

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І. І. МЕЧНИКОВА
ФАКУЛЬТЕТ ХІМІЇ ТА ФАРМАЦІЇ

ЛІКАРСЬКА ТА АНАЛІТИЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ

ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних робіт
для студентів IV курсу факультету хімії та фармації
другого (магістерського) рівня освіти
спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»

ОДЕСА
ОНУ
2022

УДК 615.9:543.06
Л56

Автори:

Т. М. Щербакова, кандидат хімічних наук, доцент, завідувач кафедри аналітичної та токсикологічної хімії;

О. М. Гузенко, кандидат хімічних наук, доцент, доцент кафедри аналітичної та токсикологічної хімії;

С. В. Топоров, кандидат хімічних наук, доцент, доцент кафедри аналітичної та токсикологічної хімії;

В. А. Мамій, завідувачка лабораторії кафедри аналітичної та токсикологічної хімії.

Рецензенти:

Д. В. Снігур, кандидат хімічних наук, доцент кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

Т. О. Кіосе, кандидат хімічних наук, доцент кафедри неорганічної хімії та хімічної освіти Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

*Рекомендовано вченою радою
факультету хімії та фармації ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 7 від 12 квітня 2022 р.*

Л56 Лікарська та аналітична токсикологія [Електронний ресурс] : методичні вказівки до лаборат. робіт для студентів ф-ту хімії та фармації другого (магістер.) рівня освіти спец. 226 «Фармація, промислова фармація» / Т. М. Щербакова, О. М. Гузенко, С. В. Топоров, В. А. Мамій. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2022. – 74 с. – 1,0 МБ.

Методичні вказівки складено відповідно до програми курсу «Лікарська та аналітична токсикологія». Вони містять теоретичні основи методів розділення та концентрування, деяких хімічних і фізико-хімічних методів, а також методики виконання лабораторних робіт та контрольні питання до них.

Методичні вказівки можуть бути рекомендовані для студентів факультету хімії та фармації другого (магістерського) рівня освіти спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

УДК 615.9:543.06

© Щербакова Т. М., Гузенко О. М.,
Топоров С. В., Мамій В. А., 2022

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2022

ЗМІСТ

ВСТУП	5
I. Теоретичні основи деяких методів аналізу об'єктів лікарської та аналітичної токсикології	6
1. Методи розділення і концентрування	6
1.1. Випарювання	6
1.2. Виморожування	7
1.3. Відгонка мікроелементу	7
1.4. Осадження і співосадження	7
1.5. Сорбція	10
1.6. Хроматографія	13
1.7. Екстракція	21
2. Титриметричний метод аналізу	24
2.1. Метод кислотно-основного титрування	27
2.2. Комплексонометричне титрування	28
2.3. Окисно-відновне титрування	32
2.3.1. Перманганатометричне титрування	32
2.3.2. Йодометричне титрування	33
2.4. Методи осаджувального титрування	36
3. Спектрофотометричний метод	37
4. Рефрактометрія	39
II. Методики виконання лабораторних робіт	43
<i>Лабораторна робота № 1. Спектрофотометричне визначення ацетону з нітропрусидом натрію</i>	<i>43</i>
<i>Контрольні питання</i>	<i>45</i>
<i>Лабораторна робота № 2. Йодометричне визначення ацетону</i>	<i>45</i>
<i>Контрольні питання</i>	<i>47</i>
<i>Лабораторна робота № 3. Екстракційно-фотометричне визначення фенолу з 4-аміноантипірином</i>	<i>47</i>
<i>Контрольні питання</i>	<i>49</i>

Лабораторна робота № 4. Спектрофотометричне визначення формальдегіду з хромотроповою кислотою...	50
<i>Контрольні питання</i>	54
Лабораторна робота № 5. Екстракційно-фотометричне визначення кофеїну в різних сортах чаю	54
<i>Контрольні питання</i>	58
Лабораторна робота № 6. Спектрофотометричне визначення гентаміцину	58
<i>Контрольні питання</i>	62
Лабораторна робота № 7. Спектрофотометричне визначення окситетрацикліну	62
<i>Контрольні питання</i>	64
Лабораторна робота № 8. Сорбційно-фотометричне визначення окситетрацикліну	64
<i>Контрольні питання</i>	65
Лабораторна робота № 9. Виявлення окситетрацикліну методом тонкошарової хроматографії	66
<i>Контрольні питання</i>	67
Лабораторна робота № 10. Розділення галогенідів методом одномірної висхідної хроматографії в тонкому шарі	67
<i>Контрольні питання</i>	72
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	73

ВСТУП

У поточний час відбувається активний розвиток хімічної та фармацевтичної галузей, внаслідок чого кількість хімічних речовин та лікарських засобів постійно збільшується. Серед цих речовин є такі, що в певних умовах виявляють високу токсичність і можуть бути причиною отруєння.

Навчальна дисципліна «Лікарська та аналітична токсикологія» в комплексі розглядає хіміко-токсикологічні характеристики сильнодіючих речовин, зокрема «лікарських» отрут та інших хімічних речовин, які не використовуються в медицині. Значна увага приділяється різноманітності об'єктів дослідження, класифікації отрут та інтоксикацій; шляхам потрапляння та виділення отрут з організму; їх метаболізму, вилученню, виявленню та визначенню сильнодіючих речовин у біологічних об'єктах.

Дисципліна «Лікарська та аналітична токсикологія» висвітлює теми, які необхідні сучасному спеціалісту для успішного вирішення таких складних завдань як розробка нових та вдосконалення відомих методів визначення токсичних речовин у відповідних об'єктах; запровадження у практику аналізу чутливих і специфічних реакцій та методів визначення токсичних речовин, а також контролю якості відомих та нових лікарських препаратів.

В *першій частині* методичних вказівок приводяться теоретичні основи деяких методів аналізу об'єктів лікарської та аналітичної токсикології, зокрема, методи розділення і концентрування, титриметричний, спектрофотометричний та рефрактометричний методи аналізу. У *другій частині* розміщені методики виконання лабораторних робіт з курсу «Лікарська та аналітична токсикологія». Після кожної лабораторної роботи наводяться контрольні питання для перевірки якості засвоєння навчального матеріалу.

Вивчення теоретичного матеріалу та виконання лабораторних робіт дасть змогу студентам отримати практичні навички визначення сильнодіючих речовин і лікарських засобів у різноманітних об'єктах.

I. Теоретичні основи деяких методів аналізу об'єктів лікарської та аналітичної токсикології

1. Методи розділення і концентрування

Необхідність розділення і концентрування обумовлена наступними факторами:

- 1) концентрація визначуваного компонента нижче границі виявлення компонента;
- 2) проба містить компоненти, які заважають визначенню;
- 3) визначувані компоненти нерівномірно розподілені в пробі;
- 4) проба високотоксична, радіоактивна або має високу вартість.

При *розділенні* суміші речовини відділяють одну від другої.

При *концентруванні* речовини, присутні в малій кількості, або збирають в менший об'єм (абсолютне концентрування), або відділяють від макрокомпонента таким чином, щоб відношення концентрації мікрокомпонента до макрокомпонента збільшилось (відносне концентрування).

1.1. Випарювання

Випарювання води (розчинника) з проби – найпростіший спосіб концентрування. Концентрацію розчинених речовин за допомогою випарювання можна збільшити в 10-1000 разів. Проте випарюванням концентруються не тільки визначувані мікрокомпоненти, але і макрокомпоненти, які заважають визначенню. При випарюванні можливе утворення осадів, відділення яких фільтруванням веде до втрати визначуваних компонентів проби. Можлива втрата при випарюванні летких визначуваних компонентів. Випарювання використовують для концентрування нелетких неорганічних компонентів.

1.2. Виморожування

Виморожування практично не впливає на хімічний склад проби. Виморожують воду в холодильниках або поміщуючи колбу з пробойою води в охолоджуючу суміш (лід з NaCl або CaCl_2) при обертанні її зі швидкістю 40-60 обертів на хвилину. На стінках колби утворюється лід, а концентрат розчинених речовин залишається в середині колби. За 30-40 хвилин виморожування об'єм проби зменшується в 5-6 разів. Більший ступінь концентрування призводить до певної втрати визначуваних мікрокомпонентів унаслідок їх часткового переходу у фазу льоду.

1.3. Відгонка мікроелементу

Цим методом концентрують леткі речовини (амоніак, леткі феноли, кислоти), а також ті компоненти, які можна перетворити в леткі речовини (фтор у вигляді SiF_4 , ціаніди у вигляді HCN).

При відгонці можливе розкладення відганяємої сполуки та неповна її відгонка.

1.4. Осадження і співосадження

Розділення шляхом осадження засноване на різній розчинності сполук переважно у водних розчинах. Всі селективні неорганічні і органічні реагенти для осадження неорганічних іонів придатні для розділення. При концентруванні методом осадження зазвичай виділяється матриця, а не мікрокомпонент.

Співосадження – це процес захоплення мікродомішок осадом (колектором) у момент його утворення. Мікрокомпонент у даних умовах не утворює власної твердої фази.

За механізмом вилучення розрізняють наступні види співосадження: адсорбцію, оклюзію, ізоморфне співосадження.

Причиною адсорбції є некомпенсованість заряду іонів на поверхні кристалів. Йони, які будуть адсорбуватися, визначаються за наступними правилами:

- Правило Панета – Фаянса – Хана: з двох однаково заряджених іонів рівної концентрації переважно адсорбується той, який сильніше притягається іонами кристалу;
- При однакових умовах переважно адсорбується іон, концентрація якого більша;
- Багатозарядні іони адсорбуються сильніше, ніж однозарядні;
- Переважно адсорбуються іони приблизно такого ж розміру, що і іони кристалічних ґраток.

Адсорбційна рівновага залежить від наступних факторів:

1) Від величини поверхні адсорбенту.

Кількість адсорбованої даним адсорбентом речовини прямо пропорційна величині його загальної поверхні. При співосадуванні в якості колектору краще використовувати аморфні осади, наприклад, суміш гідроксиду магнію та феруму(ІІІ).

2) Від концентрації визначуваної речовини.

Адсорбція речовини зростає із збільшенням її концентрації, але не прямо пропорційно, а до певної межі.

3) Від температури.

Адсорбція – процес екзотермічний, тому для покращення адсорбції температуру слід зменшувати.

4) Від природи адсорбованого іону (правила).

Оклюзія – це захват сторонніх іонів у процесі утворення осаду. Захват може здійснюватися, по-перше, внаслідок адсорбції іонів на поверхні кристалів, які ростуть (домішки всередині осаду), по-друге, внаслідок захвату маточного розчину, який потрапляє в тріщини і порожнини в осаді (інклюдія).

Правило оклюзії: в осаді будуть переважати оклюдовані сторонні аніони, якщо в розчині під час осадження у надлишку міститься осаджуваний катіон, і в осаді будуть переважати оклюдовані сторонні

катіони, якщо в розчині при осадженні в надлишку знаходиться осаджуваний аніон.

Ізоморфізм – це властивість двох або декількох речовин кристалізуватися в однакових структурах при одному типі хімічного зв'язку і близьких розмірах ($\pm 7\%$).

У якості неорганічних колекторів використовують гідроксиди, сульфіді, фосфати та інші.

Серед органічних колекторів розрізняють *три види*:

- 1) Малорозчинні асоціати, які складаються з об'ємного органічного катіону і аніону (наприклад, катіон кристалічного фіолетового або метиленового синього і тіоціанат- або іодид-аніон);
- 2) Хелати (дитіокарбамінати, дитізонати);
- 3) Індиферентні органічні сполуки, які не містять комплексоутворюючих груп.

Осади з органічними колекторами після вилучення мікрокомпонентів можна спалити, а золу розчинити в декількох каплях кислоти і одержати концентрований розчин. Повнота співосадження залежить від хімічних і кристалохімічних властивостей колектора, від стану співосаджуваних мікроелементів, швидкості і послідовності додавання реагентів, старіння осаду колектора, кислотності середовища, температури. Коефіцієнт концентрування може досягти $n \cdot 10^4$.

Коефіцієнт розподілу D в процесі осадження визначають по формулі:

$$D = \frac{C_A - [A]}{[A]},$$

де C_A – вихідна концентрація іонів до осадження;

$[A]$ – рівноважна концентрація іонів в розчині після осадження.

Коефіцієнт розділення (k) іонів A і B дорівнює:

$$k_{A/B} = \frac{D_A}{D_B}.$$

1.5. Сорбція

Сорбція – це процес поглинання газів, парів і розчинених речовин твердими і рідкими поглиначами (сорбентами).

Класифікація сорбційних методів основана на відмінності механізмів взаємодії речовин з сорбентами. Розрізняють такі види сорбції:

- *адсорбція* – поглинання речовин поверхнею твердих або рідких сорбентів (фізична адсорбція і хемосорбція);
- *абсорбція* – поглинання газів, парів або розчинених речовин усім об'ємом твердого або рідкого сорбенту;
- *капілярна конденсація* – утворення рідкої фази в порах і капілярах твердого сорбенту під час поглинання парів речовини.

При фізичній адсорбції взаємодія молекул речовин, які сорбуються, з поверхнею сорбента визначається дисперсійними силами. Фізична адсорбція є оборотною.

При хемосорбції між сорбуємою сполукою і поверхнею виникає міцний хімічний зв'язок і утворюється на поверхні нова хімічна сполука. Хемосорбція є малооборотною.

Концентрування проводять на молекулярних та іонообмінних сорбентах у статичних чи динамічних умовах.

При концентруванні у статичних умовах до проби води додають сорбент і перемішують протягом 20-30 хвилин. Після сорбції мікрокомпонентів з великого об'єму води, сорбент відокремлюють фільтруванням і обробляють його малим об'ємом відповідного реагенту для повної десорбції визначуваних компонентів.

При концентруванні в динамічних умовах крізь колонку заввишки 10-15 см і діаметром 6-8 мм, заповнену сорбентом, пропускають досліджувану пробу зі швидкістю 1-2 см³/хв. Потім сорбовані компоненти вилучають з колонки пропусканням невеликого об'єму відповідного реагенту. Кратність концентрування дорівнює відношенню об'єму проби до об'єму розчину, яким проводили десорбцію.

Із молекулярних сорбентів найчастіше використовують кремнеземи, неорганічні сорбенти (оксиди металів, гідроксиди, сульфіді, фосфати, гетерополікислоти, ферроціаніди) або активоване вугілля. Для сорбції катіонів та аніонів застосовують іонообмінні сорбенти – катіоніти й аніоніти.

Кремнезем – це силіцій(IV) оксид SiO_2 у всіх його формах: кристалічний, аморфний або гідратований.

Аморфний кремнезем має наступні різновиди:

- 1) Аеросили – безводні аморфні частинки кремнезему, які одержують при високій температурі;
- 2) Аеросилогелі (силохроми) – високочиста і геометрично однорідна форма пористого аморфного кремнезему з питомою поверхнею $70\text{-}150 \text{ м}^2/\text{г}$;
- 3) Силікагелі – сухі гелі полікремнієвої кислоти;
- 4) Пористе скло – особлива форма аморфного кремнезему.

На поверхні кремнезему знаходяться силанольні $-\text{Si}-\text{OH}$ і силоксанові $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ групи. На поверхні кремнезему може знаходитися $4,6\div 4,8$ OH -груп/ нм^2 . Сорбція металів на кремнеземах визначається як електростатичними, так і донорно-акцепторними взаємодіями.

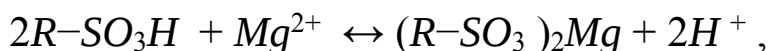
У поточний час використовують кремнеземи з хімічно закріпленими молекулами органічних сполук.

Активоване вугілля одержують при дії на вугілля H_2O або CO_2 при температурі $850\text{-}950^\circ\text{C}$; при цьому утворюються пори з радіусом менше 1 нм . Поверхня вугілля вкрита оксидними групами неоднорідного складу, внаслідок чого фізична адсорбція на поверхні може супроводжуватися як катіоно- так і аніонообмінними процесами.

Активоване вугілля використовують для вилучення Cr , Mo , V та деяких інших металів з води; плюмбуму з атмосферного повітря.

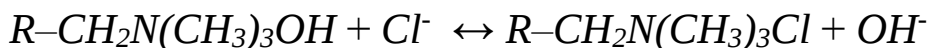
При концентруванні з використанням *іонообмінних сорбентів* слід ураховувати те, що на сорбцію визначуваних іонів впливає концентрація протиіонів, які виділяються в розчин унаслідок іонообмінного процесу:

– концентрування на катіоніті у водневій формі:



де R – полімерна матриця смоли.

– концентрування на аніоніті в гідроксильній формі:



З наведених рівнянь видно, що на сорбцію іонів впливає значення рН середовища. Здебільшого сорбцію іонів проводять зі слабкокислих розчинів із рН 3÷6. Катіони десорбують розчинами сильних кислот, аніони – розчинами лугу або соди.

Коефіцієнт розподілу іонів виражається рівнянням:

$$D = \frac{R}{100 - R} \cdot \frac{V}{m}$$

де R – ступінь сорбції (вилучення), %; V – об'єм проби води, см³; m – маса сорбенту, г.

Величина D даного іона не залежить від наявності інших іонів (крім протиіонів) за умови, що ємність взятої для концентрування маси сорбенту перевищує загальну кількість усіх катіонів чи аніонів, які містяться в природній воді. Ємність більшої частини синтетичних катіонітів та аніонітів становить 5-10 ммоль-екв/г. У прісних поверхневих водах сумарний вміст катіонів чи аніонів сольового складу не перевищує 10-15 ммоль-екв/дм³. Отже, для забезпечення надлишкової кількості іонітів відносно вмісту головних іонів сольового складу при сорбції мікрокомпонентів досить додати до 1 дм³ води 5-6 г іонообмінного сорбенту.

При концентруванні мікродомішок методом іонного обміну відношення об'єму розчину до маси сорбенту $V/m \approx 100 \div 200$. Відповідно до рівняння, для 99 %-го вилучення мікрокомпонента його коефіцієнт розподілу D має бути не меншим за 10000. За меншого значення D потрібно збільшити наважку сорбенту або проводити концентрування в динамічних умовах.

За катіонообмінного концентрування іонів важких металів слід ураховувати, що в природних об'єктах ці іони значною мірою зв'язані в аніонні та електронейтральні комплекси з органічними речовинами,

які не сорбуються катіонами. Тому для забезпечення умов повної сорбції комплексні сполуки металів треба попередньо зруйнувати.

Для вибіркового концентрування та відділення мікрокількостей елементів використовуються *хелатоутворюючі сорбенти*. До них відносять зшиті полімери трьохмірної структури, які мають іонообмінні і комплексоутворюючі властивості, обумовлені присутністю функціонально-аналітичних груп. Вилучення іонів хелатоутворюючими сорбентами відбувається внаслідок дифузії, адсорбції, електростатичних і координаційних взаємодій.

1.6. Хроматографія

Хроматографія – це фізико-хімічний метод розділення речовин, оснований на розподілі компонентів між двома фазами – нерухомою і рухомою.

Нерухома (стаціонарна) фаза – це тверда речовина (сорбент) або плівка рідини, яка нанесена на тверду речовину.

Рухома фаза – це рідина або газ. Рухома фаза, яку вводять в шар нерухомої фази, називається елюентом, а рухома фаза, яка виходить з колонки і містить розділені компоненти – елюатом.

Компоненти аналізованої суміші (сорбат) разом з рухомою фазою переміщуються вздовж стаціонарної фази, яка знаходиться в скляній або металічній трубці, яку називають *колоною*.

В залежності від сили взаємодії з поверхнею сорбента компоненти переміщуються вздовж колонки з різною швидкістю.

Хроматографія – це гібридний аналітичний метод розділення і визначення компонентів. Хроматографія – це динамічний метод, при якому забезпечується багатократне повторення сорбції – десорбції компонентів, що розділяються. Цим обумовлена висока ефективність хроматографічного метода у порівнянні з методами сорбції і екстракції.

Хроматографічні методи класифікують:

- 1) за агрегатним станом фаз;
- 2) за механізмом розподілу;
- 3) за технікою виконання.

Класифікація видів хроматографії представлена в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Класифікація видів хроматографії

Вид		Рухома фаза	Нерухома фаза	Форма розміщення нерухомої фази	Механізм розподілу
ГАЗОВА	Газо-адсорбційна	Газ	Тверда	Колонка	Адсорбційний
	Газо-рідинна	Газ	Рідина	Колонка	Розподільний
РІДИННА	Твердо-рідинна	Рідина	Тверда	Колонка	Адсорбційний
	Рідинно-рідинна	Рідина	Рідина	Колонка	Розподільний
	Іонообмінна	Рідина	Тверда	Колонка	Іонний обмін
ТОНКОШАРОВА		Рідина	Тверда	Тонкий шар	Адсорбційний
		Рідина	Рідина	Тонкий шар	Розподільний
ПАПЕРОВА		Рідина	Рідина	Смужка паперу	Розподільний
СИТОВА (ГЕЛЬ-ПРОНИКАЮЧА)		Рідина	Рідина	Колонка	За розмірами молекул

Газова хроматографія (ГХ) – це метод розділення і визначення летких термостабільних сполук.

В *газо-адсорбційній хроматографії (ГАХ)* застосовується тверда нерухома фаза. Розділення обумовлено адсорбційними властивостями сорбента по відношенню до сполук аналізованої суміші (в основному газів). Адсорбенти – силікагель, активоване вугілля, цеоліти.

В *газо-рідинній хроматографії (ГРХ)* застосовується рідка нерухома фаза. Вона розподіляється у вигляді тонкої плівки на

поверхні інертного твердого носія. В результаті руху вздовж нерухомої фази (НФ) компоненти, які знаходяться у пароподібному стані, контактують з адсорбентом або рідиною. Відбувається багаторазовий перехід речовин з одної фази в другу (цикл сорбція-десорбція).

За допомогою детектора проводиться реєстрація в потоці газаносія (гелій, азот, водень) компонентів суміші і вимірюється кількість кожного з них.

За допомогою ГХ визначають оксиди нітрогену, фосген, сірчисті сполуки, алкільні похідні плюмбуму, галогенвмісні вуглеводні, пестициди, ртутьорганічні і неорганічні сполуки, феноли, аміни, нафтопродукти.

Рідинна хроматографія (РХ) – це метод розділення і аналізу складних сумішей речовин, у якому рухомою фазою є рідина. Метод РХ застосовується для розділення більш широкого кола речовин, ніж метод ГХ, тому що більшість речовин не є леткими і термостабільними.

У класичному варіанті РХ в скляну колонку довжиною 1-2 м, заповнену сорбентом з розміром частинок ≥ 100 мкм вводять аналізуєму пробу і пропускають елюент. Швидкість проходження елюента під дією сил тяжіння є малою, а тривалість – значною. Для прискорення процесу використовують насоси, які подають елюент під високим тиском. Це дозволяє застосовувати сорбенти з більшою питомою поверхнею з розміром зерен $5\div 20$ мкм. Такий вид хроматографії називається **високоєфективною рідинною хроматографією (ВЕРХ)**.

Застосування рідинної хроматографії. За допомогою рідинної хроматографії визначають поліциклічні ароматичні вуглеводні з високим ступенем канцерогенної активності: бенз(а)пірен, дибенз(а, h)антрацен, ароматичні аміни, фосфоровмісні сполуки, пестициди, поліхлоровані біфеніли, нафтопродукти, феноли.

Іонообмінна хроматографія (ІОХ) оснований на динамічному стехіометричному обміні іонів між аналізуємим розчином і

іонообмінником (іонітом). Цей метод застосовується при аналізі, розділенні і очищенні органічних і неорганічних сполук, які іонізують у водних і неводних розчинах.

Іонообмінна хроматографія виконується в колоночному варіанті. Нерухомою фазою є іонообмінники (катіоніти, аніоніти, амфоліти), які при зануренні в розчин електроліта виділяють еквівалентну кількість інших іонів з зарядами того ж знаку.

ІОХ застосовується при аналізі на фунгіцидні забруднювачі, які містять Cu, Zn, As, Pb); виділення РЗЕ; відділення радіоактивних плутонія і стронція від інших радіоактивних елементів; відділення і концентрування нітратів, нітритів, галогенідів, сірководня, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Mo, Hg та інших металів.

Площинна хроматографія. До площинних видів хроматографії відносять паперову (ПХ) та тонкошарову (ТШХ). Ці два види рідинної хроматографії прості за технікою виконання та експресні. Розділення вказаними методами може бути виконано з використанням хроматографічних систем рідина-твердий сорбент і рідина-рідина-твердий сорбент. Виділяють адсорбційну, розподільну, обернено-фазову та іонообмінну площинну хроматографію. Тонкошарову хроматографію використовують частіше, ніж паперову.

У методі **тонкошарової хроматографії (ТШХ)** нерухома тверда фаза (силікагель, оксид алюмінію, порошок целюлози) тонким шаром наноситься на скляну, пластмасову або металеву пластинку. У якості рухомої фази використовують різні розчинники або їх суміші, органічні та неорганічні кислоти. Вибір розчинника залежить від природи сорбенту та властивостей аналізованих сполук. У ТШХ частіше використовують висхідний спосіб отримання хроматограми.

Розчин зразка наносять мікропіпеткою на невеликій відстані від краю пластинки на стартову лінію, і край пластинки занурюють у розчинник, який діє як рухома фаза адсорбційної рідинної хроматографії. Під дією капілярних сил розчинник піднімається вгору по пластинці і з різною швидкістю переносить за собою компоненти суміші, що призводить до їхнього просторового поділу. Щоб

розчинник не випаровувався з поверхні сорбенту, пластинка на час поділу повинна бути поміщена в герметично закриту прозору камеру.

Розділяються компоненти на пластинці, утворюючи окремі зони (плями). Хроматографування продовжують доти, доки розчинник не пройде від лінії старту близько 10 см до лінії фронту. Після цього платівку виймають із хроматографічної камери, підсушують на повітрі та визначають положення плям.

Схема поділу суміші речовин методом тонкошарової хроматографії наведена на рис. 1.1. Плями характеризують положення компонентів А, В, на платівці в кінці досліду.

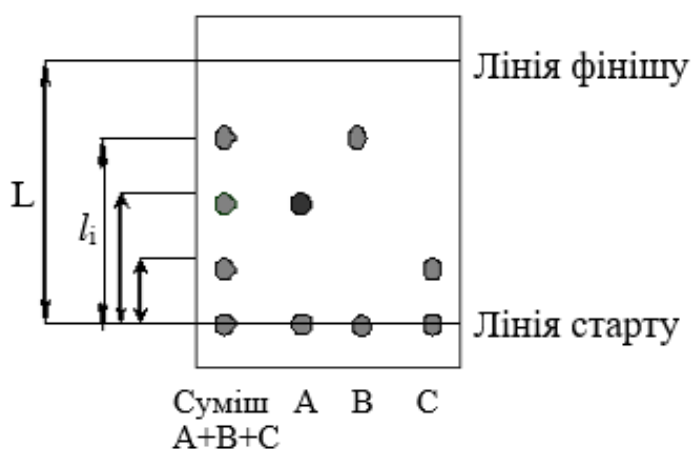


Рис. 1.1. Схема розділення методом висхідної тонкошарової хроматографії

У **низхідній хроматографії** розчинник пересувається вниз під дією і капілярних, і гравітаційних сил. Горизонтальна хроматографія виконується у вигляді кругової та з вільним випаром розчинника.

У **круговій хроматографії** у центр горизонтально встановленої пластинки вносять краплю аналізованої суміші і безупинно подають розчинник, який під дією капілярних сил рухається в радіальному напрямку від центру. Компоненти суміші розташовуються у вигляді концентричних кілець.

Сорбційні властивості системи в ТШХ характеризуються рухомістю R_f – відносною швидкістю переміщення компонентів в тонкому шарі. Величини R_f розраховуються з експериментальних даних (рис. 1.1):

$$R_f = l_i / L ,$$

де l_i – відстань від стартової лінії до центру плями, L – відстань, пройдена розчинником від стартової лінії фронту розчинника.

R_f характеризує положення плями на хроматограмі. Це константа для даної речовини на даному сорбенті даної системи розчинників. На величину R_f впливають якість та активність сорбенту, його вологість, товщина шару, якість та природа розчинника, техніка експерименту (спосіб нанесення проби, спосіб детектування) та інші фактори. Часто користуються відносною величиною:

$$R_{f, \text{відн}} = R_{f,i} / R_{f, \text{ст}}$$

де $R_{f, \text{ст}}$ також розраховують за рівнянням, зазначеним вище.

Розділення двох речовин з $R_{f,1}$ і $R_{f,2}$ практично можливе, якщо $R_{f,1} > R_{f,2}$ і $R_f \geq 0,1$. Ефективність обраного варіанта ТШХ (адсорбційного, розподільного, іонообмінного) та хроматографічної системи можна оцінити за фактором поділу (селективності) двох речовин з різними коефіцієнтами розподілу:

$$\alpha = \frac{D_1}{D_2} = \frac{\left(\frac{1}{R_{f,2}} - 1 \right)}{\left(\frac{1}{R_{f,1}} - 1 \right)}$$

Якісний аналіз. Найпростіше ідентифікація речовини може бути виконана, якщо пляма речовини, що визначається, має характерне забарвлення. Невидимі хроматограми виявляють відповідними реагентами, зазвичай груповими. По характерному забарвленню кольорових зон, що утворюються, судять про склад аналізованої проби. При обробці пластинки, наприклад, парами йоду, чітко виявляються ненасичені сполуки; при обприскуванні пластинки тіоціанатом кобальту аміни утворюють блакитні плями на рожевому фоні.

Для виявлення зон речовин можуть бути використані фізичні методи, наприклад, УФ-випромінювання.

Найбільш загальний підхід до якісного аналізу речовин за допомогою ТШХ ґрунтується на значеннях R_f . При дотриманні стандартних умов отримують значення R_f , які можна використовувати в аналітичних цілях при порівнянні з табличними.

Кількісні визначення в ТШХ можуть бути зроблені безпосередньо на пластинці. У цьому випадку вимірюють площу плями і заздалегідь побудованим градувальним графіком знаходять кількість речовини.

Застосовується також пряме спектрофотометрування пластинки за спектрами відбиття та спектрами поглинання (фотоденситометрія), для кількісних розрахунків попередньо будують градувальний графік, використовуючи оптичну густину в центрі плями.

Найбільш точним вважається метод, коли аналізовану речовину видаляють з пластинки механічним шляхом або вимивають відповідним розчинником після вилучення зони, а потім аналізують спектрофотометричним, флуориметричним або атомно-абсорбційним методами.

Метод ТШХ простий за методикою виконання та апаратури, експресний і не вимагає для аналізу великих кількостей речовини. Метод широко використовується для ідентифікації компонентів ліків, біохімічних препаратів, неорганічних речовин.

Паперова хроматографія. Замість пластинок із нанесеним тонким шаром сорбенту можна використовувати спеціальний хроматографічний папір у вигляді листів або смужок.

Хроматографічний папір повинен бути хімічно чистим, нейтральним, інертним по відношенню до компонентів розчину та рухомої фази і бути однорідним за щільністю; мають значення структура молекул целюлози в папері, орієнтація волокон та інші властивості, що впливають швидкість руху рухомої фази. Основні операції у паперовій хроматографії проводяться так само, як і в тонкошаровій.

Для розділення водорозчинних речовин, наприклад, неорганічних іонів, у якості рухомої фази зазвичай використовують

органічний розчинник, а у якості нерухомої – воду (папір заздалегідь змочують водою). Для розділення компонентів, добре розчинних в органічних розчинниках, гідрофільний папір перетворюють на гідрофобний, просочуючи його розчинами органічних речовин (парафіну, рослинної олії та ін.), а в якості рухомої фази використовують воду, водний розчин будь-якої кислоти або лугу, буферний розчин.

Розчинники рухомої та нерухомої фаз не повинні змішуватися, склад розчинника в процесі хроматографування не повинен змінюватися, розчинники повинні легко видалятися з паперу. Індивідуальні розчинники застосовуються досить рідко. Найчастіше для цієї мети застосовують суміші речовин, наприклад, бутилового або амілового спирту з метиловим або етиловим, суміші бутилового спирту з оцтовою кислотою, аміаком та ін.

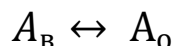
За технікою виконання розрізняють такі види паперової хроматографії: одномірну, двовимірну, кругову та електрофоретичну.

Для отримання двовимірних хроматограм хроматографування проводять двічі: після обробки проби одним розчинником повертають хроматограму на 90° і хроматографують вдруге вже іншим розчинником. Така методика дозволяє проводити більш тонкі розділення компонентів суміші. Якісний склад проби в методі паперової розподільної хроматографії так само, як і в ТШХ, може бути встановлений або за специфічним забарвленням окремих плям на хроматограмі або за чисельним значенням R_f кожного компонента.

Кількісні визначення в ПХ виконуються за хроматографічними характеристиками (за площею плями на хроматограмі та інтенсивності її забарвлення) або після вимивання відповідним фізико-хімічним методом.

1.7. Екстракція

Екстракція – це метод розділення і концентрування, оснований на розподілі речовини між двома фазами, які не змішуються, найчастіше між двома рідинами: водою і органічним розчинником.



При екстракції одночасно проходять наступні процеси:

- 1) утворення сполук, що екстрагуються;
- 2) розподіл сполук, що екстрагуються, між водною і органічною фазами;
- 3) реакції в органічній фазі (дисоціація, асоціація, полімеризація).

Сполука в органічній фазі, яка відповідає за утворення сполуки, що екстрагується, називається **екстрагентом**.

Інертні органічні розчинники, такі як хлороформ, тетрахлорид вуглецю, бензен, застосовані для покращення фізичних і екстракційних властивостей екстрагента, називають *розріджувачами*.

Органічну фазу, яка відділена від водної фази і вміщує екстраговані сполуки, називають **екстрактом**.

Перехід речовини з органічної фази в водну називають **реекстракцією**.

Для того, щоб іон металу та інші заряджені частинки перейшли в органічну фазу, необхідно забезпечити нейтралізацію заряду. З йонами металу можна утворити незаряджений комплекс; комплекси, які мають заряд, можна екстрагувати у вигляді іонних асоціатів.

Основними умовами екстрагування частинок є їх:

- електронейтральність;
- гідрофобність;
- мала полярність.

Якісну оцінку змішуваності двох розчинників можна провести, виходячи з їх положення в “міксотропному ряду розчинників”.

Міксотропний ряд розчинників: розчини солей; неорганічні кислоти; вода; формаїд; мурашина кислота; оцтова кислота; метанол;

етанол; фенол; ацетон; диетиловий етер; хлороформ; бензен; толуен; карбон тетрахлорид; гексан; парафінове масло.

Розчинники, густина яких менше 1 г/мл (етер, бензен, бутанол) відносяться до легких, а розчинники, густина яких більше 1 г/мл, відносяться до важких (CHCl_3 , CCl_4).

Класифікують екстракційні системи за типом сполуки, яка переходить в органічну фазу.

Такими сполуками є:

1. **Нейтральні сполуки з ковалентними зв'язками.** Це неорганічні сполуки I_2 , Cl_2 , Br_2 , SO_2 , AsI_3 , GeCl_4 . Такі речовини розчиняються в органічних розчинниках у вигляді молекул, не утворюючи сполук з молекулами розчинника.
2. Хелати (дитизонати, оксихінолінати).
3. Іонні асоціати або іонні пари. Їх використовують тоді, коли треба вилучити в органічну фазу комплексну сполуку, яка має заряд. Органічні катіони: тетрафеніларсоній $(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{As}^+$, основні барвники. Органічні аніони: аніони яблучної, валеріанової, масляної кислот і інші.

Кількісні характеристики екстракції

В умовах рівноваги **константа рівноваги речовин ($K_{\text{рівн}}$)**, які розподіляються між двома фазами, визначається як відношення активності речовини в органічній і водній фазах.

$$K_{\text{рівн}} = \frac{a_{A_o}}{a_{A_v}}$$

$K_{\text{рівн}}$ залежить від природи речовин, які розподіляються, складу і властивостей екстрагенту і температури.

$K_{\text{рівн}}$ не залежить від загальної концентрації речовини при умові, що коефіцієнти активності в обох фазах залишаються постійними і не залежать від об'ємів водної і органічної фаз.

Рівняння для $K_{\text{рівн}}$ виконується лише в тому випадку, коли розчинна речовина знаходиться в обох фазах в одній і тій же

молекулярній формі. На практиці цієї умови важко досягти, тому при розрахунках використовують загальні концентрації речовин і замість $K_{\text{ривн}}$ визначають коефіцієнт розподілу D .

$$D = \frac{C_{(O)}}{C_{(B)}}.$$

Фактор розділення (S) – це відношення коефіцієнтів розподілу двох речовин, які розділяються.

$$S_{A/B} = \frac{D_A}{D_B}$$

Ступінь вилучення (процент екстракції) (R, %) розраховують за формулою:

$$R = \frac{A \cdot 100}{N},$$

де A – кількість речовини, яка екстрагувалась органічним розчинником; N – початкова кількість речовини.

2. Титриметричний метод аналізу

Титриметричний аналіз є розділом кількісного аналізу, який полягає у вимірюванні об'ємів розчинів двох реагуючих речовин у момент їх стехіометричності, при умові, що концентрація одного з розчинів відома.

Розчини, концентрація яких відома з точністю до четвертого знаку після коми, мають назву *стандартні*. Вони поділяються на *первинні та вторинні*.

Первинними стандартами називають розчини, які готують з наважки (взятої з точністю до четвертого знаку після коми) або з використанням фіксаналу та які не змінюють свою концентрацію тривалий час.

Вихідні речовини для приготування первинних стандартів повинні відповідати таким *вимогам*:

- відповідність реального складу речовини її хімічній формулі;
- розчини повинні бути стійкими і концентрація таких розчинів не повинна змінюватись при зберіганні;
- вихідна речовина повинна повністю реагувати з робочим розчином у відповідності з рівнянням реакції;
- бажано, щоб вихідні речовини мали велику молярну масу еквівалента. У цьому випадку доводиться брати достатньо велику наважку речовини, внаслідок чого зменшується відносна похибка, пов'язана з неточністю зважування.

Існує порівняно невелика кількість хімічних сполук, які повністю відповідають усім переліченим вище вимогам. До них належать, наприклад, такі речовини як натрію тетраборат, щавлева кислота, магнію сульфат та деякі інші.

Стандарт-титр (фіксанал) – це запаяна у скляну ампулу точна наважка сухої речовини (або точно виміряний об'єм розчину речовини). Стандарт-титри виготовляють у спеціальних лабораторіях. *Вторинні стандарти (робочі розчини)* – це розчини, які не відповідають хоч одній з наведених вище умов. Їх готують з

приблизною концентрацією, а потім встановлюють точну концентрацію, тобто стандартизують за відповідним первинним стандартом.

Частина розчину, яку відбирають мірною піпеткою, має назву *аліквотна частина або аліквота*.

Перед початком роботи бюретку та мірну піпетку ретельно миють дистильованою водою, а потім обполіскують робочим розчином та наливають його у бюретку. В усіх випадках титрування проводять не менше трьох разів і зі збіжних результатів обчислюють середнє значення витраченого об'єму робочого розчину. За об'ємом і точною концентрацією робочого розчину розраховують кількість або масу речовини, яку визначають. Процес додавання робочого розчину (*титранту*) по краплинах до розчину визначуваної речовини називається *титруванням*. Момент закінчення реакції має назву *точка стехіометричності (т. с.)*. Титрують до того моменту, поки від однієї краплини титранту з бюретки відбудеться зміна кольору аналізованого розчину, тобто буде досягнута *кінцева точка титрування*. При цьому дотримується рівність кількостей прореагувавших речовин, що описується рівнянням:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 ,$$

де C_1 та C_2 – молярні концентрації еквіваленту титранту та розчину визначуваної речовини, відповідно;

V_1 та V_2 – об'єми титранту та розчину визначуваної речовини, відповідно.

Кінцеву точку титрування можна встановлювати:

- 1) *візуально* – з введенням в розчин відповідного індикатору або без індикатору;
- 2) *інструментально* – за допомогою приладів з відповідними детекторами.

Обрана хімічна реакція повинна відповідати наступним вимогам:

- можливість реєстрування аналітичного ефекту реакції;
- відсутність побічних реакцій;
- кількісна взаємодія між компонентами реакції;

– висока швидкість проходження реакції.

Залежно від типу хімічної реакції та характеристичної величини, яку використовують, методи титриметричного аналізу поділяються на відповідні групи згідно з назвою титранту (табл. 2.1):

- реакція нейтралізації (рН) – метод нейтралізації (кисотно-основне титрування: ацидиметрія та алкаліметрія);
- реакція окислення-відновлення (Е) – метод окислення-відновлення (перманганатометрія, йодометрія, дихроматометрія тощо);
- реакція осадження (ДР) – метод осаджувального титрування (аргентометрія, меркурометрія, меркуриметрія);
- реакція комплексоутворення ($K_{ст}$) – метод комплексоутворення (трилонометрія).

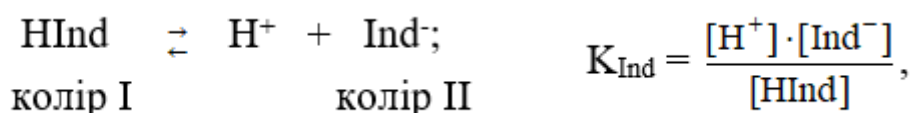
Таблиця 2.1

Характеристики титриметричних методів аналізу

Тип хімічної реакції та характеристичні величини	Назва методу		Стандарти	
			Первинні	Вторинні
Реакція нейтралізації (рН)	Метод нейтралізації (кисотно-основне титрування)	Ацидиметрія	HCl	Na ₂ B ₄ O ₇
		Алкаліметрія	NaOH	H ₂ C ₂ O ₄
Реакція окислення – відновлення (Е)	Метод окислення-відновлення	Перманганатометрія	KMnO ₄	H ₂ C ₂ O ₄
		Йодометрія	Na ₂ S ₂ O ₃ , I ₂	K ₂ Cr ₂ O ₇
Реакція осадження (ДР)	Метод осаджувального титрування	Аргентометрія	AgNO ₃	NaCl
		Меркурометрія	Hg ₂ (NO ₃) ₂	NaCl
Реакція комплексоутворення ($K_{ст}$)	Метод Комплексоутворення	Трилонометрія	Трилон Б	MgSO ₄

2.1. Метод кислотно-основного титрування

Сутність методу полягає у застосуванні реакції нейтралізації, яка може бути представлена у вигляді: $\text{H}^+ + \text{OH}^- = \text{H}_2\text{O}$. Цим методом можна визначити кислоти (алкаліметрія), луги (ацидиметрія) та солі, що гідролізуються. В якості титрантів використовують сильні кислоти (ацидиметрія) та луги (алкаліметрія). Якщо реакція нейтралізації не супроводжується зміною забарвлення розчину, то для встановлення кінцевої точки титрування використовують індикатори. У якості кислотно-основних індикаторів використовують органічні кислоти або основи, забарвлення яких змінюється при зміні рН розчину, тобто молекулярна форма органічної речовини має інше забарвлення, ніж її іонна форма:



де HInd – протонувана форма індикатору; Ind⁻ – депротонувана форма індикатору; K_{Ind} – константа іонізації індикатору; [H⁺], [Ind⁻], [HInd] – рівноважні концентрації іонів та молекул у розчині.

Кислотно-основні індикатори характеризуються:

- *інтервалом переходу індикатора* – це інтервал рН розчину, в межах якого відбувається помітна для людського ока зміна забарвлення індикатора (з похибкою $\pm 10\%$). Він розраховується за формулою: $\text{pH} = \text{p}K_{\text{Ind}} \pm 1$ ($\text{p}K_{\text{Ind}}$ – показник константи іонізації індикатору);
- *показником титрування (pT)* – це те значення рН у межах інтервалу переходу індикатора, при якому спостерігається різка зміна забарвлення індикатора $\text{pT} \approx \text{p}K_{\text{Ind}}$. Величина pT індикатора визначає значення рН наприкінці титрування.

Розрахунковий спосіб вибору індикатору:

1. Запис рівняння хімічної реакції, що відображає процес кислотно-основного титрування;
2. Вибір речовини, яка визначає рН в точці стехіометричності (серед речовин, що утворюються в результаті реакції);
3. Вибір необхідної формули для розрахунку рН в точці стехіометричності та розрахунок $pH_{т.с.}$ з врахуванням речовин, що утворюються в результаті реакції;
4. Вибір індикатора, рТ якого близький до величини $pH_{т.с.}$ ($pT \approx pH_{т.с.}$) (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

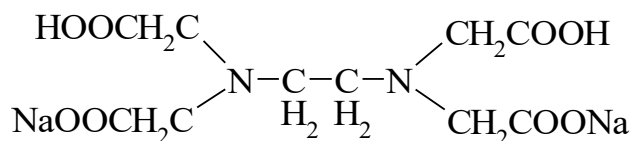
Загальна характеристика кислотно-основних індикаторів

Назва індикатору	Колір		рТ	Інтервал переходу (рН)
	У кислому середовищі	У лужному середовищі		
Метилловий оранжевий	червоний	жовтий	4	3 – 5
Метилловий червоний	червоний	жовтий	5	4 – 6
Лакмус	червоний	синій	7	6 – 8
Фенолфталеїн	безбарвний	малиновий	9	8 – 10

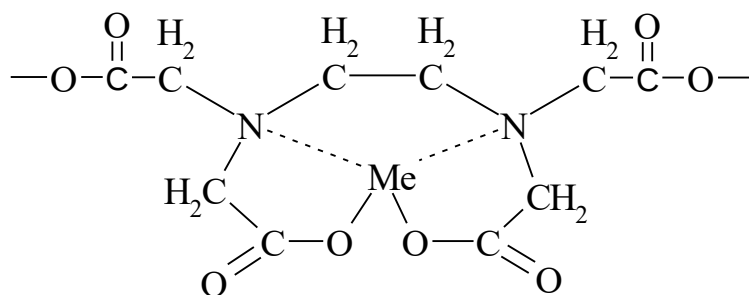
2.2. Комплексонометричне титрування

Розділ титриметрії, в якому в якості титрантів використовуються комплекси, має назву комплексонометрія або хелатометрія. Найчастіше при цьому використовують етилендіамінтетраоцтову кислоту (комплексон ІІ) або її похідні, які утворюють з іонами більшості металів безбарвні розчинні комплекси циклічної структури або хелати. Сама кислота малорозчинна, тому зазвичай застосовують її динатрієву сіль (комплексон ІІІ, ЕДТА – натрію етилендіамінтетраацетат або трилон Б). Тому метод має назву

«трилонометрія». Формула трилону Б приведена нижче, а умовно її позначають: H_2Y^{2-} .



Більшість іонів металів заміщує атоми водню карбоксильних груп ЕДТА, одночасно утворюючи координаційний зв'язок з нітрогеном аміногрупи. Внаслідок цього утворюються хелати. Будову комплексу двовалентного металу можна схематично представити таким чином:

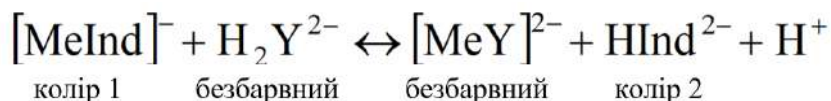


В залежності від кислотності розчину та відносної стійкості комплексів, з іоном металу може вступати у взаємодію (реакція комплексоутворення) молекулярна форма реагенту H_4Y або одна з іонних форм (ЕДТА): H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} . Важливо те, що з різними металами в різних умовах завжди утворюються комплексні сполуки, в яких відношення металу до ліганду дорівнює 1:1. Це відрізняє ЕДТА від більшості інших комплексоутворювачів.

Індикатори методу комплексонометрії

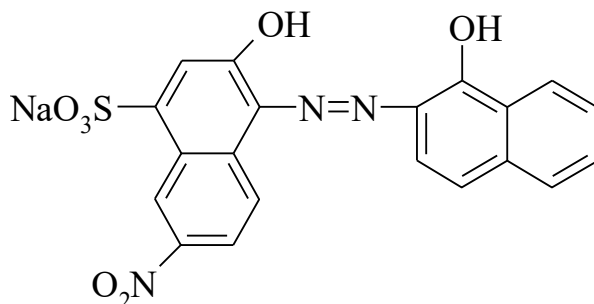
Кінцеву точку титрування в методі комплексонометрії визначають за допомогою індикаторів, які утворюють з іонами металів розчинні забарвлені комплексні сполуки – хелати. Такі індикатори мають назву “металохромні”. Індикатори та відповідні їм хелати відрізняються за кольором. При додаванні трилону Б забарвлений комплекс металу з індикатором руйнується внаслідок утворення безбарвного трилонату металу, який є більш стійким. При цьому

виділяється індикатор іншого кольору, тобто ми бачимо зміну забарвлення:

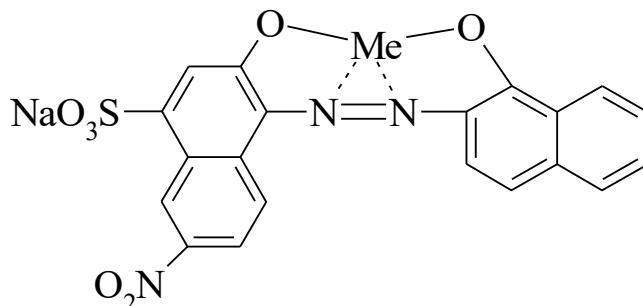


Металохромні індикатори в водних розчинах нестійкі, тому їх використовують у вигляді суміші з натрій хлоридом у співвідношенні 1:100. Нижче наведені деякі з індикаторів.

Еріохром чорний Т (ЕХЧ-Т)



ЕХЧ-Т (натрієва сіль 1-окси-2-нафтілазо-6-нафтол-4-сульфоїкислоти), як і більшість металохромних індикаторів, має кислотно-основні властивості і в залежності від рН середовища може існувати в трьох різнокольорових формах:

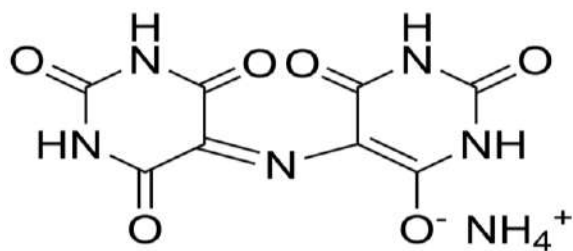


при рН < 7 винно-червоний, при рН 7÷11 – синій, а при рН > 11,5 – оранжево-жовтий. В слабколужному середовищі (рН 7÷11) він взаємодіє з іонами магнію, кальцію, цинку, кадмію та ін., утворюючи комплексні сполуки винно-червоного кольору.

При додаванні ЕДТА іони металу утворюють з ним більш стійкі комплексні сполуки і в точці еквівалентності розчин набуває синього кольору, відповідно до кольору ЕХЧ-Т при рН 7-11.

Мурексид (амонійна сіль пурпурової кислоти) в залежності від рН розчину існує також в різнокольорових формах: при рН < 9 –

червоно-фіолетовій, при рН 9÷10 – фіолетовій, и при рН > 10 – синє-фіолетовій.



Мурексид

З іонами кальцію, нікелю, кобальту та інших металів він утворює червоні або жовті комплексні сполуки, які при додаванні ЕДТА перетворюються на більш стійкі безбарвні трилонати.

Вплив рН середовища на комплексометричне титрування

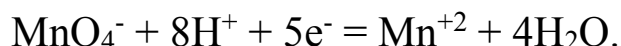
Комплексометричне титрування необхідно проводити при певному значенні рН. В кислому середовищі (рН < 3) утворюються менш стійкі комплекси. В сильнолужному середовищі (рН > 10) можливе утворення осадів гідроксидів більшості катіонів.

Треба також брати до уваги, що внаслідок утворення комплексу в розчин поступають катіони гідрогену і рН знижується. Щоб підтримати необхідне значення рН найчастіше додають буферну суміш (NH₄Cl, NH₄OH), рН якої 8÷9. Для запобігання утворення осадів та для маскування окремих катіонів одночасно, в розчин вводять сполуки, які утворюють безбарвні комплекси: тартрати, оксалати, фториди та ін.

2.3. Окисно-відновне титрування

2.3.1. Перманганатометричне титрування

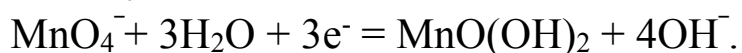
Метод перманганатометрії ґрунтується на реакціях окислення відновників перманганат-іоном. Окислення можна проводити в кислому, нейтральному або лужному середовищах. В сильноокислому розчині манган(VII) в складі KMnO_4 відновлюється до Mn^{+2} :



Молярна маса еквіваленту KMnO_4 :

$$M(1/5 \text{ KMnO}_4) = M(\text{KMnO}_4)/5 = 158,03/5 = 31,61 \text{ г/моль}.$$

При окисненні в слабколужному або нейтральному середовищі манган(VII) відновлюється до мангану(IV), при цьому утворюється манган(IV) оксид MnO_2 , точніше його гідрат $\text{MnO}(\text{OH})_2$, який випадає у вигляді бурого осаду:



Отже, величина молярної маси еквіваленту дорівнює:

$$M(1/3 \text{ KMnO}_4) = M(\text{KMnO}_4)/3 = 158,03/3 = 52,68 \text{ г/моль}.$$

Стандартний потенціал пари $E^0(\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{+2}) = +1,51 \text{ В}$ вищий від $E^0(\text{MnO}_4^-/\text{MnO}_2) = +0,59 \text{ В}$. Це означає, що окисна здатність перманганату в кислому середовищі значно вище, ніж в лужному.

При титруванні в кислому середовищі утворюються майже безбарвні іони Mn^{+2} , а в лужному середовищі темно-бурий осад дуже заважає фіксуванню точки стехіометричності. Тому в титриметрії використовують KMnO_4 як окисник переважно в кислому середовищі. Більшість визначень проводять в присутності $1 \text{ М H}_2\text{SO}_4$. В присутності хлоридної кислоти (або хлоридів) можливе окислення хлорид-іонів перманганатом. Для зменшення дії спряженого окислення хлорид-іонів додають солі Mn^{+2} . Нітратна кислота непридатна, оскільки може спричинити ряд побічних процесів.

2.3.2. Йодометричне титрування

Йодометричний метод базується на окисно-відновних процесах, пов'язаних з відновленням I_2 до I^- -іонів, та з окисненням I^- -іонів до I_2 :



Стандартний потенціал пари $I_2/2I^-$ невеликий ($E^0 = +0,54$ В), тобто йод є окисником середньої сили і, навпаки, іон I^- – значно сильніший відновник, ніж іони Mn^{+2} , Cr^{+3} .

Положення пари $I_2/2I^-$ майже в середині таблиці окисних потенціалів показує, що існує ряд відновників, що можуть окислюватися вільним йодом (які мають значення $E^0 < +0,54$ В). Звідси виникає можливість двоякого використання окисно-відновних властивостей пари $I_2/2I^-$ в титриметрії: для визначення відновників і для визначення окисників.

Оскільки потенціал пари $I_2/2I^-$ невеликий, багато йодометричних реакцій є зворотними і не доходять до кінця. Тому необхідно створювати умови, які допомагають реакції протікати до кінця.

Йод – речовина летка, тому титрують при кімнатній температурі. Йод погано розчиняється у воді ($1,18 \cdot 10^{-3}$ моль/л при $25^\circ C$), але добре розчиняється у йодиді калію: $I_2 + I^- = I_3^-$, тобто реально застосовуваною на практиці окисно-відновною парою є: $I_3^- + 2e^- = 3I^-$, стандартний потенціал якої $E^0 = +0,54$ В.

Трийодид-іон і молекулярний йод поведуться в процесах окислення-відновлення однаково, тому в реакціях переважно пишуть I_2 , а не I_3^- .

У якості індикатору в йодометрії використовується крохмаль, чутливість якого дуже висока (помітне синє забарвлення з'являється навіть при $C(I_2) = 2 \cdot 10^{-7}$ моль/л, але чутливість його різко падає з підвищенням температури.

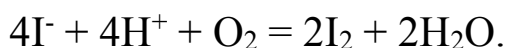
Йодометричне титрування можна проводити при зміні концентрації іонів гідрогену у широких межах – від сильно кислого середовища до слабколужного ($pH = 9$). Але в середовищі з $pH > 9$ йод

реагує з лугами з утворенням гіпйодид-іонів, які є сильнішим окисником ніж I_2 :



При титруванні відновників розчином I_2 крохмаль додають в розчин відновника до початку титрування і кінець реакції визначають по появі синього забарвлення.

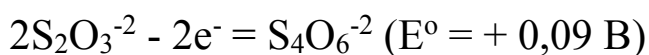
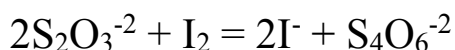
Швидкість реакцій з окисниками досить мала, тому йод, який виділився в результаті реакції, відтитровують через деякий час (зазвичай 5 хвилин). Реакційну суміш зберігають в темноті, бо в кислих розчинах світло прискорює побічну реакцію окислення йодид-іонів до вільного йоду киснем повітря:



Крохмаль додають лише тоді, коли основна кількість йоду вже відтитрована (розчин має солом'яно-жовтий колір), оскільки йод викликає коагуляцію і розклад крохмалю, а це призводить до неточних результатів титрування.

Визначення відновників

Якщо розчин натрій тіосульфату титрувати розчином йоду, то протікає реакція:



Отже, молярна маса еквіваленту тіосульфату натрію дорівнює: $M(1/2 Na_2S_2O_3) = 248,2 \text{ г/моль}$ (відповідно до формули $Na_2S_2O_3 \cdot 2H_2O$). Молярна маса еквіваленту йоду дорівнює $1/2$ його молярної маси (тобто $126,9 \text{ г/моль}$). При титруванні розчину $Na_2S_2O_3$ розчином йоду темно-буре забарвлення зникає. Коли весь тіосульфат буде окислений, то одна зайва краплина розчину йоду забарвить розчин в блідо-жовтий колір. Забарвлення при цьому слабке, тому застосовують крохмаль. Тобто кінець титрування визначають за появою синього забарвлення.

Можливий також другий спосіб титрування: розчин йоду титрують розчином тіосульфату натрію до зникнення синього забарвлення. Крохмаль додають близько точки стехіометричності, тобто коли розчин стає світло-жовтого кольору. Знаючи молярну концентрацію еквіваленту розчину йоду і об'єми розчинів йоду і тіосульфату, можна розрахувати молярну концентрацію еквіваленту розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Визначення окисників

Пряме титрування окисників робочим розчином КІ провести неможливо, оскільки неможливо зафіксувати точку еквівалентності, тобто мить, коли закінчилося виділення I_2 . Наприклад, при титруванні розчину біхромату калію. В таких випадках використовують непрямий метод – *метод заміщення*. Він полягає у тому, що спочатку до певного об'єму розчину біхромату (точно відміреного піпеткою) додають надлишок підкисленого сульфатною кислотою розчину калій йодиду. Для закінчення реакції розчин залишають на 5 хвилин в темряві і вільний йод, що виділився, відтитровують робочим розчином натрій тіосульфату. При цьому число витрачених молей-еквівалентів натрій тіосульфату дорівнює числу молей-еквівалентів йоду і відповідно взятій кількості біхромату. Тому для обчислення користуються формулою:

$$C(1/2 \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = C(1/6 \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) \cdot V(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7).$$

В загальному вигляді схема йодометричного титрування окисників така:

- а) в колбу для титрування: визначуваний окисник, виміряний піпеткою (або наважка) + кислота + КІ (надлишок) = виділення I_2 (в темряві протягом 5 хв.);
- б) титрування I_2 натрій тіосульфатом.

Якщо іони H^+ не приймають участі в реакції, то підкислювати розчин на стадії (а) не потрібно. Надлишок КІ потрібний для розчинення I_2 і переводу його у нелетку сполуку. За цією схемою

можна визначати велику кількість окисників, а саме: Cl_2 , Br_2 , KMnO_4 , KClO_3 , CaOCl_2 , нітрити, гідроген пероксид, солі феруму(III), купруму(II) та інші.

2.4. Методи осаджувального титрування

В основу методів осаджувального титрування покладені реакції утворення важкорозчинних сполук. Таких реакцій існує велика кількість, але тільки деякі з них можна використовувати в титриметричному аналізі. Це пояснюється тим, що утворення важкорозчинного осаду утруднює спостереження за зміною забарвлення індикаторів, осад утворюється повільно, особливо при досягненні кінцевої точки титрування. Крім цього, осад можуть адсорбувати своєю поверхнею іони, які присутні в розчині, що аналізується.

Кінець титрування у методах осаджувального титрування можливо фіксувати за допомогою індикаторів або без них. Якщо індикатор не застосовують, то титрують до закінчення утворення осаду (або помутніння) в місці падіння краплі титранту. Слід визначити, що в цих методах немає загальних індикаторів; в кожному випадку обирають індикатор в залежності від реакції, умов її проведення та порядку титрування.

Важливими умовами використання реакцій утворення важкорозчинних осадів є такі:

1. Осад повинен бути практично нерозчинним;
2. Осадження важкорозчинної сполуки повинно проходити достатньо швидко; утворення пересичених розчинів небажано;
3. Результати титрування не повинні викривлятися явищем співосадження;
4. Можливість фіксування кінцевої точки титрування (к. т. т.).

Назва методів осаджувального титрування виникає від назви робочих розчинів, які використовують. До них відносяться

аргентометричні, меркурометричні та меркуриметричні методи титрування.

Аргентометричними методами є:

- метод Мора: визначають Cl^- , Br^- ;
- метод Фольгарда (тіоціанатометрія або роданометрія): визначають при прямому титруванні Ag^+ , Hg^{2+} , Br^- , I^- ; при зворотному титруванні Cl^- , Br^- .

Меркурометричним методом визначають Cl^- , Br^- , I^- , а меркуриметричним – Cl^- , Br^- , I^- , CN^- , SCN^- .

3. Спектрофотометричний метод

Колориметричні, фотоколориметричні та спектрофотометричні методи аналізу засновані на вимірюванні інтенсивності електромагнітного випромінювання (далі світла), яке пройшло крізь забарвлений розчин.

В колориметрії та фотоколориметрії світло – поліхроматичне, в спектрофотометрії – монохроматичне (випромінювання з певною довжиною хвилі). При проходженні крізь забарвлений розчин монохроматичного випромінювання з інтенсивністю (I_0), частина його поглинається (I_n), (якщо розчин прозорий, не містить осаду, то світло практично не розсіюється, тобто $I_p = 0$), а частина проходить крізь розчин (I), при цьому інтенсивність світла зменшується в I_0/I раз. Логарифм відношення початкової інтенсивності світла (I_0) до інтенсивності світла, що пройшло крізь усю товщу (l) забарвленого розчину (I) називається оптичною густиною:

$$A = \lg I_0/I.$$

Залежність оптичної густини (A) забарвленого розчину від концентрації речовини (C , моль/л) та товщини поглинаючого шару (l , см) визначається *основним законом світлопоглинання Бугера-Ламберта-Бера*:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C,$$

де ϵ – молярний коефіцієнт світлопоглинання, величина якого постійна для кожної речовини і залежить від її природи, температури та довжини хвилі монохроматичного випромінювання. Молярним коефіцієнтом світлопоглинання називають оптичну густину розчину з концентрацією 1 моль/л при товщині поглинаючого шару 1 см. Чим більше значення ϵ , тим меншу концентрацію можна визначити (більша чутливість визначення).

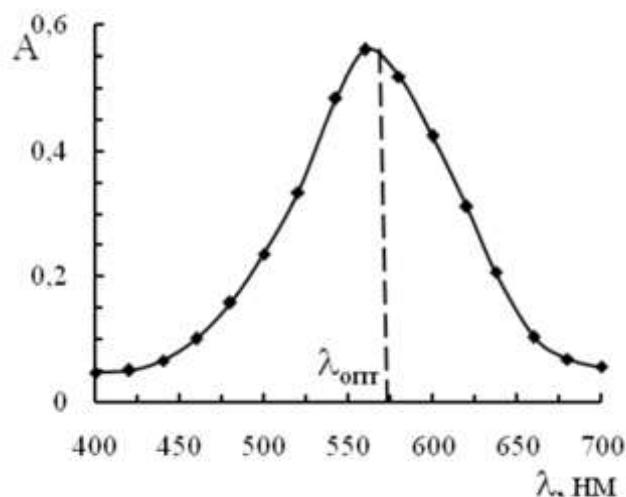


Рис.3.2. Спектр поглинання

перевищували $0,5 \div 0,6$.

Поглинання світла вимірюють на фотоелектроколориметрах або спектрофотометрах. Кількісне визначення проводять за методом

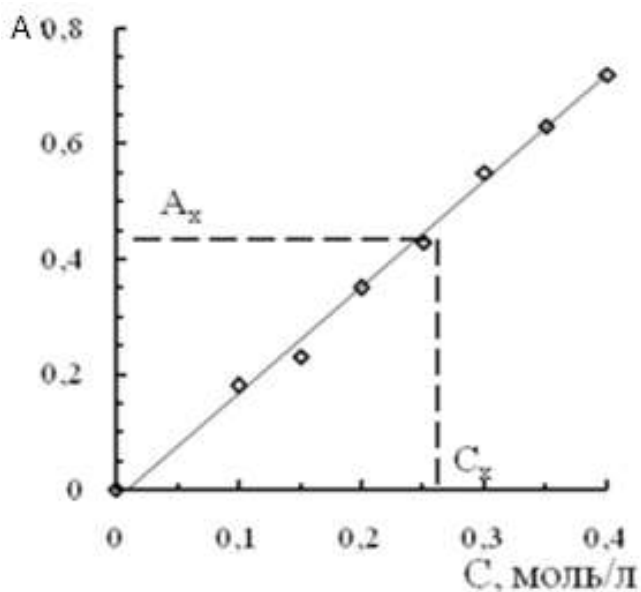


Рис.3.3. Градувальний графік

Для фотометричного визначення необхідно:

- вибрати довжину хвилі $\lambda_{\text{опт}}$ або відповідний світлофільтр. Для цього реєструють спектри поглинання, які характеризують розподіл поглинаючої здатності розчину залежно від довжини хвилі $A = f(\lambda)$ (рис. 3.2);
- вибрати товщину кювети так, щоб значення A не

градувального графіка (рис. 3.3).

Для цього готують серію стандартних розчинів з відомими концентраціями досліджуваної речовини, додають необхідні реагенти та вимірюють оптичну густину цих розчинів при оптимальних $\lambda_{\text{опт}}$ та l кювети відносно розчину порівняння (холостого розчину).

В якості розчину порівняння використовують дистильовану воду (якщо всі реагенти не забарвлені) або розчин, який містить всі компоненти системи крім досліджуваного. Будують градувальний графік в координатах $A = f(C)$ та визначають концентрацію речовини досліджуваного розчину C_x , за допомогою попередньо виміряної величини оптичної густини (A_x) цього розчину (рис. 3.3).

4. Рефрактометрія

Метод заснований на вимірюванні відносного **показника заломлення світла (n)** досліджуваною речовиною.

$$n = \frac{V_1}{V_2} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta},$$

де n – відношення швидкості поширення світла в повітрі (V_1), або синуса кута падіння ($\sin \alpha$) до швидкості світла в аналізованому розчині (V_2) або синусу кута заломлення ($\sin \beta$) в аналізованому розчині.

Прийнято представляти значення n при певних умовах: $t^\circ = 20 \pm 0,5$ °C; $\lambda = 589,3$ нм (жовта лінія D спектру випромінювання натрію). При цьому показник заломлення позначають таким чином: n_D^{20} .

Показник заломлення залежить від:

- природи середовища, що заломлює світло (тобто досліджуваної речовини);
- довжини хвилі заломлюваного світла;
- температури;
- концентрації розчину (при вимірюванні показника заломлення розчину);
- від напрямку падаючого на кристал світла (при вимірюванні показника заломлення анізотропних кристалів).

Рефрактометричні дослідження проводять для визначення чистоти, ідентифікації (табл. 4.1), структури та кількісного вмісту речовини.

Таблиця 4.1

**Відносні показники заломлення n_D^{20}
деяких чистих рідин та рідких лікарських субстанцій**

Рідина	n_D^{20}	Рідка лікарська субстанція	n_D^{20}
Ацетатна кислота	1,3718	Вінілін	1,450 – 1,547
Вода	1,3330	Олія евкаліптова	1,458 – 1,470
Гліцерин	1,4744	Олія касторова	1,475 – 1,480
Етанол	1,3611	Олія м'яти перцевої	1,459 – 1,470
Етиленгліколь	1,4318	Олія персикова	1,470 – 1,473
Метанол	1,3288	Цукровий сироп	1,451 – 1,454
Мурашина кислота	1,3714		
Хлороформ	1,4456		

Використання методу рефрактометрії у кількісному аналізі базується на використанні залежності між показником заломлення n досліджуваного розчину і вмістом c досліджуваної речовини у цьому розчині при умові, що ця залежність є лінійною.

Якщо у деякому інтервалі змін c і n ця залежність є лінійною, то виконується співвідношення:

$$c = \frac{n - n_0}{F},$$

де n – показник заломлення розчину; n_0 – показник заломлення чистого розчинника (для води $n_D^{20} = 1,3330$); F – рефрактометричний фактор.

Рефрактометричний фактор (F) – величина, що дорівнює величині приросту показника заломлення розчину n при збільшенні концентрації на 1 %.

Рефрактометричний фактор (F) знаходять експериментально. Для цього вимірюють значення показників заломлення n_1 і n_2 двох розчинів з концентрацією досліджуваної речовини c_1 і c_2 у % і значення F розраховують за формулою:

$$F = \frac{n_2 - n_1}{c_2 - c_1} = \frac{\Delta n}{\Delta c},$$

де n_2 – показник заломлення розчину з вищою (відомою) концентрацією c_2 ; n_1 – показник заломлення розчину з нижчою (відомою) концентрацією c_1 .

Концентрацію досліджуваної речовини у розчині c_x з використанням фактора F розраховують за формулами:

$$n_x = n_0 + Fc_x;$$

$$c_x = (n_x - n_0) / F,$$

де n_x – показник заломлення досліджуваного розчину з концентрацією c_x ; n_0 – показник заломлення розчинника.

Для вимірювання показника заломлення світла використовують прилад, який має назву *рефрактометр* типу Аббе (рідше – на рефрактометрах Пульфріха). Точність вимірювань складає $\pm 2 \cdot 10^4$.

Вимірювання показника заломлення на рефрактометрах виконують наступним чином:

1. Перевіряють правильність налагодження приладу за дистильованою водою. Наносять 2-3 краплі води очищеної на призму. Маховиком для усунення спектрального забарвлення світлової межі досягають положення, за якого межа світла і тіні зберігатиметися з перетином двох прямих. При цьому світло-тінь вказує на значення показника заломлення на шкалі відліку. За температури 20 °С значення індексу рефракції для води очищеної має становити 1,3330. Іноді межа світло-тінь виявляється нечіткою і забарвленою різними кольорами спектра (внаслідок проходження білого світла крізь призму). Виправити таке положення допомагає компенсатор дисперсії – призма Амічі, який потрібно повернути до досягнення чіткої межі світло-тінь.
2. Призму висушують фільтрувальним папером і наносять 2-3 краплі досліджуваного розчину. Обертанням маховика для зміщення світлової межі підводять межу світла і тіні до точки перетину двох прямих і роблять відлік значення індексу рефракції.

3. При проведенні рефрактометричних вимірювань необхідно підтримувати постійну температуру за допомогою термостату.
4. Визначення показника заломлення виконують для кожного розчину 3-4 рази і беруть середнє значення.
5. Після кожного вимірювання призму ретельно протирають ваткою, змоченою етанолом, промивають водою очищеною і протирають фільтрувальним папером.

Слід пам'ятати, що відкривати й закривати призму слід дуже обережно й повільно для уникнення пошкоджень.

II. Методики виконання лабораторних робіт

Лабораторна робота № 1 СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТОНУ З НІТРОПРУСИДОМ НАТРІЮ

Хіміко-токсикологічна характеристика ацетону

Ацетон $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$ (диметилкетон, пропанон) – безбарвна рухлива рідина (т. кип. $56,3\text{ }^\circ\text{C}$) з характерним запахом. Він змішується з водою, етиловим спиртом і діетиловим етером у всіх співвідношеннях. З водних розчинів ацетон висолюється хлоридом натрію, хлоридом кальцію, карбонатом калію (рідина розділюється на два шари).

Ацетон добре розчиняє солі багатьох неорганічних кислот і ряд органічних сполук. Ацетон отримують при сухій перегонці дерева, кам'яного вугілля, а також шляхом синтезу.

Застосування. Дія на організм. Ацетон широко використовується в промисловості як розчинник для вилучення ряду речовин, для перекристалізації хімічних сполук, хімічної чистки, отримання хлороформу. Пари ацетону важчі за повітря, тому в приміщеннях, в яких відбувається випаровування ацетону, створюється небезпека отруєння при вдиханні його парів.

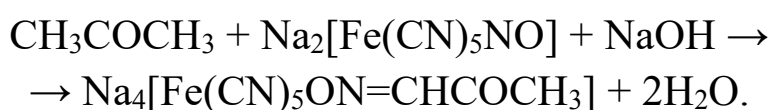
За фармакологічними властивостями ацетон відноситься до тих речовин, які проявляють наркотичну дію. Він володіє кумулятивними властивостями. Ацетон повільно виводиться з організму. Він може надходити в організм з повітрям, а також через травний канал і шкіру. Після надходження ацетону в кров частина його переходить в головний мозок, селезінку, печінку, підшлункову залозу, нирки, легені і серце.

Метаболізм. Незначна частина ацетону, що надійшла в організм, перетворюється на карбон(IV) оксид, який виділяється з повітрям, що

видихається. Ацетон виділяється з організму в незмінному вигляді з повітрям, що видихається, через шкіру, а деяка його частина – з сечею.

При отруєнні ацетоном слід мати на увазі, що певна кількість його може бути в крові і в сечі осіб, які страждають на діабет і деякими іншими захворюваннями. Крім цього, ацетон є метаболітом ізопропілового спирту.

Принцип методу. Ацетон з нітропрусидом натрію в лужному середовищі дає інтенсивно-червоне забарвлення розчину. При підкисленні оцтовою кислотою забарвлення переходить в червоно-фіолетове:



З нітропрусидом натрію забарвлені сполуки утворюють речовини, що містять єнолізуючі СО-групи. Кетони, в молекулах яких відсутні метильні або метиленові групи, пов'язані з СО-групами, не дають цієї реакції.

Реактиви та апаратура

1. Нітропрусид натрію, 15 % розчин.
2. Амоніачний буферний розчин, рН 10.
3. Розчини ацетону:
 - а) основний розчин ацетону готують у мірній колбі об'ємом 100 мл шляхом розведення 33 мл товарного ацетону дистильованою водою. Концентрація ацетону в одержаному розчині становить 250 мг/мл.
 - б) робочий розчин ацетону готують у мірній колбі об'ємом 100 мл шляхом розведення 5 мл основного розчину ацетону дистильованою водою. Концентрація ацетону в одержаному розчині становить 12,5 мг/мл.
4. Спектрофотометр СФ-46 або концентраційний фотоколориметр КФК-2.

Хід визначення

У мірну колбу місткістю 25 мл з розчином ацетону невідомої концентрації додають 6 мл амоніачного буферного розчину і 1,0 мл нітропрусиду натрію (15 % розчин). Доводять дистильованою водою до мітки, перемішують і залишають на 10÷15 хвилин (строго стежать за часом). Потім вимірюють оптичну густину при довжині хвилі 590 нм в кюветі з товщиною оптичного шару 3 см, відносно дистильованої води, що пройшла весь хід аналізу. Концентрацію ацетону знаходять за градуювальним графіком.

Побудова градуювального графіку

У ряд мірних колб об'ємом 25 мл вносять 0 – 3,0 – 5,0 – 7,0 – 10,0 – 15,0 мл робочого розчину ацетону (12,5 мг/мл) та проводять приготування розчинів, як зазначено вище. Будують градуювальний графік в координатах оптична густина – концентрація ацетону, мг/мл.

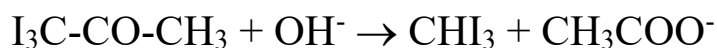
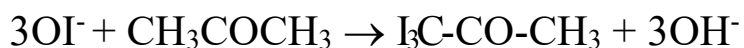
Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика ацетону.
2. Особливості метаболізму ацетону в організмі людини.
3. Умови визначення ацетону з нітропрусидом натрію.
4. Сутність спектрофотометричного методу.
5. Мета використання в хімічному аналізі буферних розчинів та їх види.

Лабораторна робота № 2

ЙОДОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТОНУ

Принцип методу. При взаємодії ацетону з розчином йоду в лужному середовищі утворюється йодоформ:



Реактиви та апаратура

1. Розчин хлоридної кислоти, 10 %.
2. Розчин NaOH, 1 н.
3. Розчин йоду, 0,05 н.
4. Крохмаль, 0,5 % розчин.
5. Натрій тіосульфат, 0,1 н розчин.
6. Розчини ацетону:
 - а) основний розчин ацетону готують розведенням 0,5 мл товарного ацетону в мірній колбі об'ємом 100 мл дистильованою водою.
 - б) робочий розчин ацетону готують розведенням 30 мл основного розчину ацетону у мірній колбі об'ємом 500 мл дистильованою водою.

Хід визначення

У колбу для титрування поміщають 25 мл досліджуваного розчину, який містить ацетон, додають 20 мл розчину йоду і 2÷3 мл розчину натрій гідроксиду. Перемішують і залишають колбу на 30 хвилин у темному місці. Потім додають 2 мл 10 % хлоридної кислоти і відтитровують надлишок йоду натрій тіосульфатом, додаючи під кінець титрування кілька крапель крохмалю. Розрахунок вмісту ацетону (X , мг/мл) ведуть за формулою:

$$X = \frac{(0,05 \cdot 20 - 0,1 \cdot V_{\text{р-ну}}) \cdot 19,36}{25},$$

де $V_{\text{р-ну}}$ – об'єм розчину натрій тіосульфату, який пішов на титрування, мл; 0,05 – нормальність йоду; 20 – об'єм йоду, взятого для аналізу, мл; 0,1 – нормальність натрій тіосульфату; 19,36 – число г-екв йоду в 1 л; 25 – об'єм ацетону, взятого для аналізу, мл.

Для точного встановлення вмісту ацетону під час титрування необхідно проводити 3 паралельні досліди з подальшим проведенням статистичної обробки результатів аналізу.

Контрольні питання

1. Застосування ацетону в промисловості та дія його на організм.
2. Принцип методу йодометричного визначення ацетону.
3. Сутність титриметричного методу аналізу.
4. Види окисно-відновного титрування.
5. Індикатори, які застосовуються при окисно-відновному титруванні.

Лабораторна робота № 3 ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛУ З 4-АМІНОАНТИПІРИНОМ

Хіміко-токсикологічна характеристика фенолу

Фенол представляє собою тонкі довгі голчаті кристали або безбарвну кристалічну масу зі своєрідним запахом. На повітрі він поступово стає рожевим. Фенол розчиняється у воді у співвідношенні 1:20, легко розчиняється в етиловому спирті, діетиловому етері, хлороформі, оліях, розчинах їдких лугів.

Застосування. Дія на організм. Фенол застосовується в медичній практиці як дезінфікуючий засіб. Він широко використовується в хімічній промисловості для одержання багатьох сполук (барвників, пластичних мас, фармацевтичних препаратів, засобів захисту рослин).

Фенол всмоктується в кров через слизові оболонки і шкіру, а потім розподіляється в органах і тканинах. Фенол, який надійшов в організм через харчовий канал, викликає болі в шлунку, блювоту, пронос, іноді з домішками крові. Сеча отруєних фенолом людей має оливковий або оливково-чорний колір. При пероральному надходженні в організм 10÷15 г фенолу настає смерть. Після розтину трупів осіб, отруєних фенолом, найбільшу кількість його можна знайти в нирках, потім у печінці, серці, крові та головному мозку.

Метаболізм. Частина фенолу в організмі зв'язується з білками, а частина піддається окисленню з утворенням гідрохінону і пірокатехіну. Незв'язаний фенол і його метаболіти (гідрохінон і пірокатехін) виділяються з сечею у вигляді кон'югатів з сульфатами і глюкуроновою кислотою.

Виділення фенолу з біологічного матеріалу. Фенол, що міститься в трупному матеріалі, виділяють шляхом перегонки з водяною парою.

У сечі людей і тварин, отруєних фенолом, він може знаходитися як в незв'язаному вигляді, так і у вигляді кон'югатів з сульфатами і глюкуроновою кислотою. Для ізолювання незв'язаного фенолу з сечі її підкислюють слабким розчином оцтової кислоти, а потім фенол відганяють з водяною парою. Дистилят, в який може переходити як фенол, так і частина оцтової кислоти, нейтралізують гідрокарбонатом натрію, а потім з дистиляту фенол екстрагують органічним розчинником. Отриману витяжку використовують для виявлення і кількісного визначення фенолу.

Принцип методу. Метод заснований на утворенні забарвлених сполук фенолу, його похідних і гомологів з 4-аміноантипіріну в присутності калій гексаціаноферату(III) в лужному середовищі при $\text{pH} = 10$. Межа виявлення фенолу 0,001 мг/мл.

Реактиви та апаратура

1. 4-аміноантипірін, 0,2 % розчин. Використовують свіжоприготовленим.
2. Гексаціаноферат(III) калію, 8 % розчин. Використовують свіжоприготовленим.
3. Амоніачний буферний розчин, $\text{pH} 10$.
4. Хлороформ (ч. д. а).
5. Розчини фенолу:
 - а) основний розчин фенолу. У мірній колбі об'ємом 100 мл розчиняють 0,1 г фенолу та доводять до мітки дистильованою водою. Концентрація фенолу 1 мг/мл.

- б) робочий розчин фенолу. Основний розчин фенолу розбавляють дистильованою водою в 100 разів. В 1 мл міститься 0,01 мг фенолу.
6. Спектрофотометр СФ-46 або концентраційний фотоколориметр КФК-2.

Хід визначення

В конічну сорбційну колбу з притертою кришкою поміщають 50 мл розчину, який аналізують, та додають 1,0 мл буферного розчину, 1,0 мл розчину 4-аміноантипірину і 1,0 мл розчину калій гексаціаноферату. Після додавання кожного реактиву пробу перемішують. Через 15 хвилин після додавання всіх реактивів в колбу вносять 10 мл хлороформу, закривають кришкою і струшують 1-2 хвилини. Переносять у ділильну воронку і відокремлюють органічний шар, екстракт фільтрують для видалення водної емульсії. Екстракт фотометрують з синім світлофільтром при $\lambda = 455$ нм в кюветах з товщиною оптичного шару 1 см по відношенню до екстракту, який отриманий при обробці дистильованої води з додаванням усіх реагентів. Концентрацію фенолу визначають за градувальним графіком.

Побудова градувального графіка

У ряд мірних колб місткістю 50 мл вносять 0 – 0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 мл робочого розчину фенолу і доводять дистильованою водою до мітки. Отриману серію розчинів обробляють і фотометрують як зазначено вище. Будують градувальний графік в координатах оптична густина – концентрація фенолу, мг/л.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика фенолу.
2. Застосування фенолу в промисловості та дія його на організм людини.
3. Виділення фенолу з біологічного матеріалу.
4. Принцип методу екстракційно-фотометричного визначення фенолу.
5. Визначення поняття екстракції та умови її застосування.

Лабораторна робота № 4
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ
ФОРМАЛЬДЕГІДУ З ХРОМОТРОПОВОЮ КИСЛОТОЮ

Хіміко-токсикологічна характеристика формальдегіду

Формальдегід (альдегід мурашиної кислоти) – газ, добре розчинний у воді, що має гострий специфічний запах. Водний розчин, який містить 36,5÷37,5 % формальдегіду, має назву формалін. Формальдегід утворюється при неповному згорянні метану, при окисненні метилового спирту і т. д.

Газоподібний формальдегід при кімнатній температурі легко полімеризується з утворенням параформальдегіду. Відомо кілька продуктів полімеризації газоподібного формальдегіду. Один з полімерів формальдегіду має назву триоксиметилен $(\text{CH}_2\text{O})_3$ з температурою плавлення 63÷64 °С. У водних розчинах також утворюється параформальдегід, що відноситься до поліоксиметиленів, які є продуктами полімеризації значно більшого числа молекул формальдегіду. Параформальдегід при нагріванні, особливо в присутності кислот, частково деполімеризується з утворенням газоподібного формальдегіду.

Формальдегід ізолюють з біологічного матеріалу шляхом перегонки з водяною парою. Однак цим методом переганяється тільки незначна частина формальдегіду. Вважають, що формальдегід у водних розчинах знаходиться у вигляді гідрату (метиленгліколю), який важко відганяється з водяною парою:



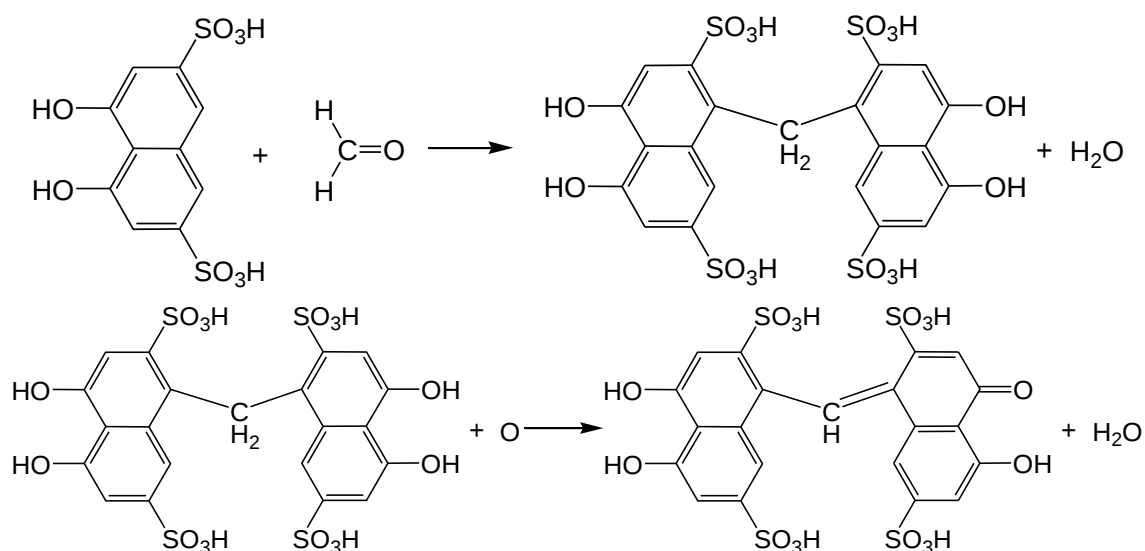
Застосування. Дія на організм. Формальдегід широко використовується в промисловості для отримання пластичних мас і фенолформальдегідних смол, дублення шкір, консервування анатомічних препаратів, отримання гексаметилентетраміну, синтетичного каучуку, протруювання зерна, обробки приміщень, тари

з метою дезінфекції. Формальдегід проявляє антисептичну та дезінфікуючу дію. При вдиханні невеликих кількостей формальдегіду він дратує верхні дихальні шляхи. При вдиханні великих концентрацій формальдегіду може настати раптова смерть в результаті набряку і спазму голосової щілини. При попаданні формальдегіду в організм через рот можуть наступити некротичні ураження слизової оболонки рота, харчового каналу, з'являється слинотеча, нудота, блювота, пронос. Формальдегід діє на центральну нервову систему, в результаті цього може відбутися втрата свідомості та судом. Під впливом формальдегіду розвиваються дегенеративні ураження печінки, нирок, серця і головного мозку. Формальдегід впливає на деякі ферменти. 60÷90 мл формаліну є смертельною дозою.

Метаболізм. Метаболітами формальдегіду є метиловий спирт і мурашина кислота, які, у свою чергу, піддаються подальшому метаболізму.

Виявлення формальдегіду. У хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення формальдегіду НСНО застосовують реакції з хромотроповою кислотою, з розчином кодеїну в сірчаній кислоті, з резорцином та ін.

Реакція з хромотроповою кислотою. Хромотропова кислота (1,8-діоксинафталін-3,6-дисульфокислота) з формальдегідом у присутності сульфатної кислоти дає фіолетове забарвлення розчину.



При взаємодії формальдегіду з хромотроповою кислотою концентрована сульфатна кислота одночасно є водовідбираючим засобом і окислювачем. Спочатку сульфатна кислота ініціює конденсацію формальдегіду з хромотроповою кислотою, а потім окислює утворений продукт конденсації.

Гранично допустима концентрація формальдегіду у воді водойм 0,05 мг/л, лімітуючий показник шкідливості – санітарно-токсикологічний.

Принцип методу. Метод заснований на реакції формальдегіду з хромотроповою кислотою в середовищі сульфатної кислоти з утворенням сполуки червоно-фіолетового кольору, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту формальдегіду. Без зміни об'єму проби можна визначати від 0,05 мг/л до 1,50 мг/л формальдегіду. Межа виявлення 0,05 мг/л.

Реактиви та апаратура

1. Сульфатна кислота густиною 1,84 г/см³.
2. Хлоридна кислота, 10 %.
3. Розчин йоду (J₂), 0,1 н.
4. Розчин NaOH, 1 н.
5. Хромотропова кислота, 2 % розчин. Використовують свіжоприготовленим.
6. Крохмаль, 0,5 % розчин.
7. Натрій тіосульфат, 0,1 н розчин.
8. Розчини формальдегіду:
 - а) *робочий розчин I формальдегіду.* В мірну колбу на 25 мл поміщають 0,8 мл розчину формальдегіду з концентрацією ~30 мг/мл і додають дистильовану воду до мітки. У 1 мл розчину міститься ~1 мг формальдегіду.
 - б) *робочий розчин II формальдегіду (0,04 мг/мл).* Готують після проведення стандартизації *робочого розчину I формальдегіду.*
8. Спектрофотометр СФ-46 або концентраційний фотокалориметр КФК-2.

Стандартизація робочого розчину формальдегіду

Перед роботою необхідно встановити точну концентрацію формальдегіду. Для цього 5 мл розчину формальдегіду поміщають в колбу для титрування, додають 20 мл 0,1 н йоду та 1÷2 мл натрій гідроксиду доти, поки забарвлення не стане блідо-жовтим, після чого залишають на 10 хвилин. Потім додають 5 мл 10 % хлоридної кислоти та відтитровують невитрачений йод 0,1 н тіосульфатом натрію, додаючи під кінець титрування 0,5 % розчин крохмалю.

Вміст формальдегіду (X, мг/мл) знаходять за формулою:

$$X = \frac{(20 - V_{\text{р-ну}}) \cdot 1,5}{5},$$

де $V_{\text{р-ну}}$ – об'єм розчину натрій тіосульфату, витраченого на титрування, мл; 1,5 – кількість формальдегіду (мг), який відповідає 1 мл 0,1 н йоду; 5 – об'єм розчину формальдегіду, взятого для аналізу, мл; 20 – об'єм розчину йоду, мл.

Хід визначення

Пробу, яка містить формальдегід, у мірній колбі на 50 мл доводять до мітки дистильованою водою, ретельно перемішують. З отриманого розчину відбирають 1 мл у мірний циліндр місткістю 10 мл, додають 0,5 мл 2 % хромотропової кислоти та 5 мл сульфатної кислоти, перемішують. Циліндр поміщають у водяну баню, витримують на ній 15 хв., потім охолоджують до кімнатної температури та переносять у мірні колби об'ємом 50 мл, доводять до мітки, ретельно перемішують. Фотометрують одержаний розчин з зеленим світлофільтром ($\lambda = 570$ нм) відносно до розчину порівняння у кюветах з товщиною оптичного шару 0,5 см.

Концентрацію формальдегіду (мг/мл) знаходять за градувальним графіком.

Побудова градувального графіка

У ряд мірних колб місткістю 50 мл вносять 0 – 2,5 – 5,0 – 12,5 – 25,0 – 50,0 мл *робочого розчину II формальдегіду*, доводять об'єм до

мітки дистильованою водою, перемішують. Далі проводять аналіз як зазначено вище. Розчини фотометрують і будують градувальний графік в координатах оптична густина – концентрація формальдегіду (мг/мл).

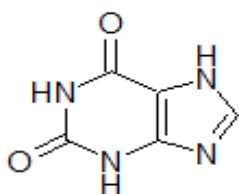
Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика формальдегіду.
2. Застосування формальдегіду в промисловості. Дія на організм людини.
3. Принцип методу визначення формальдегіду з хромотроповою кислотою.
4. Загальна характеристика методу титриметричного аналізу. Види титриметрії.
5. Основний закон світлопоглинання. Відхилення від основного закону світлопоглинання.

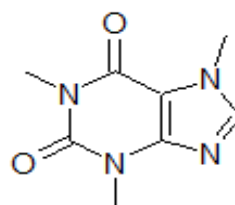
Лабораторна робота № 5 ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КОФЕЇНУ В РІЗНИХ СОРТАХ ЧАЮ

Хіміко-токсикологічна характеристика кофеїну

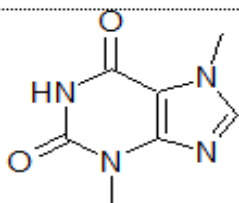
У хіміко-токсикологічному аналізі певний інтерес представляють похідні ксантину або так звані пурини. Ці речовини містять конденсовану кільцеву систему імідазолу і піримідину. До числа похідних ксантину, застосовуваних у медицині, відносяться кофеїн, теобромін і теофілін, які є алкалоїдами:



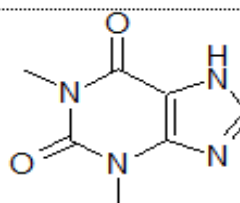
ксантин
(2,6–діоксипурин)



кофеїн
(1,3,7–триметилксантин)



теобромін
(3,7–диметилксантин)

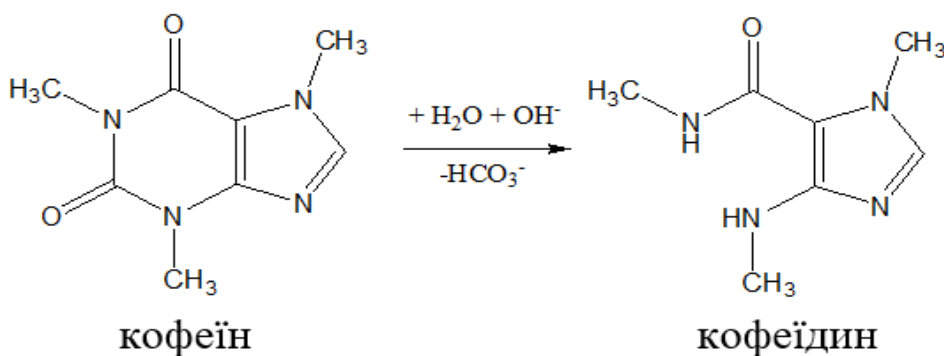


теофілін
(1,3–диметилксантин)

Для виявлення кофеїну, теоброміну та теофіліну застосовують реакцію утворення мурексиду, реакції групового осадження алкалоїдів, деякі фізико-хімічні методи.

Кофеїн (1,3,7-триметилксантин) належить до числа алкалоїдів, що містяться в плодах кавового дерева, листках чаю і в деяких інших рослинах. Крім кофеїну в зазначених рослинах містяться і інші похідні ксантину (теобромін, теофілін). Кофеїн виділяють як з рослин, так і отримують синтетичним шляхом.

У лужному середовищі кофеїн розкладається з утворенням фізіологічно неактивного кофеїдину:



Кофеїн розчиняється у хлороформі (1:7), воді (1:60), етиловому спирті (1:130), слабо розчиняється в діетиловому етері.

Кофеїн екстрагується органічними розчинниками із кислих і лужних розчинів. Проте максимальні кількості кофеїну екстрагуються хлороформом при рН 4,0÷5,5.

Застосування. Дія на організм. Кофеїн дає збудливу дію на центральну нервову систему, послаблює дію снодійних і наркотичних засобів, підвищує збудливість спинного мозку, збуджує дихальний та судиноруховий центри. У медицині застосовуються кофеїн та його розчинні (подвійні) солі (натрій кофеїн-бензоат, натрій кофеїн-саліцилат). Кофеїн входить до складу багатьох лікарських форм (аскофен, пірамеїн, цитрамон та ін.).

Метаболізм. Кофеїн швидко всмоктується з травного каналу. Кофеїн є менш токсичним ніж теофілін, але більш токсичний ніж теобромін. Кофеїн швидко розкладається в організмі (приблизно 15 % прийнятої дози розкладається за 1 годину) шляхом N-диметилування та окислення. У результаті розкладання кофеїну утворюється ряд метаболітів (1-метилксантин, 7-метилксантин, 1,7-диметилксантин, 1-метилсечова кислота, 1,3-диметилсечова кислота), що виділяються з сечею.

Тільки незначна кількість кофеїну, який потрапив до організму, виділяється з сечею в незміненому вигляді.

Принцип методу. Метод заснований на отриманні хлороформного екстракту з чаю і здібності кофеїну, що міститься в екстракті, поглинати промені в ультрафіолетовій області спектру (272 нм).

Супутні компоненти (танін, пігменти тощо) не заважають визначенню кофеїну в чаї.

Реактиви та апаратура

1. Хлороформ (ч. д. а).

2. Розчини кофеїну:

а) робочий розчин І кофеїну: в мірну колбу місткістю 25 мл поміщають 25 мг кофеїну, доводять до мітки хлороформом і перемішують: 1 мл отриманого розчину містить 1 мг кофеїну.

б) робочий розчин II кофеїну готують розведенням робочого розчину I кофеїну в 20 разів. Отриманий розчин містить 0,05 мг/мл кофеїну.

3. Спектрофотометр СФ-46.

4. Апарат для струшування АВУ – 6с.

Хід визначення

Пробу (0,5 г сухого чаю) поміщають у конічну колбу з притертою пробкою, доливають 15 мл хлороформу та перемішують протягом 1 години. Після чого екстракт поміщають у мірну колбу об'ємом 25 мл та додають хлороформ до мітки, перемішують. 0,5 мл прозорого фільтрату поміщають у мірний циліндр об'ємом 10 мл (або в мірну колбу на 25 мл поміщують 1,25 мл фільтрату), розбавляють хлороформом до мітки і перемішують. Оптичну густину розчину вимірюють при довжині хвилі 272 нм у кюветі 1 см. Розчин порівняння – хлороформ. За градувальним графіком знаходять концентрацію кофеїну в екстракті (q, мг/мл).

Вміст кофеїну в чаї (Q, %) обчислюють за формулою:

$$Q = \frac{q \cdot 25 \cdot V_{\text{м.к.}} \cdot 100}{m \cdot V_a \cdot 1000},$$

де q – знайдена по графіку концентрація кофеїну в екстракті, мг/мл; 25 – об'єм екстракту, мл; m – маса взятої для аналізу проби чаю, г; V_a – об'єм аліквотної частини екстракту, мл; $V_{\text{м.к.}}$ – об'єм мірної колби (або циліндру) у другому розбавленні екстракту, мл.

Побудова градувального графіка

Для побудови градувального графіка у мірні циліндри місткістю 10 мл послідовно вносять 0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 – 3,0 мл (або в мірні колби місткістю 25 мл: 1,25 – 2,50 – 3,75 – 5,00 – 6,25 – 7,50 мл) робочого розчину II кофеїну (0,05 мг/мл) та доводять хлороформом до мітки, перемішують. Розчини фотометрують і

будують градувальний графік в координатах: оптична густина розчину – концентрація кофеїну, мг/мл.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика кофеїну.
2. Принцип екстракційно-фотометричного методу визначення кофеїну.
3. Метаболізм кофеїну в організмі людини.
4. Спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видимій областях спектру.
5. Сутність твердо-рідиннофазової та рідинно-рідиннофазової екстракції.

Лабораторна робота № 6 СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНТАМІЦИНУ

Хіміко-токсикологічна характеристика гентаміцину

Гентаміцин (Gentamycinum) – антибіотик аміноглікозидного ряду широкого спектру дії, пригнічує бактеріальний синтез білка, високоактивний по відношенню до аеробних грамнегативних бактерій, використовується при лікуванні важких форм інфекційно-запальних захворювань, що викликаються чутливими до нього мікроорганізмами. На мікробну клітину діє бактерицидно. Даний ефект гентаміцину посилюється при поєднанні з пеніцилінами або цефалоспоринами, в тому числі при додаванні в субінгібіторних концентраціях.

Гентаміцин являє собою суміш декількох антибіотиків, які в 6-му положенні циклогексанового кільця мають залишок гарозаміна (3-дезоксид-4-С-метил-3-метиламіно-*L*-арабінопіранози), а в 4-му

положенні – залишок пурпурозаміна, що містить різні радикали при 6-му атомі вуглецю.

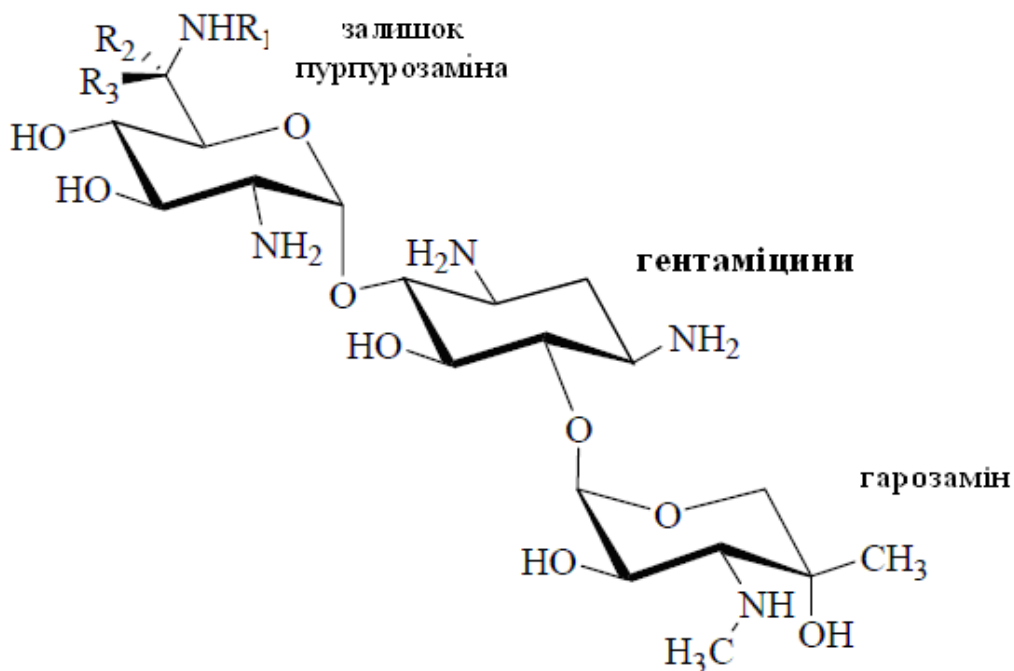


Рис. 1. Структурна формула гентаміцинів

У суміші гентаміцинів домінують гентаміцин C_1 (20-35 %) і гентаміцин C_{1a} (10-30 %) (табл. 1).

Таблиця 1

Хімічний склад гентаміцинів

Антибіотик	Замісники		
	R_1	R_2	R_3
гентаміцин C_1	$-CH_3$	$-H$	$-CH_3$
гентаміцин C_{1a}	$-H$	$-H$	$-H$
гентаміцин C_2	$-H$	$-H$	$-CH_3$
гентаміцин C_{2a}	$-H$	$-CH_3$	$-H$
гентаміцин C_{2b}	$-CH_3$	$-H$	$-H$

Лікарським препаратом являється *гентаміцин сульфат*, який являє собою сульфатну сіль фракцій різних гентаміцинів.

Застосування. Дія на організм. Аміноглікозиди – бактерицидні антибіотики. Їх активність залежить від концентрації: чим вище концентрація антибіотика, тим швидше гинуть бактерії. Інша характерна властивість препаратів цієї групи – антибактеріальна післядія: вони зберігають бактерицидну активність протягом деякого часу після того, як сироваткова концентрація препарату стає нижче мінімальної порогової концентрації. Час антибактеріальної післядії теж залежить від концентрації. Завдяки таким властивостям аміноглікозиди ефективні при призначенні 1 раз на добу. Механізм швидкої бактерицидної дії цих препаратів до кінця не вивчений, хоча їх здатність пригнічувати синтез білка і знижувати точність трансляції РНК вивчена досить добре.

Активно проникаючи через клітинну мембрану бактерій, гентаміцин необоротно зв'язується з субодинамиці бактеріальних рибосом і, тим самим, пригнічує синтез білка збудника, перешкоджаючи утворенню комплексу транспортної і матричної РНК; при цьому відбувається помилкове зчитування генетичного коду та утворення нефункціональних білків. У великих концентраціях порушує бар'єрну функцію цитоплазматичної мембрани і викликає загибель мікроорганізмів.

Метаболізм. Метаболізму практично не піддаються. Виділяються нирками у незміненому вигляді.

Принцип методу. Метод заснований на реакції гентаміцину з розчином Cu(II) в середовищі фосфатного буферного розчину з утворенням осаду. Після центрифугування виділяють комплексну сполуку синього кольору, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту гентаміцину.

Реактиви та апаратура

1. Робочий розчин гентаміцину з концентрацією 0,01 моль/л готували введенням в колбу на 100 мл 13,16 мл фармацевтичного препарату – розчину гентаміцину сульфату з концентрацією 2 мг/мл і доводили дистильованою водою до мітки.

2. Розчин Cu(II) з концентрацією 0,01 моль/л. Готували розчиненням 0,7954 г CuO в концентрованій нітратній кислоті і доводили дистильованою водою до 1000 мл.
3. Фосфатний буферний розчин з рН 7,6 готували змішуванням розчинів натрій гідро- і дигідрофосфату (2,4 г Na_2HPO_4 розчиняли і доводили дистильованою водою до 100 мл; 1,04 г NaH_2PO_4 розчиняли і доводили дистильованою водою до 100 мл).
4. Спектрофотометр СФ-46.
5. Центрифуга ОПн-8УХЛ4.2.

Хід визначення

В мірну пробірку місткістю 10 мл вносять пробу води, яка містить гентаміцин, додають 1 мл розчину Cu(II) з концентрацією 0,01 моль/л і буферним розчином з рН 7,6 доводять об'єм до 5 мл. Через 10 хвилин центрифугують при 3000 обертів за хвилину протягом 10 хвилин. Надосадкову рідину переливають в пробірку і залишають на 30 хвилин. Після цього визначають оптичну густину розчину при $\lambda = 250$ нм в кварцевій кюветі $l = 1$ см відносно бідистильованої води, проведеної через весь хід аналізу.

Концентрацію гентаміцину встановлюють графічним шляхом за допомогою градуювального графіку.

Побудова градуювального графіку

В ряд мірних пробірок на 10 мл вносять 0,1-0,9 мл робочого розчину гентаміцину (ГНМЦ), додають по 1 мл розчину Cu(II) з концентрацією 0,01 моль/л і буферним розчином з рН 7,6 доводять об'єм до 5 мл. Через 10 хвилин центрифугують при 3000 обертів за хвилину протягом 10 хвилин. Надосадкову рідину переливають в пробірку і залишають на 30 хвилин. Після цього визначають оптичну густину всіх розчинів при $\lambda = 250$ нм в кварцевій кюветі $l = 1$ см та будують градуювальний графік в координатах оптична густина – концентрація гентаміцину (моль/л).

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика гентаміцину.
2. Використання гентаміцину у поєднанні з іншими антибіотиками.
3. Дія гентаміцину сульфату на організм.
4. Який закон лежить в основі спектрофотометричного визначення? Його суть.
5. Що таке градувальний графік та для чого його використовують?

Лабораторна робота № 7

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

ОКСИТЕТРАЦИКЛІНУ

Хіміко-токсикологічна характеристика окситетрацикліну

Окситетрациклін – антибіотик групи тетрацикліну, який проявляє бактеріостатичну дію. За спектром протимікробної дії схожий з тетрацикліном, проте менш активний, ніж останній відносно ряду мікроорганізмів. Окситетрациклін характеризується широким спектром антибактеріальної дії, активний відносно більшості грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, в тому числі сальмонел, стафілококів, стрептококів, а також рикетсій і деяких великих вірусів; не діє на більшість грибів і дрібних вірусів. Механізм антибактеріальної дії окситетрацикліну гідрохлориду заснований на придушенні білкового синтезу мікробної клітини (блокада функції рибосом) і блокаді синтезу РНК.

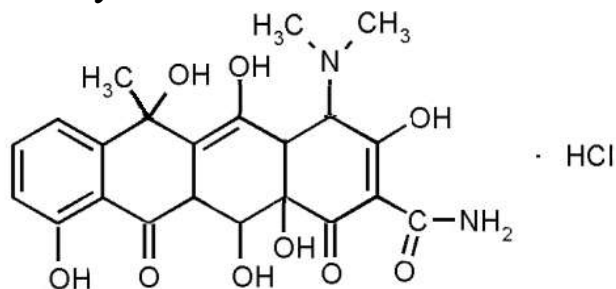


Рис. 2. Структурна формула окситетрацикліну гідрохлориду

Застосування. Дія на організм Після внутрішньом'язового введення окситетрациклін гідрохлорид швидко всмоктується в кров і проникає в органи і тканини. Максимальна концентрація антибіотика в крові досягається через 30 хвилин і утримується на терапевтичному рівні протягом 10-12 годин після введення.

Окситетрациклін є хіміотерапевтичним засобом широкого спектру дії. Його призначають при інфекційних захворюваннях, викликаних чутливою мікрофлорою: інфекції дихальних шляхів, інфекції сечостатевого органу, інфекції шкіри і м'яких тканин; для лікування диспепсії, дизентерії, пневмонії, ларинготрахеїту, респіраторного мікоплазмозу.

Метаболізм. Виводиться антибіотик з організму головним чином з сечею.

Принцип методу. Метод заснований на реакції окситетрацикліну з розчином Fe(III) в кислому середовищі з утворенням комплексної сполуки червоно-бурого кольору, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту антибіотику.

Реактиви та апаратура

1. Розчин окситетрацикліну з концентрацією 0,005 моль/л. Готували введенням в колбу на 100 мл 1,25 мл фармацевтичного препарату з концентрацією 200 мг/мл і доводили 0,01 М хлоридною кислотою до мітки.
2. Розчин 0,05 % FeCl_3 . Готують введенням в колбу на 1 л 0,83 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ і доводили 0,01 М хлоридною кислотою до мітки.
3. Спектрофотометр СФ-26.

Хід визначення

В ряд колб місткістю 25 мл вносять 0; 0,2; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10 мл розчину окситетрацикліну з концентрацією $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, який готують введенням в колбу на 50 мл 10 мл стандартного розчину окситетрацикліну з концентрацією $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л і доводять 0,01 М хлоридною кислотою до мітки, додають по 10 мл 0,05 % розчину FeCl_3

та доводять до мітки 0,01 М хлоридною кислотою. Витримують 20 хв для утворення комплексу (з'являється оранжево-коричнєве забарвлення).

Після цього визначають оптичну густину розчинів при $\lambda = 490$ нм в кюветі з $l = 5$ см відносно розчину порівняння та будують градувальний графік за методом найменших квадратів (за допомогою програми Microsoft Office Excel).

Контрольні питання

1. Спектр дії окситетрацикліну.
2. Застосування окситетрацикліну.
3. Через який час досягається максимальна концентрація антибіотику в крові?
4. Що таке молярний коефіцієнт світлопоглинання?
5. Як визначають молярний коефіцієнт світлопоглинання?

Лабораторна робота № 8 СОРБЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ОКСИТЕТРАЦИКЛІНУ

Принцип методу. Метод заснований на здатності окситетрацикліну адсорбуватися на поверхні сорбенту та подальшому спектрофотометричному визначенні з Fe(III) в кислому середовищі.

Реактиви та апаратура

1. Сорбент: диоксиметит.
2. Розчин окситетрацикліну з концентрацією 0,005 моль/л. Готували введенням в колбу на 100 мл 1,25 мл фармацевтичного препарату з концентрацією 200 мг/мл і доводили 0,01 М хлоридною кислотою до мітки.
3. Апарат для струшування АБУ–6с.
4. Іономір ЭВ -74.
5. Центрифуга ОПн-8УХЛ4.2.

Хід визначення

Сорбцію окситетрацикліну на диоксиметиті досліджують в статичних умовах. Для цього на аналітичних терезах в ряд сорбційних колб на 100 мл зважують 0,01 г сорбенту. Відбирають 5 мл стандартного розчину антибіотику з концентрацією $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, поміщають в хімічний стакан та додають 5 мл дистильованої води. Після цього встановлюють необхідне значення рН ($2 \div 8$) та кількісно переносять вміст в колбу для сорбції з сорбентом. Об'єм доводять до 50 мл розчином з відповідним рН. Колбу поміщають в апарат для струшування до встановлення сорбційної рівноваги протягом 30 хвилин.

Після закінчення сорбції сорбент відділяють від рівноважного розчину центрифугуванням при 3000 обертів за хвилину протягом 10 хвилин. Відбирають 10 мл надосадкової рідини в колбу на 25 мл та проводять спектрофотометричне визначення за описаною вище методикою. Отримавши значення оптичної густини за градувальним графіком, знаходять рівноважну концентрацію антибіотика.

Відсоток сорбції знаходять за формулою:

$$S, \% = \frac{C_{\text{вих}} - C_{\text{рівн}}}{C_{\text{вих}}} \cdot 100 \%$$

де $C_{\text{вих}}$ – концентрація антибіотика в сорбційному розчині, моль/л;

$C_{\text{рівн}}$ – концентрація антибіотика в рівноважному розчині, моль/л.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика окситетрацикліну.
2. Виведення окситетрацикліну з організму.
3. Що таке сорбція, адсорбент, адсорбат?
4. Що таке рН?
5. Які види електродів ви знаєте?

Лабораторна робота № 9

ДОСЛІДЖЕННЯ ОКСИТЕТРАЦИКЛІНУ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Принцип методу. Метод заснований на хроматографічному визначенні окситетрацикліну.

Реактиви та апаратура

1. Окситетрациклін, водні розчини з концентраціями 200 мг/мл; 50 мг/мл; 25 мг/мл і 10 мг/мл;
2. «Silufol» – пластини із закріпленим шаром силікагелю LS 5/40 для ТШХ;
3. н-Бутанол; метанол; лимонна кислота, 10 %-ний водний розчин;
4. Йод кристалічний;
5. Хроматографічні камери.

Хід визначення

На пластину «Silufol» на лінію старту порціями по 0,4 мкл наносять 2 мкл аналізованого розчину з проміжним просушуванням і поміщають пластину в камеру для хроматографування. На дно камери попередньо вносять 10 мл н-бутанолу, 7,5 мл метанолу та 5 мл 10 %-ного водного розчину лимонної кислоти. При досягненні фронтом розчинника висоти приблизно 10 см, пластину виймають з камери, підсушують і поміщають для проявлення в камеру з кристалічним йодом. Отримані значення R_f окситетрацикліну для даної хроматографічної системи повинні відповідати наведеним в довіднику і становити $R_f = 0,65$. Хроматографічні зони окситетрацикліну повинні бути чітко видні в діапазоні концентрацій від 200 мг/моль до 5 мг/мл. При цьому із зменшенням концентрації антибіотику інтенсивність відповідних зон зменшується.

Для хроматографічного аналізу відбирають зразки льоду з філе риби хеку, мінтаю і розової камбали. Водні розчини, отримані при плавленні льоду, аналізують в умовах, аналогічних зазначеним вище.

Контрольні питання

1. Що таке хроматографія?
2. Які види хроматографії ви знаєте?
3. Що таке R_f та як його розраховувати?
4. Чи залежить значення R_f від концентрації антибіотику?
5. Що таке лінія старту та лінія фронту?

Лабораторна робота № 10

РОЗДІЛЕННЯ ГАЛОГЕНІДІВ МЕТОДОМ ОДНОМІРНОЇ ВИСХІДНОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ В ТОНКОМУ ШАРІ

Хіміко-токсикологічна характеристика галогенідів

Галогеніди – це сполуки або йони, що містять атоми галогенів зі ступенем окиснення -1: флуориди, хлориди, броміди, йодиди, астатиди, тобто, це сполуки галогенів з менш електронегативними елементами. У сполуках з лужними та лужноземельними металами зв'язок йонний, з іншими елементами – ковалентний полярний.

Флуор є життєво необхідним для організму елементом. Основна роль в організмі – участь в кісткоутворенні і процесах формування дентину і зубної емалі, де присутній у складі фторапатита $\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$. Також флуор стимулює кровотворну систему та імунітет, бере участь у розвитку скелета, стимулює репаративні процеси при переломах кісток. Попереджає розвиток сенільного остеопорозу. Основні концентрації флуору в організмі людини: в зубах – 246- 560 мг / кг, в кістках – 200-490 мг / кг, в м'язах – 2-3 мг / кг.

Добова потреба дорослої людини становить 2-3 мг флуору. З продуктами харчування доросла людина одержує в середньому 0,8 мг флуору на добу. Найбільша кількість флуору з продуктів містить риба (тріска, сом), горіхи, печінка. Основна кількість флуору надходить в організм з водою. Звичайна питна вода містить 1 мг флуору на 1 л. Недостатня кількість флуору в організмі є одним з екзогенних

етіологічних факторів карієсу зубів, особливо в період їх прорізування і мінералізації. У районах з низьким вмістом флуору у воді проводиться флуорування води. Надмірне надходження флуору в організм проявляється виникненням флюорозу – зміни структури емалі і кісткової тканини, деформації кісток та інгібуванням багатьох ферментних систем. Флуор входить до складу ряду комплексів полівітамінів та зубних паст.

Хлор відноситься до найважливіших біогенних елементів і входить до складу всіх живих організмів у вигляді сполук.

У тварин і людини іони хлору разом з іонами натрію і калію беруть участь в створенні постійного осмотичного тиску і регуляції водно-сольового обміну. У шлунку іони хлору сприяють дії протеолітичних ферментів шлункового соку. Хлорні канали представлені в багатьох типах клітин, мітохондріальних мембранах і скелетних м'язах. Ці канали виконують важливі функції в регуляції об'єму рідини, трансепітеліальному транспорті іонів і стабілізації мембранних потенціалів, беруть участь у підтримці рН рідин організму. Хлор накопичується у вісцеральній тканині, шкірі і скелетних м'язах. Всмоктується хлор, в основному, в товстому кишечнику. В клітинах акумулюється 10-15 % всього хлору, а близько 85 % хлору знаходиться у позаклітинному просторі. Хлор виводиться з організму з сечею (90-95 %), калом (4-8 %) і через шкіру (до 2 %).

Мінімальна потреба людини в хлорі становить близько 800 мг на добу. В організмі людини (з масою тіла ~ 70 кг) міститься 95 г хлоридів. Щодня з їжею людина отримує 3-6 г хлоридів, що з надлишком покриває потребу в цьому елементі.

В організмі людини **бром** бере участь в регуляції діяльності щитовидної залози, тому що є конкурентним інгібітором йоду, та в діяльності клітин імунної системи. Недолік броду в їжі призводить до безсоння, уповільнення росту і зменшення числа еритроцитів крові. Щоденне надходження броду в організм людини з їжею становить 2-6 мг. Особливо багаті бродом риба, злаки і горіхи.

Йод відноситься до мікроелементів і присутній у всіх живих організмах.

У тварин і людини йод входить до складу тиреоїдних гормонів, що виробляються щитовидною залозою, тироксину і трийодтіроніну, які сприяють зростанню, розвитку і обміну речовин в організмі.

В організмі людини (масою тіла ~70 кг) міститься 12-20 мг йоду. Добова потреба людини в йоді визначається віком, фізіологічним станом і масою тіла. Середня добова доза йоду становить 0,15 мг.

Відсутність або недолік йоду в раціоні, що типове для деяких територій, призводить до таких тяжких захворювань як ендемічний зоб, кретинізм, гіпотиреоз. У зв'язку з цим до кухонної солі, яка надходить в продаж в районах з природним геохімічним дефіцитом йоду, з профілактичною метою додають йодид калію, йодид натрію або йодат калію (йодовану сіль). При невеликій нестачі йоду відзначаються втома, головний біль, пригнічений настрій, лінь, нервозність і дратівливість; слабшає пам'ять і знижується інтелект. Згодом з'являється аритмія, підвищується артеріальний тиск, знижується рівень гемоглобіну в крові.

Йод отруйний (смертельна доза 3 г). Викликає ураження нирок і серцево-судинної системи. При вдиханні парів йоду з'являються головний біль, кашель, нежить, може розвинутися набряк легенів. При попаданні на слизову оболонку очей з'являються сльозотеча, біль в очах і почервоніння. При попаданні всередину виникають загальна слабкість, головний біль, підвищення температури, блювота, пронос, бурий наліт на язиці, болі в серці і почастишання пульсу. Через день з'являється кров у сечі, через два дні – ниркова недостатність і міокардит. Без лікування настає летальний результат.

Астат є токсичним, за хімічними властивостями схожим з йодом. При попаданні в організм концентрується в печінці, і подібно до йоду, астат накопичується в щитовидній залозі. Альфа-випромінювання астату вражає прилеглі тканини, призводить до порушення їх функції і до утворення пухлин.

Принцип методу. В тонкошаровій хроматографії (ТШХ) нерухома тверда фаза представляє собою тонкий шар сорбенту, який нанесено на підкладку. Розділення обумовлено переносом компонентів рухомої фази уздовж нерухомої фази з неоднаковими швидкостями згідно з коефіцієнтами розподілу компонентів, які розділяють. Компоненти на пластинці утворюють окремі зони (плями). Для виявлення зон локалізації безбарвних сполук пластинки обробляють реагентами, які дають кольорові реакції з досліджуваними речовинами. Найбільш розповсюджений спосіб обробки – обприскування пластинки розчином реагенту з пульверизатора. Положення зон на хроматограмі характеризується величинами R_f .

Для ідентифікації сполук використовується *метод «свідків»*, коли крім досліджуваної суміші на стартову лінію наносять проби індивідуальних речовин. Якщо значення R_f досліджуваних речовин і «свідків» співпадають, то можна ототожнювати виявлену речовину з відомою.

Реактиви та апаратура

1. Ацетонітрил.
2. Бутанол-1.
3. Водний розчин амоніаку концентрований.
4. Розчин досліджуваної суміші галогенід-іонів.
5. Фторид натрію, 1 М.
6. Хлорид натрію, 1 М.
7. Бромід натрію, 1 М.
8. Йодид калію, 1 М.
9. Розчин бромкрезолу пурпурного 0,1 % в етанолі.
10. Пластинки «Silufol».
11. Мірний циліндр з притертою пробкою місткістю 50 мл.
12. Мікропіпетка місткістю 0,1 мл або спеціально виготовлені капіляри.
13. Камера для хроматографування.

Умови хроматографування

- Сорбент: силікагель, закріплений шар.
- Елюент: ацетон – бутанол-1 – амоніак – дистильована вода (32,5 : 10 : 5 : 2,5).
- Висхідне елюювання.
- Проявлення: 0,1 % розчином бромкрезолу пурпурного в етанолі з 1 краплею амоніаку.
- «Свідок»: 1 М розчини натрій фторид, натрій хлорид, натрій бромід, калій йодиду.

Порядок виконання роботи

Стартову лінію наносять простим олівцем на відстані 1,5-2 см від нижньої сторони пластини. На лінію старту наносять досліджувану суміш і розчини «свідків» по 0,005 мл, не менше як у 3-4 повтореннях (відстань між окремими пробами не менше 1 см). На відстані 10 см від лінії старту відмічають лінію фронту розчинника.

Проби наносять, легко дотикаючись піпеткою, щоб не порушити цілісність шару сорбенту. Необхідний об'єм проби наносять декілька разів в одну точку так, щоб пляма мала мінімальний розмір. Після того, як всі проби нанесені на сорбент, пластинку переносять в камеру для хроматографування.

Елюент поміщають в хроматографічну камеру за 30 хвилин до початку хроматографування. Рівень елюенту в камері повинен бути приблизно 0,5 см, при цьому нижче лінії старту на пластинці. Після того, як лінія фронту елюенту на хроматографічній пластині сягне 10 см, пластинку виймають з камери і залишають на повітрі для видалення елюенту.

Аніони в даній системі рухаються по пластинці у вигляді амонійних солей, а катіони лужних металів залишаються на старті. Для виявлення зон відповідних галогенідів хроматограму обприскують розчином бромкрезолового пурпурного. Обробку необхідно проводити достатньо дрібними краплями і можливо меншою кількістю

реагенту, щоб уникнути ушкодження шару сорбенту. Галогеніди амонію дають жовті плями на хроматограмі.

Для ідентифікації галогенідів визначають значення R_f , яке розраховують за формулою:

$$R_f = l / L ,$$

де l – відстань від лінії старту до центру зони речовини; L – відстань від лінії старту до лінії фронту.

Значення R_f галогенідів зменшуються в ряду: $F^- > Cl^- > Br^- > I^-$.

Контрольні питання

1. Що таке тонкошарова хроматографія?
2. Чим обумовлено розділення компонентів методом ТШХ?
3. Що таке метод свідків?
4. Як галогеніди впливають на організм?
5. Які ви знаєте методи обробки хроматограм?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Баюрка С. В., Бондар В. С. та ін. Лікарська та аналітична токсикологія. Модуль 1: метод. рек. до практ. занять для студ. спец. «Фармація». Х.: НФаУ, 2017. 106 с.
2. Ніженковська І. В., Вельчинська О. В., Кучер М. М. Токсикологічна хімія : підручник. К. : ВСВ "Медицина", 2020. 372 с.
3. Панасенко О. І., Буряк В. П., Бондар В. С., Каплаушенко А. Г., Парченко В. В. та ін. Токсикологічна хімія : навчальний посібник. Запоріжжя, 2014. 186 с.
4. Безуглий П. О., Грудько В. О., Леонова С. Г. та ін. Фармацевтичний аналіз: навч. посібник для студ. вищ. фармац. навч. закл. III – IV рівнів акредитації / за ред. П. О. Безуглого. Х. : Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2001. 240 с.
5. Болотов В. В. Аналітична хімія. Х. : Оригінал, 2004. 480 с.
6. Чеботарьов О. М., Щербакова Т. М., Гузенко О. М., Рахлицька О. М. Аналітична токсикологія : практикум для студентів ф-ту хімії та фармації. Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2019. 110 с.
7. Болотов В. В., Сич Ю. В., Свєчнікова О. М. та ін. Практикум з аналітичної хімії : навч. посібник для студ. вищ. навч. закл. / за заг. ред. В. В. Болотова. Х. : Вид-во НфаУ; Золоті сторінки, 2003. 240 с.
8. Зінчук В. К., Левицька Г. Д., Дубенська Л. О. Фізико-хімічні методи аналізу : навчальний посібник. Львів : Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2008. 362 с.
9. Антал І. П., Базель Я. Р., Кормош Ж. О. Методи розділення та концентрування речовин в аналізі : навч. посібник. Луцьк : Східноєвроп. нац. ун-т ім. Лесі Українки, 2015. 300 с.
10. Циганок Л. П., Бубель Т. О., Вишнікін А. Б., Вашкевич О. Ю. Аналітична хімія. Хімічні методи аналізу : навчальний посібник / за ред. проф. Л. П. Циганок. Дніпропетровськ : ДНУ ім. О. Гончара, 2014. 252 с.

Навчальне видання

Щербакова Тетяна Михайлівна
Гузенко Олена Михайлівна
Топоров Сергій Васильович
Мамій Вікторія Андріївна

ЛІКАРСЬКА ТА АНАЛІТИЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних робіт
для студентів IV курсу факультету хімії та фармації
другого (магістерського) рівня освіти
спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»

Електронне практичне видання

В авторській редакції

Затвердж. авт. 22.10.2022. Шрифт Times New Roman.
Обсяг 1,0 МБ. Зам. № 2547.

Видавець і виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua