхивании). Получается золь зеленого цвета.
3. Записать уравнение реакции и формулу мицеллы золя.
4. Определить заряд гранулы методом капиллярного анализа (см. опыт № 9) и сделать вывод о соответствии экспериментально полученного заряда с формульным.

### **Опыт 8. Получение золя железистосинеродистой меди**

1 К 10 мл 0,01% раствора  $K_4[Fe(CN)_6]$  прилить 2 – 3 капли 1% раствора  $CuSO_4$ . Получается золь коричнево – красного цвета по реакции:



- 2 Записать формулу мицеллы золя и обратить внимание на заряд гранулы.
- 3 Определить заряд гранулы методом капиллярного анализа (см. опыт № 9) и сделать вывод о соответствии экспериментально полученного заряда с формульным.

### **Опыт 9. Определение знака заряда частицы методом капиллярного анализа**

**Сущность метода.** В основе метода лежит явление *адсорбции* коллоидных частиц на поверхности твердого адсорбента (в данном случае – фильтровальной бумаги, которая состоит, главным образом, из целлюлозы, «прошито» сульфатными группами).

При смачивании водой или щелочными водными растворами фильтровальной бумаги, стенки капилляров последней заряжаются отрицательно. Поэтому, если в воде находятся отрицательно заряженные коллоидные частицы, то они будут отталкиваться капиллярами поверхности бумаги и будут двигаться вместе с водой (от центра нанесения капли к периферии), образуя равномерно окрашенное пятно. Если же частицы золя заряжены положительно, то они будут притягиваться капиллярами поверхности бумаги, и адсорбируются (оседают) на ее поверхности, образуя окрашенное в центре и бесцветное по краям пятно.

Однако в сильно кислой среде ( $pH \ll 7$ ) поверхность бумаги может заряжаться положительно и в этом случае ее капилляры будут притягивать, наоборот, отрицательно заряженные частицы золя, а положительно заряженные – отталкивать.

Таким образом, **принцип метода капиллярного анализа**, проводимый на фильтровальной бумаге, можно *коротко* сформулировать так: *в зависимости от pH наносимого золя целлюлозные стенки капилляров бумаги будут заряжаться и либо отталкивать от себя частицы золя, либо притягивать. Это поведение будет зависеть от заряда гранулы золя и заряда поверхности бумаги.*

#### **Порядок выполнения работы**

1. На листок бумаги нанести каплю исследуемого золя (предварительно с помощью индикаторной бумаги определите pH золя, запишите это значение).
2. После всасывания капли определить знаки зарядов у золь, полученных в опытах ранее.

## Опыт 10. Очистка зелей диализом раствора

**Сущность метода:** очищаемый коллоидный раствор, отделен от чистого растворителя полупроницаемой мембраной (коллодий, целлофан, пергамент, полисилоксан, полихлорвинил, полиэтилен). За счет *диффузии* все ионы из коллоидного раствора, способные пройти через отверстия мембраны, будут переходить в растворитель, а более крупные коллоидные частицы останутся в растворе. Основными достоинствами данного метода является его простота и коммерческая доступность. Однако стоит отметить и существенный недостаток такого способа: время диализа иногда достигает нескольких суток. Скорость можно увеличить за счёт температуры, но очень незначительно.

Для увеличения скорости диализа используют *диализатор* – прибор, оборудованный камерой с электродами, создающими постоянное электрическое поле. В этом случае продолжительность процесса очистки коллоидных растворов значительно сокращается и может варьироваться от нескольких часов до нескольких минут. Этот метод широко применяется в биохимии, фармации, медицине, при очистке воды и производстве продуктов питания.

### **Порядок выполнения работы**

1. *Получить полупроницаемую мембрану из коллодия* – это 4% раствор нитроклетчатки (нитроцеллюлозы) в смеси спирта и эфира (1:3):

а) в чисто вымытый и высушенный химический стакан налить коллоидный раствор и медленными вращательными движениями равномерно распределить его по стенкам;

б) в опрокинутом положении оставить стакан до исчезновения запаха эфира (5 – 10 минут);

в) ополоснуть образовавшуюся плёнку дистиллированной водой несколько раз для удаления спирта;

г) осторожно отделить слой коллодия от стенок стакана, наливая воду между стеклом и плёнкой.

2. *Провести диализ раствора:*

а) в приготовленный коллоидный мешочек налить раствор крахмала, содержащий  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;

б) мешочек завязать, подвесить на стеклянной палочке и опустить в стакан с дистиллированной водой на 15-20 минут;

в) в первой пробирке, взятой из омывающей воды, подтвердить наличие сульфат-ионов  $\text{SO}_4^{2-}$  с помощью  $\text{BaCl}_2$ ;

г) во второй пробирке с помощью раствора йода убедиться в отсутствии крахмала.

## Вопросы к защите работы

1. Что такое коллоидные растворы, их отличие от истинных растворов и растворов ВМС.
2. Перечислить основные методы получения коллоидных систем. Раскрыть их суть.
3. Что такое золя?
4. Что является структурной единицей золя?
5. Принцип построения мицеллы золя.
6. Написать формулы мицелл приготовленных Вами золь (в опытах 1÷2, 4÷8): гидроксида железа (III), иодида серебра с положительно и отрицательно заряженными гранулами, синей и зеленой железной лазури, железисто-синеродистой меди.
7. Принцип метода определения заряда гранулы методом капиллярного анализа.
8. Как заряжена поверхность бумажного фильтра из целлюлозы при смачивании ее нейтральными растворами? слабо щелочными? кислыми?
9. В чём заключается сущность таких методов очистки коллоидных растворов как диализ, ультрафильтрация, гельфильтрация?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №10

### Определение порогов коагуляции золь под действием электролитов



#### Теоретическая часть

**Устойчивость дисперсной системы** характеризуется неизменностью во времени её основных параметров: степени дисперсности и равновесного распределения дисперсной фазы в среде. Будучи термодинамически неустойчивыми из-за избытка свободной поверхностной энергии коллоидные системы стремятся уменьшить запас этой энергии. Потому в золях развивается *самопроизвольный* процесс укрупнения частиц, что приводит к потере агрегативной устойчивости. Этот процесс может завершиться седиментацией, т.е. *оседанием* укрупнённых частиц под действием силы тяжести, и расслоением системы на две фазы.

*Процесс слипания коллоидных частиц с образованием более крупных (потеря агрегативной устойчивости) с последующей седиментацией (потеря кинетической устойчивости) называется коагуляцией.*

Коагуляции золь могут способствовать различные факторы (вспомните какие), однако наиболее важный из них – это действие электролитов.

Коагуляцию вызывают те из ионов прибавляемого электролита, у которых знак заряда противоположен заряду гранулы. В соответствии с правилом Шульце – Гарди, порог коагуляции резко снижается с увеличением заряда иона – коагулятора.

*Правило Шульце-Гарди:*

*Коагуляцию вызывают ионы с зарядом, противоположным заряду гранулы, и коагулирующая способность иона тем выше, чем больше его заряд.*

Стабильность золя можно повысить путём введения растворов ВМС. В этом случае говорят о «коллоидной защите». Повышение устойчивости связано с адсорбцией макромолекул ВМС на коллоидных частицах и возникновением на их поверхности адсорбционных слоёв.

**Порог коагуляции** – это минимальная эквивалентная концентрация коагулирующего электролита в золе, которая вызывает видимую коагуляцию. Отсюда, формула для расчета порога коагуляции ( $\gamma$ ):

$$\gamma = \frac{n(\frac{1}{z} \text{ электролита})}{\omega_{\text{л}}(\text{золя} + \text{электролита})} = \frac{C_3 \cdot V (\text{электролита})}{V_0 + V}, \quad \text{моль/л}$$

где  $\omega$  - суммарный объем золя и электролита,  $V_0$  - исходный объем золя,  $V$  – минимальный объем электролита, необходимый для начала коагуляции.

**Коагулирующая способность (P)** – это величина, обратная порогу коагуляции:  $P = \frac{1}{\gamma}$  (л/моль)

Сопоставляя коагулирующую способность двух электролитов, имеющих общий ион, можно узнать какой ион вызывает коагуляцию, а следовательно, и заряд гранулы частицы золя. Например,  $P_{NaCl} = \frac{1}{0,38^2}$ , а  $P_{CuCl_2} = \frac{1}{0,086}$ . Если бы коагулирующим ионом был анион  $Cl^-$ , то пороги коагуляции и коагулирующая способность были бы примерно одинаковы. По условию задачи, они сильно отличаются. Следовательно, коагулирующим ионом был катион, что указывает на отрицательный заряд гранулы. Кроме того, результаты показали, что ион меди обладает большей коагулирующей способностью, чем ионы натрия (объясните этот факт).

### **Коллоидная защита.**

Как уже было сказано выше, при добавлении к зольям ВМС, устойчивость к действию электролитов у последних значительно повышается. Такое явление получило название *коллоидной защиты*.

Защищенный золь поддается концентрированию и даже выпариванию досуха и становится термодинамически более устойчивым.

Мерой защитного действия ВМС является так называемое «золотое число» – минимальная масса (мг) сухого высокомолекулярного соединения, которую необходимо добавить к 10 мл стандартного (красного) золя золота для того, чтобы предотвратить его коагуляцию (посинение) при введении в систему 1мл 10% раствора хлорида калия (это полунасыщенный раствор).

Более простое в определении «железное число», характеризуют как минимальное число миллиграммов ВМС, способного защитить 10 мл золя гидроксида железа (III) от коагулирующего действия 1мл 0,005М раствора сульфата натрия.

В фармацевтической промышленности защитные свойства веществ широко используются для получения концентрированных золь серебра, ртути, золота (например, лекарственный препарат колларгол – коллоидный раствор оксида серебра, защищён высокомолекулярными соединениями). В качестве ВМС могут выступать белки, углеводы, желатин (смесь белковых веществ, получаемая выпариванием костей, хрящей и другого сырья животного происхождения) и т.д.



### Практическая часть

**Опыт 1. Определение порога коагуляции золя  $Fe(OH)_3$  (первый способ)**

1. В 12 пробирок налить по 5 мл золя гидроксида железа (III).
2. Добавить последовательно в каждые 4 пробирки электролиты: 2М KCl (в первую четверку пробирок); 0,005М  $K_2SO_4$  (во вторую четверку пробирок), 0,001М  $K_3[Fe(CN)_6]$  (в третью четверку пробирок) и дистиллированную воду в количествах указанных в Таблице 14.

Таблица 14. Создание разной концентрации каждого электролита в каждой из трех четверок пробирок

№ пробирки	1	2	3	4
Дистиллированная вода, мл	4,5	4	3	1
Раствор электролита, мл	0,5	1	2	4

3. Содержимое пробирок хорошо встряхнуть и оставить на час.
4. Определить, в каких пробирках произошла коагуляция. Рассчитать порог коагуляции.
5. Написать формулу мицеллы золя гидроксида железа (III).
6. Сопоставить пороги коагуляции электролитов и сделать вывод о природе иона-коагулянта (его заряде) и зависимости порога коагуляции от заряда ионов-коагулянтов.

**Опыт 2. Определение порога коагуляции золя  $Fe(OH)_3$  (второй способ)**

1. Отмерить пипетой по 10 мл золя  $Fe(OH)_3$  в две конические колбы на 100 мл. Одна из них служит контролем.

2. Золь в другой колбе титруем осторожно, небольшими порциями 1Э раствором КСl до появления едва заметной мути, которую легко установить, сравнивая с контрольной пробой.
3. Опыт проделать как минимум 2-3 раза.
4. Записать объем КСl, пошедший на титрование и рассчитать порог коагуляции.
5. Аналогично проделать опыт для электролита 1Э раствора хромата калия  $K_2CrO_4$ .
6. Сравнить пороги коагуляции двух электролитов-коагулянтов (КСl и  $K_2CrO_4$ ) и сделать вывод, от каких факторов зависит коагулирующая способность электролита.

### Опыт 3. Защитное действие растворов ВМС

#### Порядок выполнения работы

1. В 2 пробирки налить по 5 мл золя берлинской лазури.
2. В первую пробирку добавить 1 мл дистиллированной воды; во вторую 1 мл свежеприготовленного раствора желатина.
3. В обе пробирки налить по 1 мл 0,02М  $Al(NO_3)_3$ , взболтать и оставить некоторое время.
4. По отсутствию коагуляции во второй пробирке убедиться в защитном действии раствора желатина.

### Опыт 4. Определение «железного числа»

1. Взять 7 пробирок. В первую пробирку налить 2 мл 1% раствора желатина. В остальные 6 пробирок внести по 1 мл дистиллированной воды и последовательно перенести по 1 мл раствора из первой во вторую, из второй в третью и т.д. Из последней пробирки 1 мл выбросить. Получится ряд растворов с убывающей концентрацией желатина (см. таблицу 15).

Таблица 15. Изучение защитного действия желатина от коагуляции золя  $Fe(OH)_3$  полунасыщенным раствором КСl

Номер пробирки						
1	2	3	4	5	6	7
Концентрация желатина исходная (до приливания золя и коагулянта), %						
1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015
Результат защиты (знак «+» или «-»)						

2. В каждую пробирку добавить по 1 мл золя  $Fe(OH)_3$  и 1 мл полунасыщенного раствора КСl и наблюдать в какой из пробирок произошла коагуляция, т.е. концентрация ВМС в них недостаточна для защиты.
3. Результаты наблюдений внести в таблицу. Поставить знак «+», где произошла защита и знак «-», где нет.
4. Рассчитать «железное число» для желатина. Для этого необходимо найти

среднее арифметическое двух значений концентраций желатина  $\bar{C}_{\%}$  в последней «защищенной пробирке» и первой, в которой произошла коагуляция.

5. Затем, зная  $\bar{C}_{\%}$  рассчитать массу желатина (мг), содержащегося в 1 мл его раствора, которым защищают 1 мл золя гидроксида железа (III)  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . Для этого выведем формулу для расчетов, принимая плотность раствора желатина за 1 мг/мл и объем раствора желатина равный 1 мл, по условию опыта:

$$\begin{aligned} m(\text{желатина}) &= \frac{\bar{C}_{\%} \cdot m(\text{раствора}) \cdot 10^3}{100} = 10\bar{C}_{\%} \cdot \rho \cdot V_{\text{мл}}(\text{раствора}) = 10\bar{C}_{\%} \cdot 1 \cdot 1 \\ &= 10\bar{C}_{\%}, \quad \text{мг} \end{aligned}$$

### Вопросы для защиты работы

1. Почему коллоидные растворы термодинамически неустойчивы?
2. Чем определяется агрегативная и кинетическая устойчивость?
3. Действием каких внешних факторов можно вызвать коагуляцию коллоидного раствора?
4. Как можно определить знак заряда коллоидной частицы?
5. Что такое коллоидная защита?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №11

### Реакции электрофильного замещения ( $S_E$ ) у аренов: бензойной и салициловой кислот.

#### Цель работы:

Продемонстрировать в опытах с бромной водой и формальдегидом способность бензойной и салициловой кислот вступать в реакции электрофильного замещения (бромирования и поликонденсации). Выработать привычку соблюдать правила техники безопасности при выполнении опытов и умение оказывать первую медицинскую помощь.

#### Оборудование и реактивы:

1. Пробирки.
2. Фарфоровые чашки.
3. Водяная баня.
4. Пипетки на 5 – 10 мл.
5. Кислота салициловая (кристаллическая).
6. Этиловый спирт 95%.
7. Бромная вода 3,5%.
8. Реактив Марки (раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте).
9. Концентрированная серная кислота.
10. Раствор  $AlBr_3$ .
11. Кислота бензойная.
12. Тиосульфат натрия 10% раствор.
13. Раствор мочевины 5% раствор.



#### Практическая часть

#### Опыт №1. РЕАКЦИЯ САЛИЦИЛОВОЙ И БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТ С БРОМНОЙ ВОДОЙ

**Внимание!** Бром – ядовитая жидкость, при попадании на кожу вызывает ожоги. Остерегаться вдыхать его пары

**Первая помощь:** пораженное место обрабатывают 10%-ым раствором тиосульфата натрия, промывают большим количеством воды, затем накладывают тампон, смоченный 5%-ым раствором мочевины. Можно пораженное место промыть спиртом, а затем смазать мазью от ожогов.

### **Правила работы с бромом.**

- Работы с бромом проводить в вытяжном шкафу в перчатках, рядом с чашкой, наполненной аммиаком.
- Для поглощения бромистого водорода, выделяющегося при реакции, применяется вода.

а) В 2 пробирки поместить по 0,05 г, соответственно, бензойной и салициловой кислот. Растворить их в 2 мл 95% спирта, прибавить бромной воды до образования белого осадка (хотя бы в одной из пробирок). Отметить, есть ли различия в пробирках и объяснить их причину.

Написать схему реакции. Будет ли выделяться  $\text{CO}_2$ , если салициловую кислоту заменить салициламидом?

б) Повторить опыт в присутствии бромида алюминия. Отметить, есть ли различия в пробирках и объяснить их причину. Обратит внимание на скорости химических реакций в опытах а) и б).

Написать схему и механизм реакции бромирования бензойной кислоты.

### **Опыт №2. РЕАКЦИИ САЛИЦИЛОВОЙ И БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТ С РЕАКТИВОМ МАРКИ**

0,005г. салициловой кислоты поместить в фарфоровую чашку или сухую пробирку и прибавить 3-5 капель реактива Марки (раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте), затем нагреть на кипящей водяной бане до появления красного окрашивания.

Написать схему реакции (указать реакционные центры, атаку и тип реакции). Опыт повторить с бензойной кислотой. Отметить, есть ли отличия.

### **ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ**

1. Можно ли отличить бензойную кислоту от пропионовой реакцией бромирования? По каким признакам?

2. Распределить в ряд по легкости бромирования следующие соединения: бензол, тиофен, фенол, анилин. Сравнить условия бромирования.

3. Что легче хлорируется: фенол или нитробензол? Привести схемы и механизмы реакций хлорирования.

4. Хлорирование толуола может протекать как в бензольное кольцо, так и в боковую цепь. Оформить схемы реакций хлорирования толуола в присутствии катализатора (кислоты Льюиса) и при наличии условий для образования радикалов. Показать реакционные центры, атаку и тип реакции. Написать механизмы реакций.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №12

### Определение теофиллина в фармакопейном препарате эуфиллине методом нейтрализации.

Теофиллин  $C_7H_8N_4O_2$  (1,3-диметил-1H-пурин-2,6-дион) – метилксантин, производное пурина, гетероциклический алкалоид растительного происхождения, спазмолитик и диуретик. Его широко используют, как бронхолитик. Оказывает диуретическое, сосудорасширяющее действие, применяется при отёках сердечного и почечного происхождения, спазмах бронхов. Дозы подбирают индивидуально. Поэтому важно постоянство его содержания в фармакопейном препарате **эуфиллине** (соль теофиллина с этилендиамином).

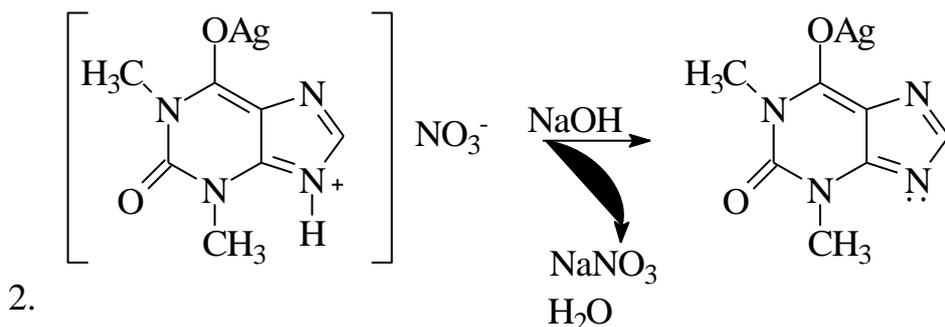
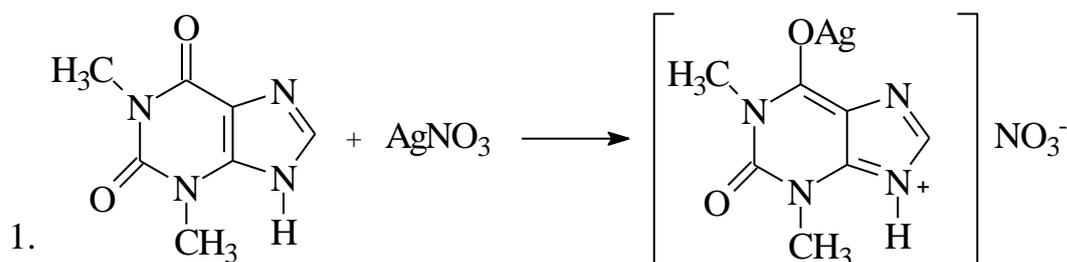
#### Цель работы:

Используя навыки, полученные на практических занятиях по общей химии, проверить методом нейтрализации пригодность теофиллина к практическому использованию.

**Принцип метода косвенной нейтрализации** (косвенное титрование или титрование по заместителю): используется один титрант, но им титруют не анализируемое вещество, а продукт реакции, образовавшийся при взаимодействии определяемого вещества со вспомогательным веществом ( $AgNO_3$ ).

При взаимодействии теофиллина с нитратом серебра образуется комплексная соль, которая в тоже время является и кислотой Бренстеда (реакция 1). Поэтому её оттитровывают раствором гидроксида натрия в присутствии индикатора фенолового красного (реакция 2).

#### Реакции, лежащие в основе метода:



Возможно, ион серебра  $\text{Ag}^+$  будет «объединять» 2 молекулы теофиллина, а не одну, и образовывать комплекс с координационным числом, равным 2. Это не повлияет на количественные расчеты, так как NH – кислотные центры, по которым «работает» NaOH независимы в образовавшемся на первой стадии комплексе и взаимодействует с NaOH в соотношении 1:1.

### Оборудование и реактивы:

1. Бюретки
2. Пипетки на 5 мл
3. Колбы конические для титрования
4. Раствор теофиллина (в эуфиллине) 0,4 г. эуфиллина в 100 мл
5. 0,1э раствор NaOH
6. Индикаторы феноловый красный (является основанием; его протонированная форма имеет желтый цвет, а депротонированная – ярко красный).  
Зона перехода цвета индикатора (оранжевая окраска) 6,8-8,4
7. 0,1э раствор  $\text{AgNO}_3$



### Практическая часть

#### Порядок выполнения работы:

1. Заполнить бюретку 0,1э раствором NaOH.
2. В колбу для титрования отмерить пипеткой 10 мл раствора теофиллина.
3. Добавить 2,5 мл 0,1э раствора  $\text{AgNO}_3$ .
4. Добавить одну каплю раствора фенолового красного.
5. Провести титрование приготовленной пробы 0,1э раствором NaOH до появления красного окрашивания (5 раз).
6. Результаты занести в таблицу 16.

Таблица 16. Исходные и расчетные данные опыта по определению теофиллина в эуфиллине методом нейтрализации (косвенное титрование)

№	Объём исследуемой пробы, мл	$C_3$ (NaOH), моль/л	Объём NaOH, пошедшего на титрование, мл	$T_{\text{NaOH/теоф.}}$ , г/мл	m теофиллина, г / 10 мл
1	10	0,1			
2	10	0,1			
3	10	0,1			
4	10	0,1			
5	10	0,1			

$$T_{\text{NaOH/теоф}} = \frac{C_3 (\text{NaOH}) \cdot M \left(\frac{1}{z} \text{теоф}\right)}{1000}$$

$$m (\text{теоф. в } 10 \text{ мл}) = T_{\text{NaOH/теоф.}} \times V_{\text{мл}} (\text{NaOH})$$

Рассчитать массу теофиллина в 100 мл раствора (то есть в 0,4 г. исследуемого препарата эуфиллина), которого должно быть не менее 99% (ГОСТ). Провести статистическую обработку результатов. Сделать вывод, сравнивая полученный результат с ГОСТом.

### Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Какова кислотность среды в точке эквивалентности?
2. Какой способ титрования используется в данном методе?
3. Какая роль отводится I реакции? Почему нельзя провести прямое титрование?
4. К какому типу взаимодействий можно отнести I реакцию?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №13

### Реакционная способность оксосоединений (формальдегида, ацетона).

#### Цель работы:

Провести качественные реакции на оксо-группу и сравнить реакционную способность альдегидов и кетонов в реакциях окисления и присоединения – замещения ( $A_N \rightarrow E$ ).

#### Реактивы:

1. 10% раствор едкого натра.
2. 2% раствор сернокислой меди.
3. Раствор формалина.
4. Ацетон.
5. Раствор 2,4-динитрофенилгидразина солянокислого.



#### Практическая часть

**Опыт №1. ОТНОШЕНИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА И АЦЕТОНА К ОКИСЛЕНИЮ ЩЕЛОЧНЫМИ РАСТВОРАМИ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

## Ход выполнения работы

	Этапы работы	Последовательность выполнения
1	Приготовление гидроксида меди (II)	Поместить в каждую из двух пробирок по 5 капель 10% гидроксида натрия и воды, добавить по 1 капле 2% раствора сульфата меди
2	Проведение реакции с исследуемыми растворами (формалином и ацетоном)	К выпавшему осадку в каждую из пробирок прибавить по 3 капли одного из исследуемых растворов, пробирки осторожно нагреть
3	Результаты опытов занести в таблицу 17	

Таблица 17. Отношение формальдегида и ацетона к окислению гидроксидом меди (II)

№ раствора	Образование осадка (+/-)	Цвет осадка	Результат определения (формальдегид/ацетон)
1			
2			

### Опыт №2. ОБРАЗОВАНИЕ 2,4-ДИНИТРОФЕНИЛГИДРАЗОНА ФОРМАЛЬДЕГИДА

В пробирку поместить 5 капель раствора 2,4-динитрофенилгидразина. Добавить 1-2 капли раствора формальдегида до появления желтого осадка. Провести этот же опыт с ацетоном.

### ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. На основании экспериментальных данных сравнить способность формальдегида и ацетона к окислению.
2. Написать уравнение реакции окисления формальдегида гидроксидом меди.
3. Написать уравнение реакции «серебряного зеркала» для формальдегида. Что произойдет с продуктами реакции при их дальнейшем окислении, то есть при избытке окислителя? Написать уравнение реакции.
4. Написать схему реакции получения 2,4-динитрофенилгидразона формальдегида и описать механизм. Привести примеры реакций, протекающих по этому механизму.
5. Будет ли ацетон вступать в реакцию с 2,4-динитрофенилгидразином? Почему?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №14

### Реакции обнаружения ацетатов, бензоатов и салицилатов.

#### Цель работы:

Овладеть качественными методами обнаружения в исследуемых растворах ацетатов, салицилатов и бензоатов.

#### Реактивы и оборудование:

1. Пробирки.
2. Пипетки.
3. 2% раствор  $\text{FeCl}_3$ .
4. 0,1 э раствор  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .
5. 0,1 э раствор  $\text{CH}_3\text{COONa}$ .
6. Концентрированная  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .
7. 15% раствор  $\text{HCl}$ .
8. Этиловый спирт.
9. Раствор хлороформа.
10. 2% раствор  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .
11. 2% раствор бензоата натрия.
12. 2% раствор салицилата натрия.



### Практическая часть

#### Опыт №1. ОБНАРУЖЕНИЕ АЦЕТАТОВ

##### а) По образованию сложного эфира

Ацетаты определяются по образованию этилацетата, имеющего запах свежих яблок.

К 5 каплям раствора уксусной кислоты добавить равное количество этилового спирта, прилить 5 капель концентрированной серной кислоты. Обнаружить образование этилацетата по приятному освежающему запаху.

#### Вопросы для защиты работы

1. Написать схему реакции образования этилацетата.
2. По какому механизму осуществляется реакция этерификации? Какую роль в этой реакции выполняет концентрированная серная кислота?

##### б) По реакции с хлоридом железа (III).

К 10 каплям раствора ацетата натрия добавить 5 капель раствора хлорида железа (III). Образуется **буро-красный осадок** и характерный запах.

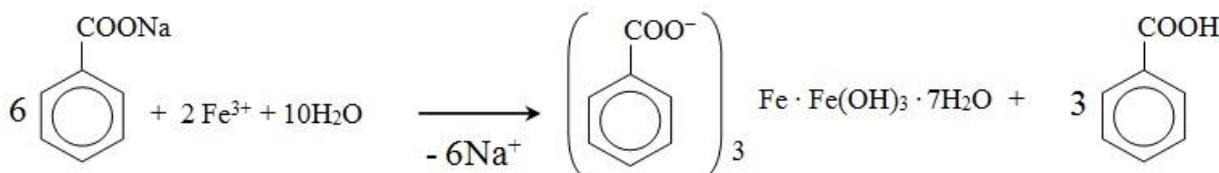
## Вопросы для защиты работы

1. Написать уравнение реакции взаимодействия ацетата натрия с хлоридом железа (III).
2. Образование какого вещества в результате реакции объясняет возникновение запаха?

### Опыт №2. ОБНАРУЖЕНИЕ БЕНЗОАТОВ

а) По реакции с хлоридом железа (III)

**Принцип:** *Нейтральные* растворы бензоатов образуют с хлоридом железа (III) осадок *розовато-желтого цвета*:



**Ход опыта:** К 10 каплям бензоата натрия добавить 1-2 капли хлорида железа (III). Наблюдается образование осадка. Осадок растворяется в эфире.

**При pH >7** хлорид железа (III) образует  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ .

**В кислой среде** выделяется осадок бензойной кислоты *белого цвета*. В этом можно убедиться, если, измерив pH полученного в опыте раствора, добавлять к нему по каплям HCl до pH 1. Для сравнения можно то же самое проделать с исходным раствором бензоата натрия. Объяснить результат.

б) По реакции с сульфатом меди

**Ход опыта:** К 10 каплям раствора бензоата натрия добавить 10 капель воды и 1-2 капли раствора сульфата меди. Появляется голубое окрашивание. К полученному раствору добавить 1 мл хлороформа. Окраска переходит в органический слой, а водный слой обесцвечивается. Объяснить наблюдения.

**ЗАДАНИЕ:** Записать схемы качественных реакций на бензоаты. К какому типу реакций их можно отнести?

### Опыт №3. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА САЛИЦИЛАТ-ИОН

а) Реакции с хлоридом железа (III)

**Принцип:** В зависимости от соотношения реактива и препарата, а также pH среды, салицилат-ион образует с хлоридом железа (III) различно окрашенные комплексные ионы. При pH 2–3 образуется окрашенный в *фиолетовый цвет* моносалицилат [предполагаемого состава  $\text{Fe}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_4(\text{O})\text{CO}_2$ ], который разрушается при pH 1 и ниже, и выпадает белый осадок салициловой кислоты.

**Ход опыта:** К 10 каплям салицилата натрия прибавить 10 капель воды и 4 капли раствора хлорида железа (III). Появляются *красно-бурые кристаллики* на фоне *оранжево-бурого раствора*. Измерив pH, добавлять по

каплям 15% раствор HCl до pH 1. *Цвет раствора* при этом сначала меняется до вишневого, затем до фиолетового; красные кристаллики исчезнут, но появится **белый творожистый осадок**.

**Объяснить**, почему изменяется цвет раствора в ходе опыта, а красные кристаллики исчезают. О чем свидетельствует появление белого осадка? Написать схему реакции взаимодействия салицилата натрия с хлоридом железа (III).

б) *Реакции с сульфатом меди*

**Ход опыта:** К 10 каплям салицилата натрия прилить 10 капель воды, 1-2 капли раствора сульфата меди. Раствор окрашивается в зеленый цвет. Добавить 1-2 мл хлороформа. Зеленая окраска водного слоя сохраняется. Объяснить наблюдения. Записать схему реакции взаимодействия салицилата натрия с сульфатом меди.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №15

### Качественные реакции на углеводы

**Цель работы:** Научиться идентифицировать некоторые углеводы, с помощью качественных реакций.

**Задачи:** Выявить углевод, находящийся в растворе, проводя этот раствор через реакции Фелинга, Барфедда, Биалея, Велька и Селиванова. Получить озон глюкозы.

**Реактивы и оборудование:**

1. Содержимое флаконов 1, 2, 3, 4, 5 с растворами углеводов.
2. Реактив Фелинга: готовят два раствора А (34,6 г  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  в 500 мл раствора) и Б (173 г сегнетовой соли и 70 г гидроксида натрия в 500 мл раствора). Растворы хранят отдельно. Перед употреблением смешивают равные объемы раствора А и Б.
3. Реактив Барфедда: 13,3 г ацетата меди растворяют в 100 мл горячей воды, фильтруют и к фильтрату прибавляют 1,9 мл ледяной уксусной кислоты.
4. Раствор Селиванова: 0,05 г резорцина растворяют в 100 мл разбавленной соляной кислоты (1:1).
5. Реактив Биалея – орциновый реактив: 0,2 г орцина растворяют в 100 мл 30 % соляной кислоты, добавляют 0,1 г хлорида железа (III). Раствор хранят в темной склянке.
6. Аммиак водный концентрированный 25%.
7. Гидроксид калия 20%.
8. Мерные конические пробирки.
9. Капельницы и пипетки на 1 и 2 мл.
10. Кипящая водяная баня.

11. Пробирки в штативах.
12. Спиртовки и держатели.



## Практическая часть

### Опыт №1. РЕАКЦИЯ С РЕАКТИВОМ ФЕЛИНГА

**Принцип:** Все моносахариды и некоторые дисахариды (лактоза и мальтоза) обладают редуцирующим действием, то есть легко окисляются ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в щелочной среде, восстанавливая ионы меди; при этом образуется гидрат закиси меди  $\text{CuOH}$  – желтого цвета, который при длительном нагревании переходит в закись меди  $\text{Cu}_2\text{O}$  – красного цвета.

### Опыт №2. РЕАКЦИЯ БАРФЕДА

**Принцип:** Тот же, что и в реакции Фелинга, но окисление сахара протекает не в щелочной среде, а в среде, близкой к нейтральной. В этих условиях редуцирующие дисахариды, в противоположность моносахаридам, практически не окисляются, а, следовательно, не восстанавливают реактив Барфедда, что позволяет отличить их от моносахаридов.

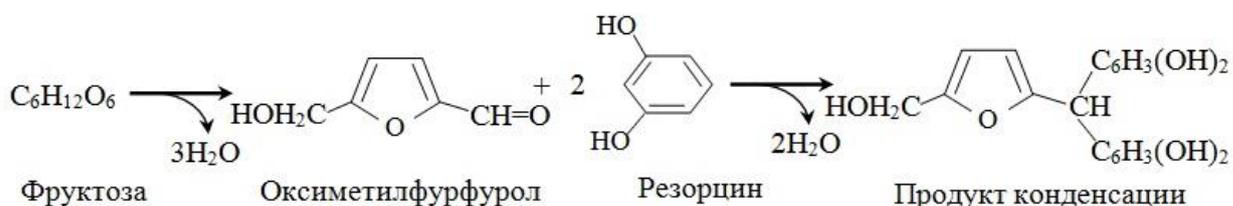
### Опыт №3. РЕАКЦИЯ НА ПЕНТОЗЫ ПО БИАЛЮ

**Принцип:** При нагревании с концентрированными кислотами от пентоз отщепляется вода и образуется фурфурол, который конденсируется с орцином, давая голубовато-зеленоватое окрашивание.



### Опыт №4. РЕАКЦИЯ СЕЛИВАНОВА НА ФРУКТОЗУ

**Принцип:** В кислой среде фруктоза теряет воду и превращается в оксиметилфурфунол, который конденсируется с резорцином, давая соединение, окрашенное в красный цвет.

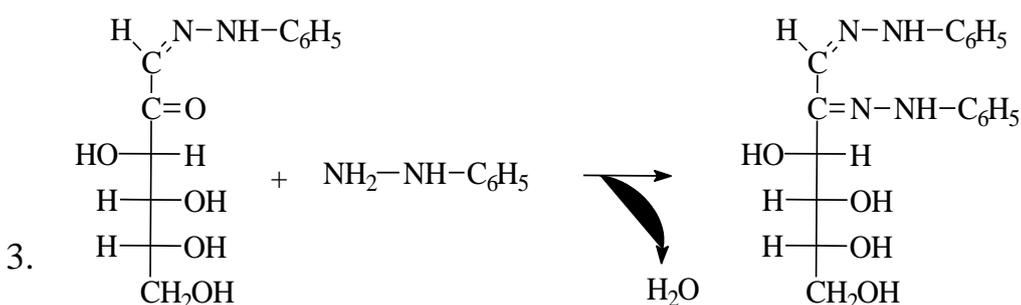
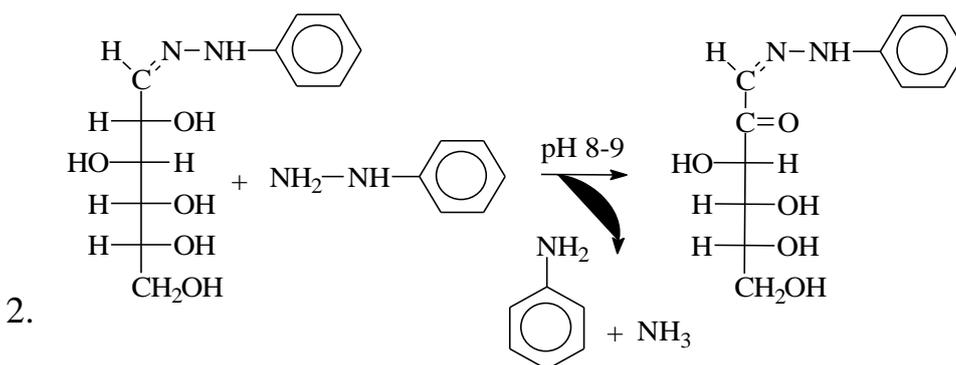
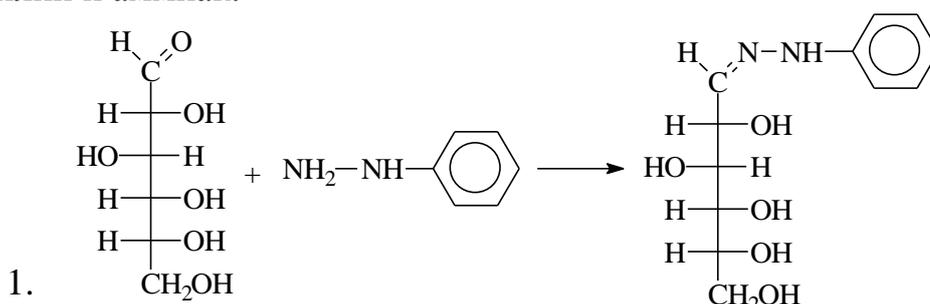


## Опыт №5. РЕАКЦИЯ ВЕЛЬКА НА ЛАКТОЗУ И МАЛЬТОЗУ

**Принцип:** Редуцирующие дисахариды с концентрированным раствором аммиака в щелочной среде при нагревании дают *кирпично-красное* окрашивание.

## Опыт №6. ПОЛУЧЕНИЕ ОАЗОНА ГЛЮКОЗЫ

**Принцип:** При обработке глюкозы избытком фенолгидразина образуется фенолгидразон глюкозы (реакция 1). При добавлении щелочи образуется оазон глюкозы (реакции 2,3). При этом второй атом углерода глюкозы окисляется молекулой фенолгидразина, которая восстанавливается в анилин и аммиак.



**Ход работы** и результаты опытов представить в виде таблицы.

№ опыта	Исслед. раствор	Реактивы	Условия реакции	Результат
1	1 мл	1 мл р-ва Фелинга	нагреть до кипения	
2	1 мл	1 мл р-ва Барфедда	кипятить 3 мин	
3	1 мл	1 мл нагретого до	кипятить 2-3 мин.	

		кипения Биала		
4	1 мл	1 мл раствора Селиванова	кипятить 1 мин.	
5	2 мл	1,3 мл $\text{NH}_3 \cdot \text{HON}$ конц. + 3 кап. КОН 20%	кипятить 2-3 мин.	
6	1 мл	1 мл фенилгидразина + на кончике шпателя сухого фенилгидразина  поместить пластинку NaOH	нагреть  охладить  нагреть до помутнения	желтый фенилгидразон  появляется малиновое кольцо анилина
Выделение аммиака определяют по посинению мокрой индикаторной бумаги				

### Вопросы для защиты работы

1. Будет ли фруктоза давать положительную реакцию Фелинга?
2. Какой реакцией можно отличить глюкозу от фруктозы?
3. Какой реакцией можно отличить рибозу от глюкозы и мальтозу от сахарозы, а также лактозу от галактозы?
4. Можно ли получить озон редуцирующего дисахарида?

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №16

#### Количественное определение концентрации НАДН в его растворе методом перманганатометрии

Растворы НАДН используются в научных лабораториях с целью определения активности некоторых ферментов класса оксидо-редуктаз или их метаболитов в биологических жидкостях. Знание точной концентрации НАДН при этом совершенно необходимо.

Между тем, хранение кристаллического НАДН и тем более его растворов требует определенных условий, при несоблюдении которых НАДН разрушается. Образуются вещества, мешающие проводить исследования с ферментами (ингибиторы ферментов).

Согласно справочным данным, растворы НАДН и его  $\text{Na}_2$ -соли устойчивы при хранении в 50 мМ трис-буфере ( $\text{pH}=7,4$ ) в течение 1 недели при  $4^\circ\text{C}$  и 1 месяц при  $-20^\circ\text{C}$ . Устойчивость растворов НАДН повышается в щелочной среде и снижается в кислотной ( $\text{pH} \leq 7$ ) и комнатной температуре. Однако, не совсем ясно, можно ли работать с обычными водными растворами НАДН в течение, например недели, оставляя их в холодильнике только часов на 12 и без использования специальных буферов на основе

трис(гидроксиметил)- аминметана. Выяснению данного вопроса и посвящена эта работа.

**Цель:** выяснить, выявляется ли аналитическая концентрация НАДН методом перманганатометрии после хранения его водных растворов в обычных условиях в течение 1-7 дней и есть ли потери концентрации.

### Оборудование и реактивы:

1. Бюретки.
2. Пипетки.
3. Колбы для титрования.
4. Спиртовки.
5. 0,004 э  $\text{KMnO}_4$ .
6. 0,005 э  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ .
7. 20%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $\rho=1,14$  г/мл).
8. 0,002 э НАДН– $\text{Na}_2$ -соль ( $M = 709$  г/моль), приготовленный за 1-7 дней до эксперимента и хранившийся в холодильнике в течение 12–14 часов.

### Принцип метода:

Определение НАДН основано на окислении НАДН перманганатом калия в кислой среде.  $\varphi$  ( $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ ) = -0,32 В ( $\text{pH} = 7$ );  $\varphi^\circ$  ( $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$ ) = 1,51 В.



### Практическая часть

#### Этапы работы:

1. Уточнить концентрации рабочего раствора  $\text{KMnO}_4$  по  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ .
2. Определить концентрацию НАДН по титрованному раствору  $\text{KMnO}_4$ .
3. Сравнить концентрации НАДН: экспериментальную и аналитическую. Сделать вывод.

#### Ход работы:

1. В колбочку для титрования внести 2 мл 0,005э раствора оксалата натрия и 1 мл 20% серной кислоты. Содержимое колбочки нагреть, не доводя до кипения. Горячий раствор оттитровать перманганатом калия до появления слабо - розовой устойчивой окраски. Титрование повторить 3-5 раз и рассчитать средний объем титранта, потраченный на титрование. По полученным данным рассчитать  $S_э$  ( $\text{KMnO}_4$ ) в моль/л.

2. В другую колбочку для титрования внести 2 мл определяемого раствора НАДН и 1-2 капли 20% серной кислоты и оттитровать (без подогрева)  $\text{KMnO}_4$ ; отметить объем  $\text{KMnO}_4$ , пошедший на титрование.

Используя полученные данные, рассчитать эквивалентную концентрацию НАДН в моль/л.

3. Сравнить полученную концентрацию НАДН с аналитической (т.е. приготовленной по расчету навески кристаллического НАДН–Na<sub>2</sub>-соли; см. раздел «Реактивы»).

**Сделать вывод** о соответствии концентраций и устойчивости растворов НАДН в течение определенного времени (время устанавливается преподавателем).

Занести все экспериментальные результаты в таблицу 18.

Таблица 18. Исходные и расчетные данные опыта по определению НАДН методом перманганатометрии

№ опытов	Объем пробы, (Na <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ) мл	Объем титранта (KMnO <sub>4</sub> ), мл	C <sub>3</sub> (KMnO <sub>4</sub> ), моль/л	№ опытов	Объем пробы (НАДН), мл	Объем титранта (KMnO <sub>4</sub> ), мл	C <sub>3</sub> (НАДН), моль/л
1	2			1	2		
2	2			2	2		
3	2			3	2		

#### Расчеты C<sub>3</sub>(X), моль/л

$$C_3(\text{KMnO}_4) = \frac{C_3 \cdot V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)}{V(\text{KMnO}_4)} ; \quad C_3(\text{НАДН}) = \frac{C_3 \cdot V(\text{KMnO}_4)}{V(\text{НАДН})}$$

#### Вопросы для защиты работы

1. Написать уравнения соответствующих двум этапам работы реакций (в молекулярном и кратком ионном виде).
2. Показать фактор эквивалентности НАДН–динатриевой соли и молярную массу эквивалента этого вещества  $M\left(\frac{1}{2}\text{НАДН}\right)$ .

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №17

### Идентификация аминокислот в белке.

**Цель работы:** ознакомиться с качественными методами идентификации белковых аминокислот.

**Задачи:** На основании знания качественных реакций на  $\alpha$ -аминокислоты и пептидную связь, студенты должны установить содержимое флаконов № 1, 2, 3, 4 проводя с каждым ксантопротеиновую, нингидринную и биуретовую реакции.

#### Приборы и материалы:

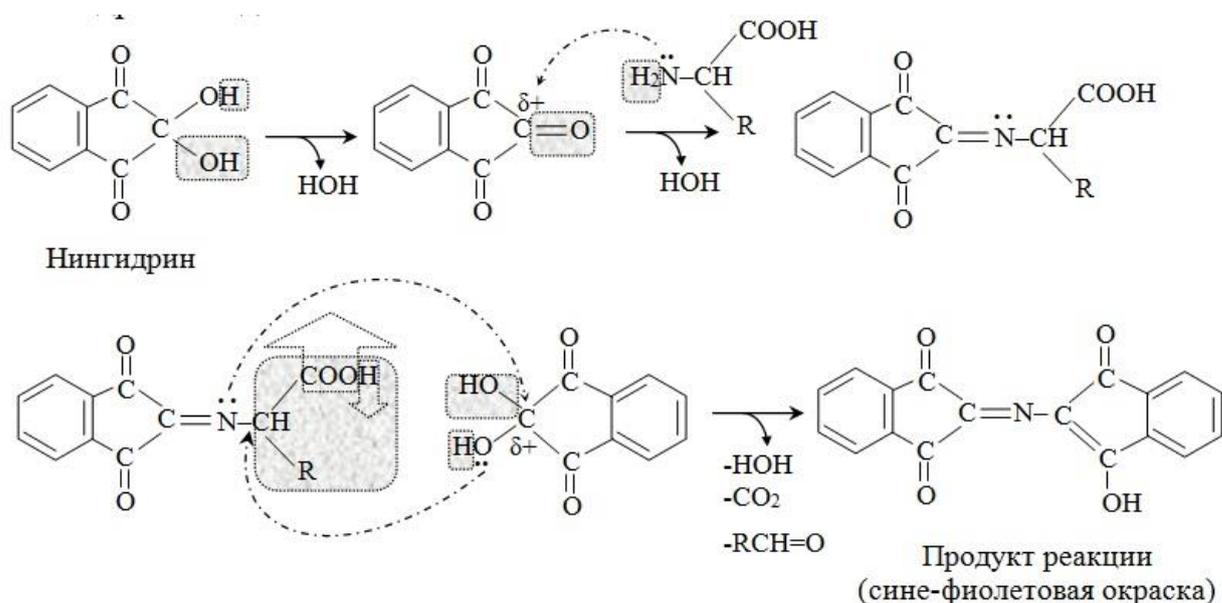
1. Содержимое флаконов 1, 2, 3, 4, 5 с 0,01%-ными растворами аминокислот или белка.
2. 1% раствор нингидрина в ацетоне (95 %-ном).
3. 20%  $\text{HNO}_3$ .
4. Концентрированный раствор гидроксида натрия (30%).
5. 10% раствор гидроксида натрия.
6. 5% уксуснокислый свинец.
7. 20% раствор сернокислой меди.
8. Мерные конические пробирки.
9. Пипетки на 1 и 5 мл.
10. Кипящая водяная баня.
11. Пробирки стеклянные химические в штативах.
12. Спиртовки и держатели.



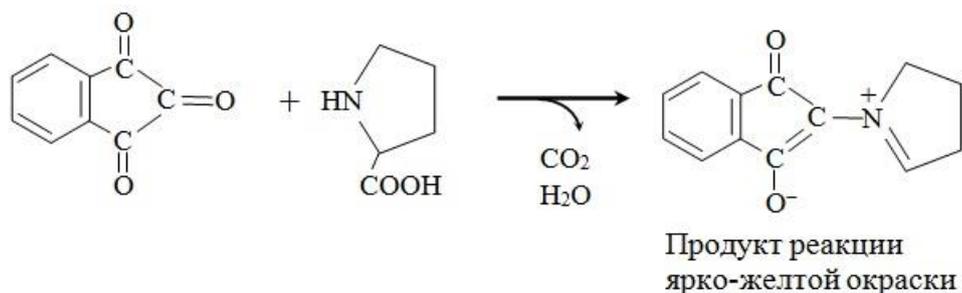
#### Практическая часть

##### Опыт №1. НИНГИДРИННАЯ РЕАКЦИЯ

**Суть:** Продукт реакции  $\alpha$ -аминокислот с нингидрином имеет *сине-фиолетовое* окрашивание (но с пролином – *ярко-желтое*). В ходе этой реакции атом азота  $\alpha$ -аминокислоты (кроме пролина) "сшивает" 2 молекулы нингидрина в единый комплекс.



Реакция нингидрина с пролином имеет некоторые особенности:



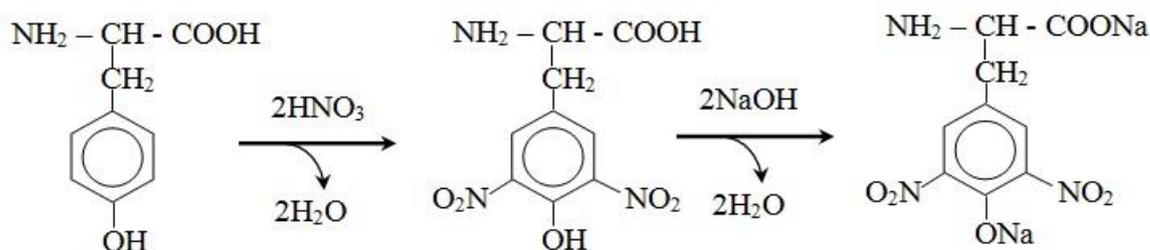
Нингидринная реакция используется для визуального обнаружения  $\alpha$ -аминокислот на хроматограммах и их спектрофотометрического определения.

**Ход опыта:** К 3 мл исследуемого раствора добавляют 1 мл свежеприготовленного 1% нингидрина. Смесь нагревают до кипения на спиртовке и через 1 минуту охлаждают. Появляется сине-фиолетовое окрашивание, обусловленное присутствием комплекса, свидетельствующего о существовании  $\alpha$ -аминогруппы в свободной  $\alpha$ -аминокислоте.

# Для пролина рекомендуют использовать нагревание на водяной бане при 70 °С в течение 5 минут.

## Опыт №2. КСАНТОПРОТЕИНОВАЯ РЕАКЦИЯ НА АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ

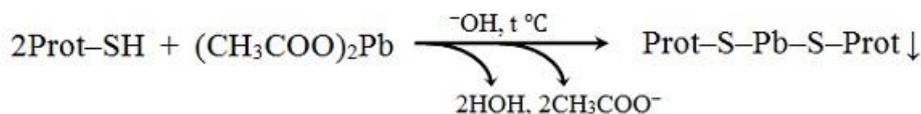
**Принцип:** При действии на тирозин 20 % азотной кислоты образуется нитросоединение, окрашенное в *желтый* цвет. При добавлении к нему щелочи, окраска становится *оранжевой* в связи с ионизацией фенольной гидроксильной группы и усилением вклада аниона в сопряжение.



**Ход опыта:** К 1 мл исследуемого раствора добавить 0,5 мл 20 % азотной кислоты, нагреть до кипения. После охлаждения добавить по каплям концентрированный раствор NaOH. Проявляется *оранжевое* окрашивание, обусловленное превращением нитропроизводных циклических аминокислот в соли.

### Опыт №3. ОБНАРУЖЕНИЕ МЕРКАПТОГРУППЫ В БЕЛКАХ И ЦИСТЕИНЕ

**Принцип:** Из всех функциональных групп белка в первую очередь с ионами свинца  $\text{Pb}^{2+}$  взаимодействуют тиольные группы, так как  $\text{Pb}^{2+}$  это мягкая кислота, а тиольная группа цистеина SH – мягкое основание. Реакцию белковой молекулы с  $\text{Pb}^{2+}$  можно представить следующим образом:

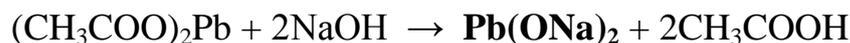


Образуется *черный осадок* – нерастворимые меркаптиды свинца.

Однако считается, что в условиях данного опыта белок гидролизуется, и освободившиеся серусодержащие кислоты (в частности, цистеин RSH) теряют серу в виде сульфида натрия  $\text{Na}_2\text{S}$ :



Образовавшийся сульфид-ион  $\text{S}^{2-}$  взаимодействует с плюмбитом натрия  $\text{Pb}(\text{ONa})_2$  и осаждается его катионами  $\text{Pb}^{2+}$  в виде сульфида свинца  $\text{PbS}$  (осадок черного цвета). Плюмбит натрия образуется из ацетата свинца  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  под действием щелочи:



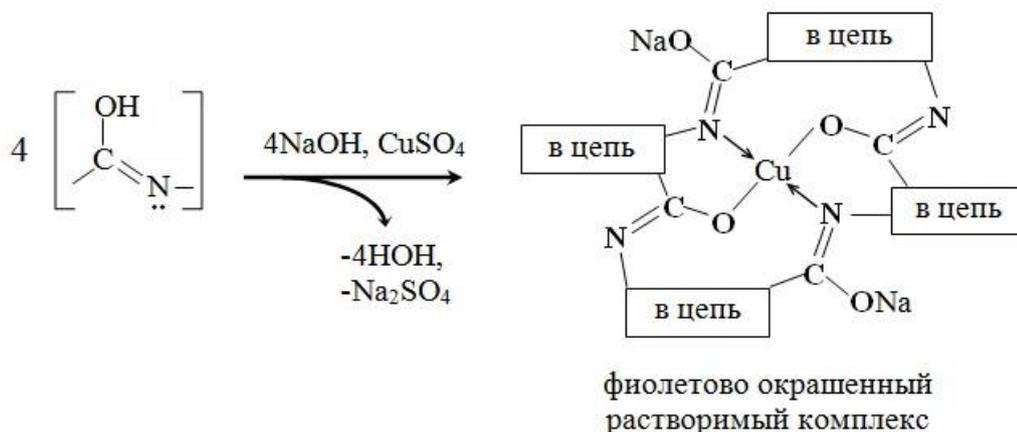
# Этой реакцией можно обнаружить и цистин.

**Ход опыта:** К 1 мл раствора цистеина (или белка) добавить 0,5 мл 30% раствора NaOH, перемешать и кипятить на водяной бане 10 минут, затем добавить 1-2 капли 5% раствора уксуснокислого свинца и продолжить нагревание до образования черного осадка.

## Опыт №4. БИУРЕТОВАЯ РЕАКЦИЯ

**Суть:** При добавлении к раствору белка раствора NaOH и CuSO<sub>4</sub> появляется *фиолетовое* окрашивание, обусловленное наличием хелатного комплекса между пептидными группами и ионами меди Cu<sup>2+</sup>.

В щелочной среде пептидные группы могут существовать в енольной форме. Поэтому биуретовую реакцию можно представить:



Такое же окрашивание дает и биурет (амид аллофановой кислоты NH<sub>2</sub>-CO-NH-CO-NH<sub>2</sub>), если к нему добавить CuSO<sub>4</sub> в щелочной среде. Отсюда и одноименные названия: реактива (биуретовый) и соответствующей реакции (биуретовая).

Биуретовую реакцию дают все белки, а также олигопептиды, содержащие не менее двух пептидных связей.

**Ход опыта:** К 0,5 мл белка добавить 0,5 мл 10% раствора NaOH и 3 капли раствора CuSO<sub>4</sub>. Образуется фиолетовое окрашивание.

Результаты наблюдений заносятся в таблицу 19.

Таблица 19. Оценка наблюдений, связанных с качественными реакциями на белки

№	Реакция с нингидрином +/-	Ксантопротеиновая реакция +/-	Реакция с ацетатом свинца +/-	Биуретовая реакция +/-	Вывод о наличии АК* в растворе
1					
2					
3					
4					
5					

\*АК - аминокислота

### Вопросы для защиты работы

1. Написать реакцию взаимодействия триптофана с нингидрином. Какие превращения претерпевают аминокислоты в результате нингидринной реакции?

2. По какому типу протекает ксантопротеиновая реакция с тирозином? Как её можно еще назвать? Объяснить, почему при попадании на кожу концентрированной азотной кислоты наблюдается желтое окрашивание.

3. Написать биуретовую реакцию. Можно ли с помощью биуретовой реакции различить раствор  $\alpha$ -аминокислоты и раствор белка?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №18

### Определение изоэлектрической точки (pI) сывороточного альбумина. Влияние pH и электролитов на степень набухания желатина

#### Реактивы и оборудование:

1. 0,1э и 0,5 э  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .
2. 0,1э и 0,5 э  $\text{CH}_3\text{COONa}$ .
3. 0,1э  $\text{HCl}$ .
4. 0,1э  $\text{NaOH}$ .
5. 0,5э  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{KBr}$ ,  $\text{KCNS}$ .
6. 95% этиловый спирт.
7. Яичный альбумин.
8. Порошок желатина.
9. Пробирки.
10. Пипетки.



#### Практическая часть

#### Опыт №1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ pI СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

**Принцип метода:** Белок легко выпадает в осадок в изоэлектрическом состоянии. Поэтому, то значение pH, при котором белок выпадет в осадок, и будет изоэлектрической точкой. Осаждение белка проводят путем высаливания дегидратирующим средством – этиловым спиртом. Осаждение констатируется помутнением раствора.

#### Этапы метода:

1. Приготовить 8 растворов ацетатного буфера ( $K_a=1,75 \cdot 10^{-5}$ ) с различным значением pH, предварительно рассчитав его по данным таблицы с помощью уравнения Гендерсона-Гассельбаха.

2. Использовать приготовленные буферные растворы как среду для высаливания белка этиловым спиртом.

3. Выяснить, в какой среде раствор белка мутнеет.

Таблица 20. Приготовление буферных растворов.

Пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8
Объем 0,1 э $\text{CH}_3\text{COOH}$ , мл	8	4	2	1	1	0,5	0,5	0,5
Объем 0,1 э $\text{CH}_3\text{COONa}$ , мл	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	2	4
pH								

**Ход опыта:** В 8 пробирок заливают по 1 мл приготовленных ацетатных буферных растворов. В каждую пробирку добавляют по 1 мл сывороточного альбумина и по 5 капель этилового спирта. Содержимое тщательно перемешивают и отмечают пробирку (а значит, и значение рН), в которой наблюдается наибольшее помутнение. Записывают ответ на поставленный вопрос – рI (яичного альбумина).

### **Опыт №2. ВЛИЯНИЕ рН НА СТЕПЕНЬ НАБУХАНИЕ БЕЛКА**

В три одинаковых мерных пробирки вносят по 0,5 г порошка желатина (высота осадка 1 см). В одну пробирку наливают 8 мл 0,1 э HCl, в другую – 8 мл 0,1 э NaOH, в третью – 4 мл 0,5 э CH<sub>3</sub>COOH и 4 мл 0,5 э CH<sub>3</sub>COONa. Содержимое пробирок перемешивают и оставляют на 1 час (в течение этого часа растворы тщательно перемешивают). По истечению этого времени, измеряют высоту набухшего геля. Строят диаграмму зависимости степени набухания желатина от рН.

### **Опыт №3. ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТОВ НА СТЕПЕНЬ НАБУХАНИЯ ЖЕЛАТИНА**

В 4 пробирки насыпают по 0,5 г порошка желатина, в каждую по отдельности добавляют по 8 мл 0,5 э K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, KBr, KCNS. Содержимое пробирок оставить на час, в течение которого производить периодическое перемешивание. Через час измерить высоту набухания желатина.

### **Вопросы для защиты работы**

1. Можно ли по изоэлектрической точке белка хотя бы как-то приближенно судить об его аминокислотном составе?
2. Какими свойствами обладает белок в изоэлектрической точке?
3. Какой заряд имеет белок при рН > рI и рН < рI?
4. Почему вне изоэлектрической точки белок трудно осадить?
5. Что такое степень набухания белка?
6. Объяснить зависимость степени набухания желатина от рН.
7. Как будет набухать желатин в изоэлектрической точке (рI 4,7)? Чем это объяснить?
8. Объяснить различное влияние анионов на процесс набухания желатина.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №19

### Определение констант жиров.

Константы жиров (йодное число, число омыления, кислотное и эфирное число), позволяют судить о качестве жира: степени его зрелости, степени ненасыщенности масел, о склонности их к прогорканию и другим изменениям, происходящим при хранении и переработке пищевых масел. Прогоркшие масла опасно употреблять в пищу, так как они являются источниками свободных радикалов, приводящих к химической модификации липидов биологических мембран, а также различных белков, нуклеиновых кислот, нарушая их функции.

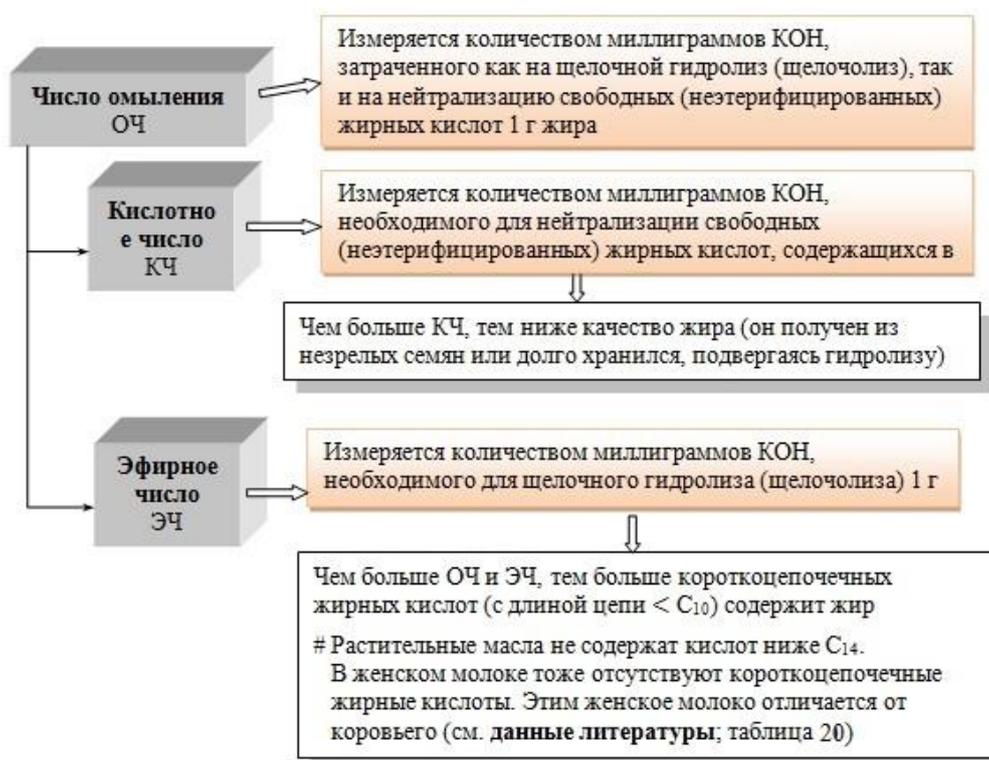
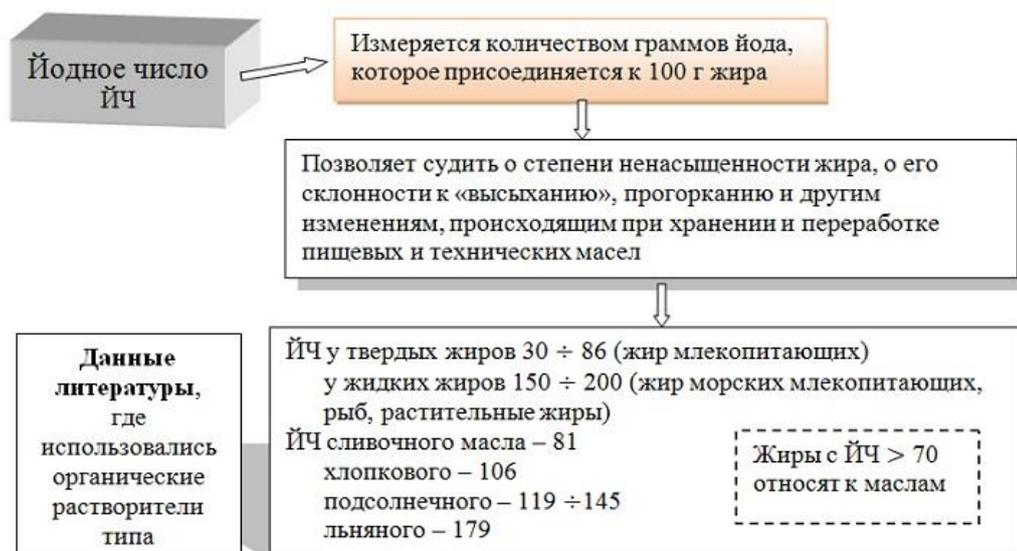
Масло, полученное из зрелых семян, содержит мало свободных жирных кислот и будет характеризоваться низким кислотным числом и высоким эфирным числом. В масле же из незрелых семян содержание свободных жирных кислот значительно. При хранении масла наблюдается гидролиз триглицеридов, который приводит к накоплению свободных жирных кислот, т.е. к возрастанию кислотности. Повышенная кислотность масла указывает на снижение его качества.

**Цель работы:** Показать возможность использования титриметрического анализа для определения констант жиров и оценки их качества.

#### **Оборудование и реактивы:**

1. Бюретки и колбочки для титрования.
2. Пипетки.
3. Обратные воздушные холодильники с пробирками (длина 70 см).
4. Водяная баня.
5. Растворитель жира (лучше – петролейный эфир, бензол, толуол, но в данной работе предлагается этиловый спирт).
6. 0,2% спиртовой раствор  $I_2$ .
7. 0,1% раствор  $Na_2S_2O_3$ .
8. Индикаторы: крахмал и фенолфталеин.
9. 0,5% спиртовой раствор КОН.
10. 0,5% HCl.
11. Дистиллированная вода.
12. Навеска жира (масла).

**Принципы методов определения констант жиров** и значение этих констант представлены в виде графологической схемы.



### Опыт 1. Определение йодного числа (ЙЧ).

Этапы метода	Ход работы
1. Подготовка исходного материала к работе (растворение жира в спирте и контрольная проба)	В колбу на 100 мл поместить 0,2г масла (или др. жидкого жира) и 10 мл спирта (подогреть на водяной бане, если плохо растворяется) – это <b>опытная проба</b> . Во второй колбе – только 10 мл спирта – это <b>контрольная проба</b> .
2. Проведение реакции йодирования в течение 5 мин.	В каждую пробу (опыт и контроль) прибавить по 5 мл 0,2 э спиртового раствора йода, перемешать, прилить 40 мл дистиллированной воды и хорошо встряхнуть, закрыв пробкой.

3. Титриметрический анализ $I_2$ : его остатка в опыте и всего количества в контроле.	Через 5 минут содержимое колб оттитровать 0,1 э раствором тиосульфата натрия сначала до появления слабо-желтого окрашивания, а затем, прибавив 10 капель крахмала, титровать до исчезновения синего окрашивания.
4. Расчет ЙЧ – по формуле, которая выводится на основе определения ЙЧ	<p>По определению: <math>ЙЧ = \frac{m(I_2) \times 100}{m(\text{жира})}</math>, г/100 ж (1)</p> $m(I_2) = T_{\text{тс}/I_2} \cdot \Delta V_{\text{мл}}(\text{тс}) = T_{\text{тс}/I_2} \cdot (V_1 - V_2)_{\text{мл}}(\text{тс}) =$ $= \frac{c_3(\text{тс}) \cdot M(\frac{1}{2}I_2)}{10^3} \cdot (V_1 - V_2)_{\text{мл}}(\text{тс}) = 127 \cdot 10^{-4} \cdot (V_1 - V_2)_{\text{мл}}(\text{тс}), \text{ г}$ <p>Полученное значение массы <math>m(I_2)</math> в г подставляем в формулу (1)</p> <p><b>Обозначения:</b> <math>V_1</math> – количество тиосульфата (тс), пошедшее на титрование контроля в мл;  <math>V_2</math> – количество тиосульфата (тс), пошедшее на титрование опыта в мл;</p>
# Расхождение в параллельных опытах допускается лишь в десятых долях получаемых йодных чисел	

**Опыт 2.** Определение кислотного числа (КЧ), числа омыления (ОЧ) и эфирного числа (ЭЧ).

Этапы метода	Ход работы								
<p>1. Подготовка исходного материала к работе. Берутся две экспериментальные серии:  <b>1 серия</b> – для определения числа омыления;  <b>2 серия</b> – для определения кислотного числа.</p>	<p>Взять 4 колбы на 100 мл: две – опытные (о), две – контрольные (к). В каждой серии – опыт и контроль</p> <div style="text-align: center;"> <table style="display: inline-table; border: none; margin-right: 20px;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">К</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">О</td> </tr> <tr> <td colspan="2"><b>1 серия</b></td> </tr> </table> <table style="display: inline-table; border: none;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">К</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">О</td> </tr> <tr> <td colspan="2"><b>2 серия</b></td> </tr> </table> </div> <p><b>В опытные колбы</b> поместить 0,5 г масла (или др. растопленного жира).  <b>В контрольные колбы</b> налить 0,5 мл дистиллированной воды.  Во все 4 колбы прилить по 15 мл 0,5 э спиртового раствора КОН.</p>	К	О	<b>1 серия</b>		К	О	<b>2 серия</b>	
К	О								
<b>1 серия</b>									
К	О								
<b>2 серия</b>									
<p>2. Проведение реакций гидролиза в <b>первой экспериментальной</b></p>	<p>Опытную и контрольную пробы <b>1-ой серии</b> закрыть пробками с обработанными воздушными холодильниками и поставить в</p>								

<p><i>серии</i> в течение 30-40 мин при нагревании</p>	<p>кипящую водяную баню на 30-40 минут, периодически встряхивая. Жидкость в колбах должна слабо кипеть, а верхняя часть трубки не нагреваться (длина трубки желательна 70 см.). После этого обе колбы охладить.</p>
<p>3. Титриметрический анализ избытка КОН (который не пошел на связывание свободных ЖК*) <i>во второй экспериментальной серии</i>. Он нужен для определения КЧ</p>	<p>Пока <i>первая серия</i> проб подвергается кипению, <i>вторую серию</i> можно подвергнуть анализу на свободные жирные кислоты (по КОН). В контрольную и опытную колбы <i>второй серии</i> прилить 15-20 мл воды, 3-4 капли фенолфталеина и титровать 0,5 э НСl до исчезновения розовой окраски. <i>Отмечают объемы</i> 0,5 э раствора НСl, пошедшего на титрование контроля <math>V_1</math> (колбы с водой) и опыта <math>V_2</math> (колбы с жиром). Разность между количеством НСl, пошедшей на титрование опыта и контроля, эквивалентна количеству КОН, которое израсходовано в реакциях солеобразования (образования мыла) со свободными жирными кислотами.</p>
<p>4. Расчет КЧ – по формуле, которая выводится на основе определения КЧ</p>	<p>По определению: <math display="block">КЧ = \frac{m(КОН) \cdot 10^3}{m(\text{жира})}, \text{ мг/г} \quad (2)</math>  <math display="block">m(КОН) = T_{НСl/КОН} \cdot \Delta V_{мл}(НСl) = T_{НСl/КОН} \cdot (V_1 - V_2)_{НСl} =</math>  <math display="block">= \frac{C_3(НСl) \cdot M\left(\frac{1}{Z}КОН\right)}{10^3} \cdot (V_1 - V_2)_{НСl} = \frac{28}{10^3} \cdot (V_1 - V_2)_{НСl}</math>          Это значение <math>m(КОН)</math> в г подставляем в (2)</p>
<p>5. Титриметрический анализ избытка КОН (который не пошел на связывание свободных ЖК* и не участвовал в щелочном гидролизе жира) <i>в первой экспериментальной серии</i>. Он нужен для определения ОЧ.</p>	<p>КОН <i>в первой серии</i> (после кипячения) анализировать так же, как и <i>вторую серию</i> (без кипячения), т.е. после добавления к <i>контролю</i> (пробе с водой) и <i>опыту</i> (пробе с жиром) 15-20 мл воды и 3-4 капель фенолфталеина <i>контроль и опыт</i> необходимо протитровать 0,5 э НСl до исчезновения розовой окраски. Разность между количеством НСl, пошедшим на титрование опыта и контроля, эквивалентна количеству КОН, которое израсходовано во всех реакциях солеобразования (в том числе, и щелочного гидролиза).</p>
<p>6. Расчет ОЧ</p>	<p>Проводится по той же формуле, что и КЧ, в которую надо подставить значения <math>V_1</math> и <math>V_2</math>, полученные в этой серии (после кипячения).</p>
<p>7. Расчет ЭЧ</p>	<p><math>ЭЧ = ОЧ - КЧ</math></p>

\* ЖК – жирные кислоты

ОЧ – число омыления, КЧ – кислотное число, ЭЧ – эфирное число.

Примечание: проведение гидролиза жира с помощью КОН и определение жирных кислот по КОН, а не NaOH связано с тем, что калиевые мыла лучше растворимы в условиях опыта.

**Сравните константы разных жиров в своих опытах (если такие проводились) и по данным литературы (см. таблицу 21).**

Таблица 21. Константы жиров (литературные данные\*\*)

	Подсолнечное масло	Рыжиковое масло	Сливочное масло	Свиной жир	Жир человека	Молоко женское	Молоко коровье
ЙЧ	119-145	133-155	27-36	46-66			
ОЧ	186-194	181-190	220	193-203			
$T_{пл.}^{\circ C}$	-16 ÷ -19	-15 ÷ -18	22 ÷ 32		17		
Состав ЖК, %	$C_{16}, C_{18}$	$C_{16}$	$C_{16}-25$ $< C_{14}-13$	$C_{16}-30$ $C_{18}-18$	$< C_{14}-8$ $C_{14}-3$ $C_{16}-25$ $C_{18}-8$	$> C_{10}$ $< C_{10}-0$ $C_{14}-20$ $C_{16}-15$ $C_{18}-15$	$C_4 - C_{18}$ $< C_{10} - 10$
насыщ.	6-12	6-9	$\sum \leq 50$	$\sum 39-49$	$\sum 44$	$\sum 50$	
олеиновая $C_{18:1}$	24-40	$< 27$	35	$\approx 41$	46	$\approx 32$	32
линолевая $C_{18:2}$	46-62	14-15	5	$\approx 5$	10		
линоленовая $C_{18:3}$		20-38	0		$\approx 0$		

\*\* Приведены данные с использованием органических растворителей типа петролейного эфира (но не этиловый спирт, как у нас). Поэтому ориентироваться можем только на сравнительные, а не на абсолютные величины.

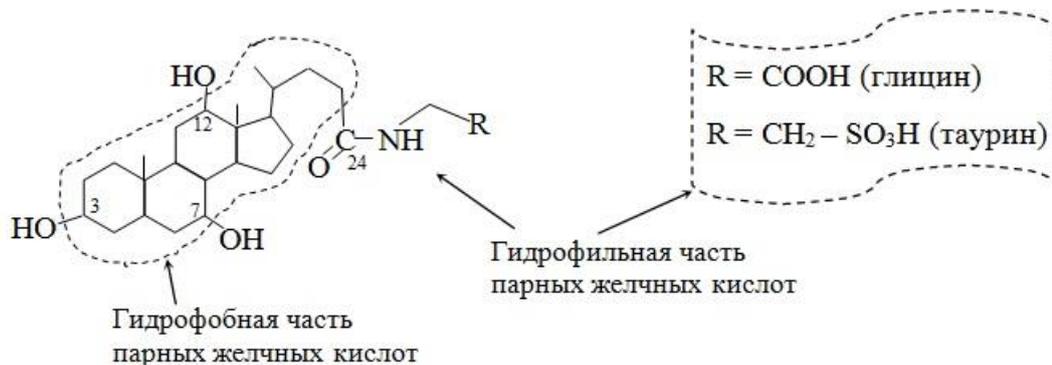
## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №20

### Определение поверхностного натяжения желчных кислот методом счёта капель.

Снижение поверхностного натяжения на границе раздела двух фаз с помощью ПАВ лежит в основе механизма эмульгирования жиров и снижения поверхностного конфликта на границе полярное – неполярное.

Одним из источников ПАВ в организме является желчь – продукт работы печёночных клеток. В составе пузырной желчи человека имеются вода (86,65%), желчные кислоты (9,14%), пигменты (2,98%), холестерин (0,26%), жирные кислоты и липиды (0,32%), неорганические соли (0,65%), в т. ч.  $Na^+ - 130 \text{ мМ}$ ,  $K^+ - 9 \text{ мМ}$ ,  $Ca^{2+} - 6 \text{ мМ}$ ,  $CO_3^{2-} - 75 \text{ мМ}$ ,  $HCO_3^- - 10 \text{ мМ}$ .

Видно, что из всех ПАВ большая доля приходится на желчные кислоты. Причем, последние находятся, главным образом, в конъюгированной с глицином или таурином форме, так называемые *парные желчные кислоты* (гликохолевая и таурохолевая).



Благодаря бифильной природе *парные желчные кислоты* и являются поверхностно-активными веществами (ПАВ) и участвуют в различных поверхностных явлениях:

- эмульгируют жир (разбивая большие капли на мелкие);
- адсорбируются на неполярных частях жирных кислот, образуя с ними холеиновые комплексы как транспортную форму жирных кислот в стенку кишечника (это процесс всасывания нерастворимых в воде жирных кислот);
- активируют ферменты панкреатическую липазу, разрушающую жир.

Гидролиз жира происходит на поверхности раздела фаз жир/вода и скорость этого процесса зависит от величины поверхности. Чем меньше капли, тем большая поверхность жира доступна для фермента. Парные желчные кислоты сглаживают поверхностный конфликт на границе раздела жир/водная среда фермента, погружаясь своей неполярной частью в жир, а полярной «головкой» - в водную среду или гидрофильный домен фермента.

Критерием поверхностной активности ( $g$ ) может служить величина снижения поверхностного натяжения ( $\Delta\sigma$ ) на определенном участке концентрации ( $\Delta C$ ), взятая с обратным знаком:

$$g = -\frac{\Delta\sigma}{\Delta C}, \quad \text{где } \Delta\sigma < 0, \Delta C > 0$$

Знак « $-$ » поставлен для того, чтобы величина поверхностной активности ( $g$ ) была положительной именно для ПАВ (отрицательная поверхностная активность ПАВ не имела бы физического смысла!)

### **Цель работы:**

Убедиться, что желчные кислоты желчи относятся к ПАВ.

### **Задачи:**

1. Методом счета капель определить поверхностное натяжение желчи при разных ее разведениях
2. Построить изотерму поверхностного натяжения и по графику определить поверхностную активность на трех участках изменений концентрации желчи
3. Сделать выводы о поверхностной активности желчи (фактически, желчных кислот) в сравнении с карбоновыми кислотами (контрольный эксперимент или справочные данные).

### **Оборудование и реактивы:**

1. Сталагмометр.
2. Стеклянные стаканчики.
3. Мензурки.
4. Медицинская желчь – источник желчных кислот.
5. Дистиллированная вода.

**Принцип метода** основан на зависимости: величина поверхностного натяжения жидкости обратно пропорциональна числу капель, истекаемых из специально подобранного капилляра (сталагмометра), то есть в нашем случае

$$\frac{\sigma(\text{желчи})}{\sigma(\text{H}_2\text{O})} = \frac{n(\text{H}_2\text{O})}{n(\text{желчи})}$$

где  $\sigma$  – поверхностное натяжение,  $n$ - число капель.



### **Практическая часть**

#### **Ход работы:**

1. Приготовить разные разведения желчи:  
желчь: вода = 1: 1,5; = 1:5,0; =1:10,0; =1:100,0; =1:150.
2. Через резиновую трубку, надетую на верхний конец сталагмометра засасывают из стаканчика жидкость до верхней метки сталагмометра.

Затем считают капли жидкости, вытекающие из объема до нижней метки сталагмометра. Опыт проделать с дистиллированной водой и исследуемыми растворами желчи.

3. Поверхностное натяжение  $\sigma$  рассчитать по формуле:

$$\sigma(\text{желчи}) = \sigma(\text{H}_2\text{O}) \cdot \frac{n(\text{H}_2\text{O})}{n(\text{желчи})}$$

4. Данные занести в таблицу 22.

Таблица 22. Данные опыта по определению поверхностного натяжения желчных кислот методом счета капель

№	Исследуемый раствор	C(желчи), %	Число капель	$\sigma$ н/м·10 <sup>-2</sup>
1	H <sub>2</sub> O дистилл.	0		7,25
2	желчь	100		
3	желчь: вода 1: 1,5	40		
4	желчь: вода 1:5,0	16,6		
5	желчь: вода 1:10,0	9		
6	желчь: вода 1:100,0	0,9		
7	желчь: вода 1:150	0,66		

5. Построить график зависимости  $\sigma$ , н/м от C<sub>%</sub> желчи (т.е. изотерму поверхностного натяжения).

6. Определить по графику величину поверхностной активности  $g$ :

$$g = -\frac{\Delta\sigma}{\Delta C_{\%}} = -\frac{\sigma_2 - \sigma_1}{C_{\%2} - C_{\%1}} = \frac{\sigma_1 - \sigma_2}{C_{\%2} - C_{\%1}}$$

на трех участках концентрации ( $\Delta C_{\%}$ ).

7. Сделать выводы, отвечая на вопросы:

- ✓ Как зависит поверхностное натяжение  $\sigma$  от концентрации желчи C<sub>%</sub>.
- ✓ Какова поверхностная активность желчи  $g$  (фактически - желчных кислот)? Зависит ли она от концентрации желчи.
- ✓ Являются ли желчные кислоты ПАВ.
- ✓ Отличается ли поверхностная активность  $g$  (желчи) от  $g$  (карбоновых кислот), используя справочные данные относительно последних.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биоорганическая химия : рук. к практ. занятиям: учеб. пособие / ред. Н. А. Тюкавкина ; авт. кол. Н. А. Тюкавкина, В. Л. Белобородов, С. Э. Зурабян [и др.]. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 168 с.
2. Биоорганическая химия. Руководство к практическим занятиям : учеб. пособие / ред. Н. А. Тюкавкина. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 176 с.
3. Биохимия : рук. к практ. занятиям: учеб. пособие / ред. Н. Н. Чернов. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 240 с.
4. Вайс, Е.Ф. Общая и неорганическая химия: лабораторный практикум для студентов 1 курса, обучающихся по специальности 060301- Фармация (очная форма обучения) / Е.Ф. Вайс, Н.Н. Попова, А.Б. Салмина. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2014. -130 с.
5. Васильев, В. П. Аналитическая химия : учебник. В 2 кн. Кн. 1. Титриметрические и гравиметрические методы анализа / В. П. Васильев. - 6-е изд., стер. - М. : Изд. дом Дрофа, 2007. - 366 с.
6. Ершов, Ю. А. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов : учеб. для вузов / Ю. А. Ершов, В. А. Попков, А. С. Берлянд ; ред. Ю. А. Ершов. - 10-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2016. - 563 с.
7. Жолнин, А. В. Общая химия : учебник / А. В. Жолнин ; ред. В. А. Попков, А. В. Жолнин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. -400 с.
8. Лабораторный практикум по неорганической химии : для лечебного и педиатрического фак. / ред. Е. Ф. Вайс ; Красноярская медицинская академия. - Красноярск : КрасГМА, 2007. - 136 с.
9. Тюкавкина, Н. А. Биоорганическая химия : учебник / Н. А. Тюкавкина, Ю. И. Бауков, С. Э. Зурабян. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 416 с.
10. Химия : сб. метод. рекомендаций для преподавателя к лаборатор. занятиям для специальности 060103 - Педиатрия (очная форма обучения) / сост. Р. Я. Оловянникова, Т. А. Руковец, И. С. Крюковская ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск : КрасГМУ, 2013. - 262 с.
11. Химия : сб. метод. рекомендаций для преподавателя к лаборатор. занятиям для специальности 060101 - Лечебное дело (очная форма обучения) / сост. Р. Я. Оловянникова, Т. А. Руковец, И. С. Крюковская ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск : КрасГМУ, 2013. - 290 с.