

Министерство образования Республики Беларусь
Полесский государственный университет

Т. Л. ЛЕБЕДЬ, Е. И. ПРИЛОВСКАЯ

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Лабораторный практикум для выполнения лабораторных работ
для студентов специальности
1-31 01 02 Биохимия, 6-05-0511-02 Биохимия

Пинск
ПолесГУ
2023

УДК 543.5(076.5)
ББК 24.46я73
Л33

Р е ц е н з е н т ы :

доктор медицинских наук, профессор Н. Г. Кручинский;
кандидат биологических наук В. Т. Чещевик

У т в е р ж д е н о

научно-методическим советом ПолесГУ

Лебедь, Т. Л.

Л33 **Физико-химические методы анализа : лабораторный практикум для выполнения лабораторных работ / Т. Л. Лебедь, Е. И. Приловская. – Пинск : ПолесГУ, 2023. – 38 с.**

ISBN 978-985-516-786-1

Лабораторный практикум содержит практический материал и лабораторные работы, контрольные вопросы и задания, способствующие более глубокому изучению дисциплины «Физико-химические методы анализа».

Включает разделы «Электрохимические методы анализа», «Спектроскопические методы анализа» и «Хроматографические методы анализа». Практикум предназначен для студентов дневной формы обучения.

УДК 543.5(076.5)
ББК 24.46я73

ISBN 978-985-516-786-1

© УО «Полесский государственный университет», 2023.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА»	6
Выполнение лабораторных работ	6
Ведение рабочего журнала и составление отчета	6
РАЗДЕЛ I. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	9
Лабораторная работа № 1. Раздельное определение компонентов в бинарных фосфатных смесях	9
Лабораторная работа № 2. Потенциометрическое титрование	13
РАЗДЕЛ II. СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	18
Лабораторная работа № 3. Методика количественного определения фотосинтетических пигментов	18
РАЗДЕЛ III. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	24
Лабораторная работа № 4. Качественное определение содержания антител против SARS-CoV-2 в крови методом иммунохроматографии коллоидного золота	31
ЛИТЕРАТУРА	36
Основная литература	36
Дополнительная литература	37

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время вопросам теории и практики физико-химических и физических методов анализа уделяется большое внимание. Это обусловлено широким внедрением инструментальных методов в практику научных и производственных лабораторий, а также необходимостью повышения экспрессности анализа и решения задачи автоматизации при проведении серийных анализов.

В современных условиях развития промышленности, техники и научных исследований происходит постепенное и непрерывное вытеснение классических химических методов анализа инструментальными методами, основанными на физических, физико-химических и биологических явлениях.

Данное учебно-методическое пособие содержит информацию по каждой теме в соответствии с учебными программами по дисциплинам: «Физико-химические методы анализа», «Физическая и коллоидная химия» и указывает актуальность и практическое значение изучаемого материала.

Раздел «Электрохимические методы анализа» включает в себя совокупность методов качественного и количественного анализа, основанных на электрохимических явлениях, происходящих в исследуемой среде или на границе раздела фаз, и связанных с изменением структуры, химического состава или концентрации анализируемого вещества.

Кроме того, данный раздел дает представление об аналитическом сигнале (его получение и измерение), приемах определения неизвестной концентрации компонента в инструментальных методах анализа (методы градуировочного графика, стандартов (сравнения), добавок; инструментальное титрование).

В разделе «Спектроскопические методы анализа» в ходе выполнения лабораторной работы студенты детально изучат процесс взаимодействия между веществом и электромагнитным излучением в зависимости от длины волны или частоты излучения. В первую очередь в электромагнитном спектре

спектроскопия является фундаментальным инструментом исследования в области физики, химии и астрономии, позволяя изучать состав, физическую структуру и электронную структуру материи в макро-, атомном и молекулярном масштабе, а также на астрономических расстояниях. Важные приложения биомедицинской спектроскопии возникают в области анализа тканей и медицинской визуализации.

Раздел «Хроматографические методы анализа» позволит студентам выработать практические навыки применения хроматографии для анализа сложных многокомпонентных смесей. В ходе проведения лабораторных занятий студенты освоят способы проведения хроматографического анализа, приемы количественных определений: методы нормировки, метод внутреннего стандарта, метод внешнего стандарта. Раздел нашел широкое применение в фармацевтике, медицине, химическом производстве.

Лабораторные работы практикума представлены подробным теоретическим материалом, а также четкими методическими указаниями к выполнению работ. В конце каждой работы даны вопросы для самоконтроля. Использование рекомендуемой литературы будет способствовать углублению полученных теоретических и практических знаний.

Настоящий лабораторный практикум позволит студентам не только правильно выбрать соответствующий физико-химический метод в зависимости от структуры вещества и поставленной задачи, но и применить приобретенные практические знания для решения конкретных задач при прохождении учебных практик и спецпрактикумов, при выполнении курсовых и дипломных работ, а также в дальнейшей профессиональной деятельности.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА»

Выполнение лабораторных работ

Организация лабораторных занятий по физико-химическим методам анализа обеспечивает максимальную индивидуализацию выполнения работ и оптимальную плотность размещения приборов в лаборатории. Для выполнения лабораторного практикума студенты учебной подгруппы распределяются по небольшим группам-бригадам из двух человек. Работа организована по маршрутному способу. Каждая бригада выполняет отдельные лабораторные работы по составленному преподавателем графику (маршруту), переходя от одного рабочего места (прибора, установки) к другому. Во многих лабораторных работах предусмотрена многовариантность способов выполнения и объектов анализа. Конкретный вариант работы и объект анализа указываются преподавателем до начала работы. Маршрутное выполнение лабораторного практикума позволяет оборудовать лабораторию различными одиночными приборами, в том числе современными и дорогостоящими, однако работа с ними и освоение новых методов анализа не могут проходить синхронно с лекционным курсом и требуют усиленной самостоятельной подготовки. Поэтому перед выполнением очередной лабораторной работы каждая бригада сдает допуск в виде собеседования с преподавателем.

Ведение рабочего журнала и составление отчета

Важнейшим элементом лабораторного практикума является ведение рабочего журнала и составление отчета о выполненной работе. Несмотря на бригадный характер выполнения лабораторных работ, ведение рабочего журнала должно проходить строго индивидуально. Отчет оформляется самостоятельно во внеаудиторное учебное время, после чего сдается преподавателю для индивидуальной защиты.

План написания отчета:

- 1) дата выполнения, название и цель работы;
- 2) сущность работы, химические реакции;
- 3) ход выполнения работы (кратко);
- 4) экспериментальные данные (очень подробно, с соблюдением всех правил записи результатов измерений и указанием единиц измерения);
- 5) графики на миллиметровой бумаге или в компьютерном исполнении (если используется графический способ нахождения неизвестной концентрации);
- 6) расчет результатов анализа (подробно, с объяснениями), в том числе с применением методов математической обработки данных;
- 7) оценка погрешности определения (после проверки результата у преподавателя).

При ведении рабочего журнала следует уделять особое внимание точности измерений и записи их результатов (см. **Таблицу 1**).

Таблица 1 – Точность измерения величин и правила записи результатов измерений

Измеряемая величина	Средство измерения	Пример записи	Точность измерения
V (мл), при использовании точной мерной посуды	Пипетка, бюретка	25,00 мл 12,45 мл	$\pm 0,05$ мл
	Мерная колба	100,0 мл	$\pm 0,1$ мл
V (мл), при использовании мерной посуды с ориентировочными делениями	Мерный стакан, мерный цилиндр, мензурка	15 мл 3 мл	± 1 мл
m (г)	Весы с цифровым табло	С точностью, соответствующей минимально возможной дискретности показаний табло	
Другие аналитические сигналы: χ (мСм/см, мкСм/см); E (мВ); рН; I (мА, мкА); A ; $A_{\text{каж}}$; n^{20} D	Приборы стрелочного типа	С точностью, не превышающей $\frac{1}{2}$ цены деления на конкретном участке шкалы	
	Приборы с цифровым табло	С точностью, соответствующей минимально возможной дискретности показаний табло	

При проведении расчетов необходимо также соблюдать определенные правила, связанные с точностью расчета величин (см. **Таблицу 2**).

Таблица 2 – Точность расчета величин

Рассчитываемая величина	Точность расчета	Пример записи
m (г)	$\pm 0,0001$ г	0,1200 г
V (мл)	$\pm 0,01$ мл	12,35 мл
ω (%)	$\pm 0,01$ %	8,65 %
ω (доли ед.)	$\pm 0,0001$	0,0865
Атомная масса, молярная масса (г/моль)	С точностью, указанной в таблице Д. И. Менделеева, или по справочнику	126,033 г/моль
C (моль/л)	Четыре значащие цифры	0,1025 М
ρ^* (г/л)		0,09168 г/л
$T, T(A/B)$ (г/мл)		0,005286 г/мл
n (моль, ммоль)		6,728 ммоль
Другие величины	Должна соответствовать точности наименее точной величины, взятой для расчета	

По желанию студента можно вести «Электронный рабочий журнал по ФХМА» с распечаткой отчетов для проверки преподавателем.

РАЗДЕЛ I. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Лабораторная работа № 1. Раздельное определение компонентов в бинарных фосфатных смесях

Цель работы: определить массу (г) двух компонентов в выданной для анализа пробе, используя метод кислотно-основного потенциометрического титрования (рН-метрического титрования):

- *Проба А* – смесь H_3PO_4 и NaH_2PO_4 ;
- *Проба Б* – смесь H_3PO_4 и H_2SO_4 .

Сущность работы

Потенциометрическая индикация конечной точки титрования (к. т. т.) позволяет дифференцированно титровать смеси кислот с погрешностью до 0,1 %, если $K_{a,1} / K_{a,2} \geq 10^4$, при этом константа диссоциации слабой кислоты должна быть не ниже 10^{-8} ($\text{p}K_a < 8$).

Кислотно-основное титрование выполняют с использованием рН-метра или иономера, а также в автоматическом режиме на автотитраторах.

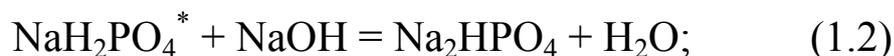
В качестве индикаторного электрода применяют стеклянный электрод, а в качестве электрода сравнения – хлоридсеребряный. В современных моделях иономеров эти электроды объединены в один комбинированный электрод (датчик).

Проба А. Смесь H_3PO_4 и NaH_2PO_4

При титровании смеси H_3PO_4 и NaH_2PO_4 щелочью на кривой титрования наблюдается два скачка. Первый из них отвечает оттитровыванию H_3PO_4 по первой ступени:



Второй скачок соответствует оттитровыванию H_3PO_4 по второй ступени и соли NaH_2PO_4 , которая содержалась в анализируемой пробе:



Проба Б. Смесь H_3PO_4 и H_2SO_4

При титровании смеси кислот H_2SO_4 и H_3PO_4 щелочью на кривой титрования наблюдается два скачка. Первый из них отвечает оттитровыванию всей H_2SO_4 , а также H_3PO_4 по первой ступени:



Второй скачок соответствует оттитровыванию H_3PO_4 по второй ступени:



Оборудование, посуда, реактивы: рН-метр или иономер (можно с блоком автоматического титрования БАТ); индикаторный электрод – стеклянный; электрод сравнения – хлоридсеребряный (или один комбинированный электрод); магнитная мешалка со стержнем; 0,1 М стандартный раствор NaOH или KOH; бюретка; стакан для титрования вместимостью 150 мл.

Выполнение работы

Получают анализируемый раствор в стакан для титрования и разбавляют водой до погружения электродов. Включают магнитную мешалку. Затем проводят титрование, добавляя щелочь по 0,2–0,5 мл и фиксируя значение рН после добавления каждой порции титранта. Титрование прекращают после второго скачка, когда значение рН раствора практически не меняется.

Строят интегральные ($\text{pH} - V$, мл) и дифференциальные ($\Delta\text{pH}/\Delta V - V$, мл) кривые титрования. По ним определяют объемы титранта, необходимые для достижения первой и второй к. т. т. Используя полученные значения, находят массу (г) каждого компонента в выданной для анализа пробе. При *титровании с использованием БАТа* предварительно рассчитывают значения pH раствора в первой и второй точках эквивалентности с целью задания их для автоматического титрования.

Поскольку в первой точке эквивалентности в растворе в обоих случаях присутствует амфолит NaH_2PO_4 , то расчет pH ведут по формуле:

$$\text{pH} = \frac{\text{p}K_{a,1} + \text{p}K_{a,2}}{2}. \quad (1.7)$$

Во второй точке эквивалентности в растворе в обоих случаях присутствует амфолит Na_2HPO_4 . После завершения автоматического титрования проводят расчет массы каждого компонента по закону эквивалентов, используя значения объемов титранта V_1 и V_2 . При этом необходимо предварительно определить объемы титранта, которые израсходованы на каждую из протекающих реакций по отдельности:

- *Проба А* – на титрование H_3PO_4 по первой ступени (*реакция 1.1*) затрачен объем щелочи V_1 , следовательно, на титрование H_3PO_4 по второй ступени (*реакция 2.2*) затрачен точно такой же объем щелочи V_1 . Тогда на титрование соли NaH_2PO_4 , которая содержалась в анализируемой пробе (*реакция 1.3*), затрачено $(V_2 - 2V_1)$ мл щелочи.
- *Проба Б* – на титрование H_3PO_4 по второй ступени (*реакция 1.6*) затрачен объем щелочи $\Delta V = V_2 - V_1$, следовательно, на титрование H_3PO_4 по первой ступени (*реакция 1.5*) затрачен точно такой же объем щелочи ΔV_1 . Тогда на титрование соли H_2SO_4 , (*реакция 1.4*) затрачено $(V_1 - \Delta V)$ мл щелочи.

Вопросы к защите лабораторной работы

1. Понятие и классификация электрохимических методов анализа.
2. Электрохимическая ячейка, индикаторные электроды и электроды сравнения, требования к ним в потенциометрии.
3. Методы и приборы для измерения потенциала в потенциометрии.
4. Прямая потенциометрия (ионометрия). Ионоселективные электроды.
5. Потенциометрическое титрование. Графические способы определения конечной точки титрования.
6. Неводное потенциометрическое титрование.

Лабораторная работа № 2. Потенциометрическое титрование

Потенциометрическое титрование – способ определения концентрации определяемого компонента в растворе путем наблюдения за изменением потенциала индикаторного электрода, находящегося в равновесии с определяемым ионом.

Анализируемый раствор титруют, измеряя в процессе титрования потенциал электрода, который изменяется с изменением доли прореагировавших веществ, причем наиболее заметно в точке эквивалентности.

При потенциометрическом титровании могут быть использованы все типы химических реакций: кислотно-основные, окислительно-восстановительные, осаждения и комплексообразования, которые должны удовлетворять следующим требованиям:

- титруемое вещество и титрант должны реагировать между собой в стехиометрическом соотношении;
- должен применяться доступный индикаторный электрод;
- реакция должна протекать количественно (константа равновесия должна быть большой);
- равновесие между реагирующими компонентами и индикаторным электродом должно устанавливаться быстро.

В потенциометрическом титровании в качестве индикатора используют электроды потенциометра, опущенные в титруемый раствор. При этом применяют электроды, чувствительные к титруемым ионам. В процессе титрования изменяется концентрация ионов, что регистрируется на шкале измерительного прибора потенциометра.

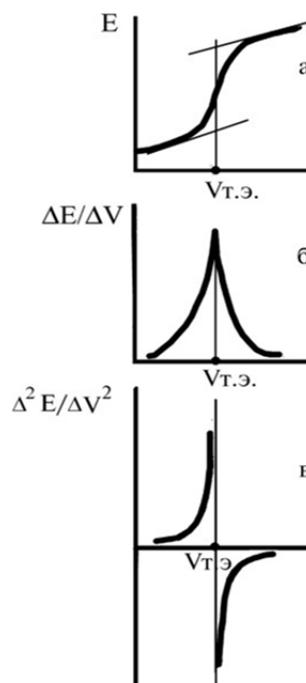
Записав показания потенциометра в единицах рН или мВ, строят график их зависимости от объема титранта (кривую титрования), определяют точку эквивалентности и объем титранта, израсходованный на титрование.

Точку эквивалентности определяют:

а) строя зависимость изменения потенциала от объема прибавленного титранта (интегральную кривую титрования) и находя среднюю точку участка, соответствующую вертикальному подъему кривой (**Рис. 1**, кривая **а**);

б) рассчитывая изменение потенциала на единицу изменения объема ($\Delta E/\Delta V$), т. е. строя кривую титрования в дифференциальной форме в координатах $\Delta E/\Delta V - V$. Максимум на такой кривой соответствует точке эквивалентности (**Рис. 1**, кривая **б**);

в) определяя точку, когда вторая производная потенциала по объему ($\Delta^2 E/\Delta V^2$) будет равна нулю (**Рис. 1**, кривая **в**), – более точный способ определения точки эквивалентности.



**Рис. 1 –
Зависимость
потенциала
от объёма**

Потенциометрическое кислотно-основное титрование

Кривые потенциометрического кислотно-основного титрования показывают изменение рН раствора в ходе титрования. Форма кривой титрования, положение точки эквивалентности, величина скачка потенциала (рН) на кривой титрования зависят от силы кислоты и основания, состава раствора.

Потенциометрическое титрование удобно для определения очень слабых кислот и оснований, когда применение цветных индикаторов, меняющих окраску в интервале двух единиц рН, приводят к значительным ошибкам, а также для определения смесей слабых кислот (оснований) или многоосновных кислот, если соответствующие константы диссоциации компонентов отличаются друг от друга по меньшей мере на четыре порядка.

Точное определение сильной кислоты в смеси сильной и слабой кислот возможно, если K_a слабой кислоты меньше или равна 10^{-5} . В качестве индикаторного электрода применяют любой электрод, потенциал которого является функцией

концентрации ионов водорода: водородный, хингидронный, сурьмяной, стеклянный. Чаще всего в кислотно-основном титровании в качестве индикаторного электрода используют стеклянный электрод, представляющий собой тонкостенный шарик из специального стекла. Внутри шарика находится 0,1 моль/л раствор HCl и серебряная проволока, покрытая хлоридом серебра (хлоридсеребряный электрод), посредством которой электрод присоединяется к измерительному прибору. Стеклянный электрод, в паре с электродом сравнения (хлоридсеребряным электродом) погруженные в анализируемый раствор, образуют электрохимическую ячейку.

Величина ЭДС в такой ячейке зависит от активности ионов водорода в растворе:

$$E = K - 0,059 \cdot \lg_a(\text{H}_3\text{O}^+) = K + 0,059 \cdot \text{pH},$$

где K – постоянная, связанная с неоднородностью стеклянной мембраны.

Стеклянные электроды хранят в воде или в растворе KCl. Высыхание нарушает стабильную работу электрода и требует предварительного длительного замачивания.

Задание

Определение содержания хлороводородной и уксусной кислот в растворе при их совместном присутствии. Определение проводят методом потенциометрического кислотно-основного титрования, титрант – стандартный раствор гидроксида натрия.

При титровании смеси сильной хлороводородной и слабой уксусной ($\text{p}K_a = 4,75$) кислот на кривой титрования наблюдается два скачка титрования. Вначале титруется хлороводородная, затем уксусная кислота. Однако дифференцированное титрование смеси хлороводородной и уксусной кислот в водном растворе невозможно провести с достаточной точностью из-за отсутствия заметного скачка потенциала в первой т.э., отвечающей оттитровыванию хлороводородной кислоты.

Поэтому титруют аликвотные порции анализируемого раствора в водной и водно-ацетоновой средах: при титровании в водном растворе находят объем стандартного раствора щелочи, эквивалентной суммарному содержанию кислот, $V(\text{NaOH})$; при титровании в водно-ацетоновой среде определяют объем раствора щелочи, пошедшей на реакцию с хлороводородной кислотой $V_1(\text{NaOH})$.

Раздельное титрование раствора HCl становится возможным вследствие уменьшения степени диссоциации уксусной кислоты в присутствии ацетона.

Расчет массы HCl и CH_3COOH в анализируемом растворе проводят по формулам:

$$m(\text{HCl}) = \frac{V_1(\text{NaOH}) \cdot 10^{-3} \cdot C(\text{NaOH}) \cdot M(\text{HCl})}{V_{\text{мп.}}(\text{HCl} + \text{CH}_3\text{COOH}) \cdot 10^{-3}} \cdot V_{\text{к}},$$

$$m(\text{CH}_3\text{COOH}) = \frac{[V(\text{NaOH}) - V_1(\text{NaOH})] \cdot 10^{-3} \cdot C(\text{NaOH}) \cdot M(\text{CH}_3\text{COOH})}{V_{\text{мп.}}(\text{HCl} + \text{CH}_3\text{COOH}) \cdot 10^{-3}} \cdot V_{\text{к}},$$

где $V_{\text{мп.}}(\text{HCl} + \text{CH}_3\text{COOH})$ – аликвота, равная вместимости пипетки, мл;

$V_{\text{к}}$ – вместимость мерной колбы, л.

Выполнение работы

1. Получите у лаборанта мерную колбу со смесью хлороводородной и уксусной кислот, доведите до метки дистиллированной водой и хорошо перемешайте.
2. Потенциометрическое титрование в водной среде.

Заполните бюретку стандартным раствором NaOH . В стакан для титрования отберите пипеткой аликвотную часть испытуемого раствора, добавьте 20–30 мл дистиллированной воды. Погрузите в стакан электроды (индикаторный – стеклянный, электрод сравнения – хлоридсеребряный), включите магнитную мешалку и приступите к титрованию. Вначале проведите ориентировочное титрование, приливая по 0,5 мл титранта и измеряя рН раствора.

Результаты титрования занесите в **Таблицу 3**.

Таблица 3 – Результаты ориентировочного титрования в водной среде

$$V(\text{HCl} + \text{CH}_3\text{COOH}) =$$

Объем NaOH, мл	pH (или E, мВ)

При этом надо обнаружить два скачка потенциала или pH: первый небольшой и второй – основной. Первый скачок на кривой потенциометрического титрования смеси кислот соответствует нейтрализации HCl, второй скачок – нейтрализации CH₃COOH. Отсутствие заметного первого скачка потенциала не позволяет установить точный расход раствора щелочи на титрование хлороводородной кислоты.

При *повторном (точном) титровании* в водной среде определяют вторую т.э., стандартный раствор щелочи вблизи второго скачка титрования приливайте по 0,5 мл.

Результаты титрования занесите в **Таблицу 4:**

Таблица 4 – Результаты точного титрования в водной среде

$$V(\text{HCl} + \text{CH}_3\text{COOH}) =$$

Объем NaOH, мл	pH (или E, мВ)

Постройте график зависимости $\Delta\text{pH}/\Delta V$ от $V(\text{NaOH})$ и по положению максимумов определите положение первой и второй точек эквивалентности и объемы титранта в первой т.э. (V_1) и второй т.э. (V).

Вычислите содержание HCl и CH₃COOH (в г) в анализируемом растворе.

РАЗДЕЛ II. СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Лабораторная работа № 3. Методика количественного определения фотосинтетических пигментов

Цель работы: определить количественное содержание пигментов в листьях разных растений спектрофотометрическим методом.

Материалы и оборудование: спектрофотометр, ступки с пестиком, мерный цилиндр, пипетки или автоматические пипетдозаторы, воронка со стеклянным пористым фильтром, колба Бунзена с насосом, центрифуга с эпендорфами.

Реактивы: ацетон 100%-ный, спирт 96%-ный, CaCO_3 или MgCO_3 , кварцевый песок или битое стекло.

Теоретическое обоснование лабораторной работы

К основным группам пигментов растительного происхождения, принимающих непосредственное участие в фотосинтезе, относятся:

- хлорофиллы;
- каротиноиды;
- фикобилины.

В настоящее время любая работа в области фотосинтеза требует более или менее детальной характеристики пигментных систем. Это необходимо не только при проведении специальных исследований метаболизма пигментов и изучении влияний условий роста, питания и интенсивности света на развитие и фотосинтетическую продуктивность растений.

Оценка содержания фотосинтетических пигментов важна также в работах, связанных с изучением механизма фотосинтеза, где все расчеты активности исследуемых реакций (выделение кислорода, скорость электронного транспорта, синтез АТФ, фиксация углекислого газа и др.) ведут на единицу хло-

рофилла. Характеристика пигментных систем включает количественную оценку содержания в ткани хлорофиллов *a* и *b*, их суммы ($a + b$), отношения (a / b), содержания каротина (*кр*), ксантофиллов (*кс*), суммы всех каротиноидов ($кр + кс$), отношение зеленых пигментов к желтым $(a + b) / (кр + кс)$.

Для количественной оценки содержания пигментов в настоящее время используют спектрофотометрический метод, который основан на регистрации характерных спектров поглощения отдельных групп пигментов. Он позволяет получить данные о содержании хлорофиллов *a* и *b* без предварительного выделения их из суммарной вытяжки пигментов.

Возможно также определение каротиноидов в суммарной вытяжке пигментов. Однако для точного количественного метода определения каротиноидов необходимо предварительное отделение их от хлорофиллов, т. к. максимумы поглощения этих двух групп пигментов значительно перекрываются в сине-фиолетовой области спектра. Для разделения пигментов используют ряд методов хроматографии.

Сочетание спектрофотометрического метода определения пигментов с хроматографией позволяет получить полную качественную и количественную оценку пигментных систем хлоропластов.

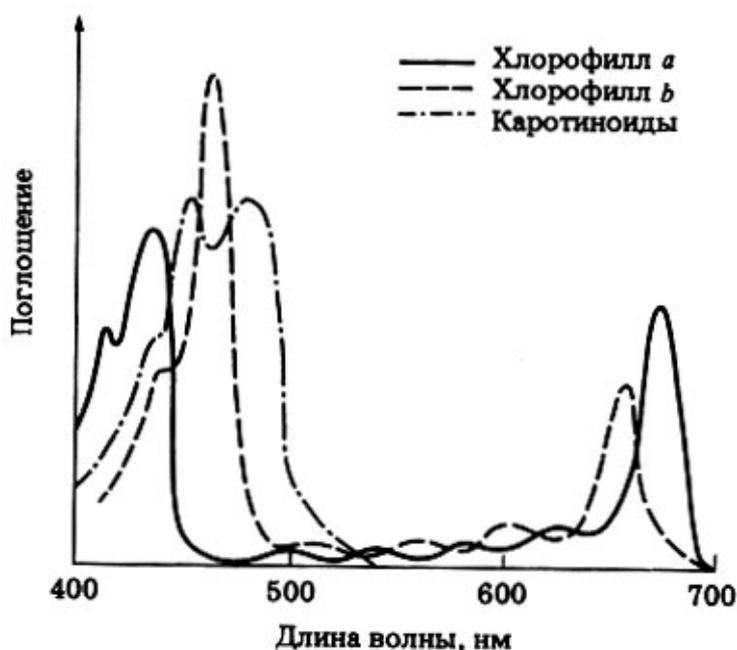


Рис. 2 – Зависимость длины волны от поглощения

Важнейшим условием количественного определения пигментов является полное экстрагирование их из растительной ткани. Пигменты могут быть экстрагированы из свежего или фиксированного материала. При выборе экстрагирующих веществ необходимо учитывать растворимость пигментов и возможность их выделения данным растворителем из пигментно-липопротеидного комплекса, в виде которого пигменты находятся в пластидах. В качестве экстрагирующих веществ могут быть использованы полярные (ацетон, спирт) и неполярные (петролейный эфир, гексан, бензин) органические растворители, однако полное извлечение пигментов из растительного материала достигается только при использовании полярных органических растворителей.

Полярные органические растворители, вызывая денатурацию белка и нарушая связи пигментов с липопротеидным комплексом, обеспечивают быструю экстракцию всех пигментов. Но все же из сухого материала абсолютный спирт пигменты не экстрагирует, т. к. для гидролиза связей с белком необходимо присутствие воды. При работе с сухим материалом используют 80%-ный ацетон или 90%-ный спирт.

Чистые неполярные растворители не нарушают связи пигментов с белком. Поэтому бензин, петролейный эфир и другие неполярные растворители экстрагируют, в нормальных условиях – только каротин, часть ксантофиллов и очень небольшое количество (1–5 %) хлорофиллов. Для полной экстракции пигментов неполярными растворителями необходима примесь полярного растворителя (например, 2–3 % этанола в петролейном эфире). Для выделения пигментов используют 80–84%-ный ацетон или 90%-ный спирт. Экстракцию проводят как можно быстрее. Пигменты экстрагируют последовательно несколькими порциями чистого растворителя, пропуская каждый раз раствор пигментов через стеклянный фильтр.

При растирании растительного материала с растворителем необходимо добавлять небольшое количество CaCO_3 , MgCO_3 или 1 М раствора NH_4OH для предотвращения феофитинизации пигментов. Всю подготовительную работу с пигментами ведут в затемненном помещении, на холоде.

Выполнение работы

Навеску измельченного растительного материала (0,2–0,3 г) поместить в фарфоровую ступку, куда добавить немного мела с целью нейтрализации кислот клеточного сока и предотвращения феофитинизации и кварцевого песка/битого стекла для облегчения растирания. Высушенный материал перед экстракцией увлажняется в ступке каплей воды.

Материал быстро растереть с небольшим количеством 3–4 мл ацетона или этилового спирта. Экстракт слить в воронку со стеклянным пористым фильтром, соединенную с колбой Бунзена и насосом. К растертой массе снова прилить 4–5 мл ацетона или спирта и вновь произвести растирание. Такой прием повторить 3–4 раза – до тех пор, пока растворитель, стекающий с кончика фильтра, станет бесцветным, а ступка чистой от пигментов.

Вытяжка содержит смесь пигментов: зеленых (хлорофиллов *a* и *b*) и желтых – каротиноидов (каротинов, ксантофилов).

Спектрофотометрическое определение концентрации пигментов в общем экстракте

Определение концентрации пигментов без их разделения производится на спектрофотометре при длинах волн для ацетона – 662, 644, 440 нм, для спирта – 665, 649, 440 нм. Мутность раствора измеряется при 720 нм. Показатели спектрофотометра при 720 нм вычитаются из показателей при других длинах волн.

Концентрация пигментов (*C*) в мг/л вычисляется по формулам:

Для ацетона 100%-го (D. Wettstein, 1957):

$$C_a = 9,784 * E_{662} - 0,990 * E_{644};$$

$$C_b = 21,426 * E_{644} - 4,650 * E_{662};$$

$$C_{a+b} = 5,134 * E_{662} + 20,436 * E_{644};$$

$$C_k = 4,695 * E_{440} - 0,268 * C_{a+b}.$$

Для спирта 96%-ного, (I. F. Wintermans, A. De Mots, 1965):

$$C_a = 13,7 * E_{665} - 5,76 * E_{649};$$

$$C_b = 25,3 * E_{649} - 7,60 * E_{665};$$

$$C_{a+b} = 6,10 * E_{665} + 20,04 * E_{649};$$

$$C_k = 4,695 * E_{440} - 0,268 * C_{a+b},$$

где C_a – концентрация хлорофилла *a* в мг/л;
 C_b – концентрация хлорофилла *b* в мг/л;
 C_k – концентрация каротиноидов в мг/л;
 E – найденное для исследуемого раствора поглощение (при толщине слоя 1 см), отсчитываемое по шкале спектрофотометра и указываемое в длинах волн или оптическая плотность раствора при определенной длине волны.

Расчет количества пигментов:

$$A = C \times V / 1000 \times a,$$

где A – количество пигментов в мг/г сырой массы;
 C – концентрация пигментов в мг/л;
 V – объём вытяжки в мл;
 a – масса навески в г.

Сделать выводы о количественном содержании разных групп пигментов в листьях разных растений.

Вопросы к защите лабораторной работы

1. Понятие и классификация спектроскопических методов анализа в зависимости от спектрального диапазона, оптические методы анализа.
2. Молекулярно-абсорбционный анализ. Сущность метода, его виды, аналитические возможности.

3. Визуальная фотометрия.
4. Фотометрия и спектрофотометрия: принципиальная схема и общий принцип работы приборов, основные узлы приборов. Основные этапы фотометрического определения, выбор условий (длина волны, толщина поглощающего слоя, оптимальный интервал значений светопоглощения).
5. Какие спектры поглощения имеет хлорофилла *a*?
6. Какие спектры поглощения имеет хлорофилла *b*?
7. Какие спектры поглощения имеют каротиноиды?
8. Опишите порядок расчета количественного содержания пигментов.

РАЗДЕЛ III.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Хроматография – важнейший аналитический метод.

Хроматографическими методами можно определять газообразные, жидкие и твердые вещества с молекулярной массой от единиц до 10^6 . Это могут быть неорганические вещества (например, ионы металлов, изотопы водорода) и органические (белки, синтетические полимеры и т. д.). С помощью хроматографии получена обширная информация о строении и свойствах органических соединений многих классов.

Хроматографию с успехом применяют в исследовательских и клинических целях в различных областях биохимии и медицины, в фармацевтике, криминалистике, пищевой промышленности, для мониторинга окружающей среды. Универсальность, экспрессность, чувствительность метода обуславливают частое использование хроматографии в аналитических целях.

В основе любого метода хроматографии – распределение анализируемого вещества между двумя несмешивающимися фазами, которое описывается *коэффициентом распределения* (K_d). Для двух фаз, А и В, коэффициент распределения при заданной температуре является величиной постоянной и выражается уравнением:

$$\frac{\text{концентрация в фазе А}}{\text{концентрация в фазе В}} = K_d.$$

Под *эффективным коэффициентом распределения* понимают общее количество (а не концентрацию) анализируемого вещества в одной фазе по его количеству в другой фазе. Этот параметр равен произведению коэффициента распределения на отношение объёмов двух фаз. Если коэффициент распределения вещества между фазами А и В равен 1 и если это вещество распределено между 10 см^3 фазы А и 1 см^3 фазы В, его концентрация в обеих фазах одинакова, но общее содержание в фазе А в 10 раз превосходит его содержание в фазе В.

В любой хроматографической системе есть *неподвижная (стационарная)* фаза (это может быть твёрдый носитель, гель, жидкость или смесь твёрдого вещества и жидкости) и *подвижная* фаза, которая может быть жидкая или газообразная и проникает сквозь неподвижную фазу после нанесения на неё разделяемой смеси. В ходе хроматографии вещества контактируют с обеими фазами, различия в коэффициентах распределения веществ приводят к их разделению.

В основу классификации многочисленных хроматографических методов положены следующие признаки:

- 1) агрегатное состояние фаз;
- 2) механизм взаимодействия *сорбент – сорбат*;
- 3) способы проведения хроматографического анализа;
- 4) аппаратное оформление (техника выполнения) процесса хроматографирования;
- 5) цель хроматографирования.

По *агрегатному состоянию фаз* хроматографию разделяют на газовую и жидкостную. Газовая хроматография включает газожидкостную и газотвердофазную, жидкостная – жидкостно-жидкостную и жидкостно-твердофазную. Первое слово в названии метода характеризует агрегатное состояние подвижной фазы, второе – неподвижной. По *механизму взаимодействия сорбента и сорбата* можно выделить несколько видов хроматографии: адсорбционная основана на различии в адсорбируемости веществ твердым сорбентом; распределительная основана на различной растворимости разделяемых веществ в неподвижной фазе (газожидкостная хроматография) или на различной растворимости веществ в подвижной и неподвижной фазах (жидкостная хроматография); ионообменная хроматография – на разной способности веществ к ионному обмену; эксклюзионная хроматография – на различии в размерах и формах молекул разделяемых веществ; аффинная хроматография – на специфических взаимодействиях, характерных для некоторых биологических и биохимических процессов (например, антитело и антиген, гормон и рецептор и др.). Существует осадочная хромато-

графия, основанная на образовании отличающихся по растворимости осадков разделяемых веществ с сорбентом, адсорбционно-комплексобразовательная, основанная на образовании координационных соединений разной устойчивости в фазе или на поверхности сорбента, и др.

Следует помнить, что классификация по механизму взаимодействия весьма условна: ее используют в том случае, если известен доминирующий механизм; часто процесс разделения протекает сразу по нескольким механизмам.

В зависимости от цели проведения хроматографического процесса различают: аналитическую хроматографию (качественный и количественный анализ); препаративную хроматографию (для получения веществ в чистом виде, для концентрирования и выделения микропримесей); промышленную (производственную) хроматографию для автоматического управления процессом (при этом целевой продукт из колонки поступает в датчик). Хроматографию часто используют для исследовательских целей при изучении растворов, каталитических процессов, кинетики химических процессов и т. п.

К плоскостным видам хроматографии относят бумажную (БХ) и тонкослойную (ТСХ). Эти два вида жидкостной хроматографии просты по технике выполнения, экспрессны, не требуют дорогостоящего оборудования. Разделение этими методами может быть выполнено с использованием хроматографических систем *жидкость – твердый сорбент* и *жидкость – жидкость – твердый сорбент*, поэтому выделяют адсорбционную, распределительную, обращенно-фазовую и ионообменную плоскостную хроматографию.

Тонкослойную хроматографию используют чаще, чем бумажную. В нисходящей хроматографии растворитель передвигается по слою вниз под действием и капиллярных, и гравитационных сил. Горизонтальная хроматография выполняется в виде круговой и со свободным испарением растворителя. В круговой хроматографии в центр горизонтально установленной пластинки вносят каплю анализируемой смеси и непрерывно подают растворитель, который под действием капиллярных сил движется в радиальном направлении от цен-

тра. Компоненты смеси располагаются в слое в виде концентрических колец. Схема разделения смеси веществ методом тонкослойной хроматографии приведена на **Рис. 3**. Пятна характеризуют положение компонентов А, В, С на пластинке в конце опыта.

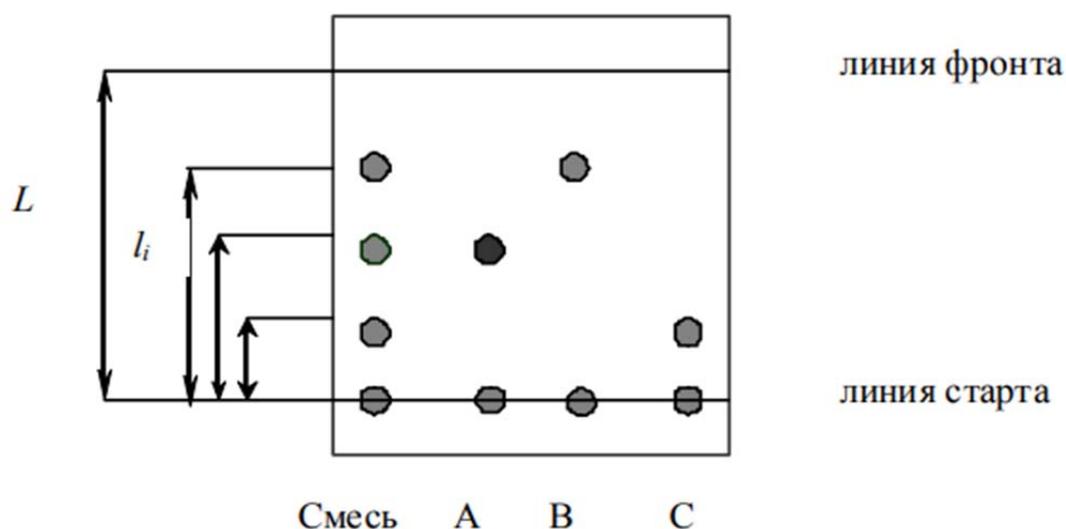


Рис. 3 – Схема разделения методом восходящей тонкослойной хроматографии

Сорбционные свойства системы в ТСХ характеризуются *подвижностью* R_f – относительной скоростью перемещения компонентов в тонком слое.

Величины R_f рассчитываются из экспериментальных данных:

$$R_f = l_i / L ,$$

где l_i – расстояние от стартовой линии до центра пятна;

L – расстояние, пройденное растворителем от стартовой линии до границы фронта растворителя.

R_f характеризует положение пятна на хроматограмме. Это константа для данного вещества на данном сорбенте в данной системе растворителей. На величину R_f влияют качество и активность сорбента, его влажность, толщина слоя, качество и природа растворителя, техника эксперимента (способ нанесения пробы, способ детектирования) и другие факторы.

На практике часто пользуются относительной величиной:

$$R_{f,\text{отн}} = R_{f,i} / R_{f,\text{стандарт}},$$

где $R_{f,i}$ – подвижность вещества i ;
 $R_{f,\text{стандарт}}$ – подвижность стандарта.

Разделение двух веществ с $R_{f,1}$ и $R_{f,2}$ практически возможно, если $R_{f,1} > R_{f,2}$ и $\Delta R_f \geq 0,1$.

Эффективность выбранного варианта ТСХ (адсорбционного, распределительного, ионообменного) и хроматографической системы можно оценить по фактору разделения (селективности) двух веществ с разными коэффициентами распределения:

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

Качественный анализ в ТСХ

Проще всего идентификация вещества может быть сделана, если пятно определяемого вещества имеет характерную окраску. Невидимые хроматограммы проявляют соответствующими реагентами, как правило, групповыми. По характерной окраске образующихся цветных зон судят о составе анализируемой пробы. При обработке пластинки, например, парами иода четко проявляются непредельные соединения; при опрыскивании пластинки тиоцианатом кобальта амины образуют голубые пятна на розово-белом фоне. В физических методах проявления используется способность некоторых веществ флуоресцировать под действием УФ-излучения. Наиболее общий подход к качественному анализу основан на значениях R_f . При соблюдении стандартных условий получают воспроизводимые значения R_f , которые можно использовать в аналитических целях при сравнении с табличными, если они получены в тех же условиях опыта. Самым надежным способом является *метод свидетелей (стандартных веществ)*. Стандартное вещество в том же растворителе наносится на стартовую линию рядом с анализируемой пробой и таким образом хроматографируется

в тех же условиях. По окончании хроматографирования и проявления хроматограммы приступают к идентификации веществ. Совпадение R_f компонента пробы и одного из свидетелей дает основание для отождествления веществ.

Количественные определения в ТСХ

Количественные определения могут быть сделаны непосредственно на пластинке, в этом случае каким-либо способом измеряют площадь пятна и по заранее построенному градуировочному графику находят количество вещества. Применяется также прямое спектрофотометрирование пластинки по спектрам отражения и по спектрам поглощения (фотоденситометрия), для количественных расчетов предварительно строят градуировочный график, используя оптическую плотность в центре пятна. Наиболее точным считается метод, когда анализируемое вещество удаляют с пластинки механическим путем или вымывают подходящим растворителем после вырезания зоны, а затем анализируют спектрофотометрическим, флуориметрическим, атомноабсорбционными методами. Метод ТСХ прост по методике выполнения и аппаратуре, экспрессен и не требует для анализа больших количеств вещества. Метод широко используется для идентификации компонентов лекарств, биохимических препаратов, неорганических веществ.

Задачи для самоконтроля

1. При идентификации аминокислот в концентрате из белкового гидролизата фронт растворителя (смесь *n*-бутанола, уксусной кислоты и воды) переместился от центра хроматографической бумаги на 55 мм. После опрыскивания хроматограммы раствором нингидрина получили три синих концентрических кольца с центрами, удаленными от стартовой линии на 20, 25 и 45 мм. В идентичных условиях хроматографировали растворы аминокислот и получили следующие коэффициенты подвижности: аспарагиновая кислота – 0,24, глутаминовая кислота – 0,36, лизин – 0,46, валин – 0,64,

аланин – 0,82, тирозин – 0,90. Какие аминокислоты содержатся в концентрате из белкового гидролизата?

2. При разделении смеси бензойной (1) и парааминобензойной кислот (2) методом хроматографии в тонком слое в потоке смеси гексана и ацетона установлены значения подвижностей R_f , равные 0,54 и 0,30 соответственно. Вычислить относительные значения коэффициентов подвижности обеих кислот, если для стандарта (ортохлорбензойной кислоты) $R_f = 0,48$. Вычислите коэффициент разделения α бензойной и пара-аминобензойной кислот.

3. Определите величину хроматографической подвижности в бумажной распределительной хроматографии, если смещение фронта растворителя равно 71 мм, а смещение зоны компонента равно 59 мм.

4. Расстояние от стартовой линии до центра зоны, определенное по методу тонкослойной хроматографии, на 10 % меньше, чем расстояние, пройденное за это же время растворителем. Определите величину хроматографической подвижности.

5. При анализе методом тонкослойной хроматографии двухкомпонентной смеси, содержащей предположительно пропазин (компонент X) и дипразин (компонент Y), с применением свидетелей-эталонов получена хроматограмма, на которой расстояние от линии старта до линии фронта растворителя $L = 100$ мм, расстояния от линии старта до центров пятен компонентов X, Y, свидетелей, пропазина и дипразина соответственно, равны: $l(X) = 38$ мм, $l(Y) = 79$ мм, $l(\text{пропазин}) = 40$ мм, $l(\text{дипразин}) = 78$ мм. Рассчитайте для каждого компонента смеси и свидетелей коэффициенты подвижности R_f , определите природу компонентов X, Y и вычислите коэффициент их разделения α .

6. Рассчитайте относительный коэффициент подвижности R_s вещества X, если расстояние от линии старта до линии фронта растворителя составляет 50 мм, расстояние от линии старта до центра хроматографической зоны вещества X – 30 мм, расстояние от линии старта до центра стандартного вещества – 26 мм.

Лабораторная работа № 4.
Качественное определение
содержания антител против SARS-CoV-2 в крови
методом иммунохроматографии коллоидного золота

Цель работы: качественное определение содержания антител против SARS-CoV-2 в клинических образцах (сыворотка / плазма / цельная кровь).

Теоретическое обоснование лабораторной работы

Коронавирус, как большое семейство вирусов, представляет собой один положительный свитый РНК-вирус с оболочкой. Известно, что вирус вызывает такие серьезные заболевания, как простуда, коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS) и тяжелый острый респираторный синдром (SARS). Новый вирус, в настоящее время известный как SARS-CoV-2, получил официальное название во Всемирной организации здравоохранения 12 января 2020 года.

Основным белком SARS-CoV-2 является белок N (нуклеокапсид), который представляет собой белковый компонент, расположенный внутри вируса. Он относительно сохраняется среди р-коронавирусов и часто используется в качестве инструмента для диагностики коронавирусов. ACE2, как ключевой рецептор SARS-CoV-2 для проникновения в клетки, имеет большое значение для исследования механизма вирусной инфекции. Продукт основан на принципе реакции *антиген – антитело* и методе иммуноанализа.

Тестовое устройство содержит коллоидное золото с маркировкой SARS-CoV-2 рекомбинантный белок, мышинное античеловеческое IgG-антитело, иммобилизованное в области тестирования G, мышинное античеловеческое IgM-антитело, иммобилизованное в тестовой области M, и соответствующее антитело в области контроля качества (C).

Во время теста, когда уровень антитела SARS-CoV-2 IgM в образце находится на уровне или выше предела обнаружения теста, антитело SARS-CoV-2 IgM в образце связывается с коллоидным золотом с маркировкой SARS-CoV-2 реком-

бинантным белком, предварительно нанесенным на пластину с золотой маркировкой. Конъюгаты будут мигрировать вверх благодаря капиллярному эффекту и будут впоследствии захвачены мышинным античеловеческим IgM-антителом, иммобилизованным в тестовой зоне М, и это приведет к появлению пурпурно-красной полосы в тестовой зоне М. Когда уровень антитела SARS-CoV-2 IgG в образце находится на уровне или выше предела обнаружения теста, антитело SARS-CoV-2 IgG в образце связывается с коллоидным золотом с маркировкой SARS-CoV-2 рекомбинантным белком, предварительно нанесенным на пластину с золотой маркировкой. Конъюгаты будут мигрировать вверх благодаря капиллярному эффекту и будут впоследствии захвачены мышинным античеловеческим антителом IgG, иммобилизованным в тестовой области G, и это приведет к появлению пурпурно-красной полосы в тестовой области G. Если это отрицательный образец, то в зоне испытаний М и G пурпурно-красная полоса не появляется. Независимо от наличия или отсутствия антитела SARS-CoV-2 в образце в зоне контроля качества появится пурпурно-красная полоса (С).

Пурпурно-красная полоса в зоне контроля качества (С) является критерием для определения того, достаточно ли пробы, нормальный ли процесс хроматографии. Это также служит стандартом внутреннего контроля для реагентов.

Требования к забору крови

Правильное получение капиллярной крови является одним из решающих условий, обеспечивающих точность и воспроизводимость результатов. Исследование крови рекомендуется проводить в стандартных условиях. Перед исследованием необходимо исключить значительную физическую нагрузку и эмоции у пациента.

Анализ крови делают утром натощак или после легкого завтрака. Общее время, затрачиваемое на взятие крови, не должно превышать 2–3 минут. Во взятой крови должны отсутствовать признаки свертывания.

В лабораторной практике исследуют капиллярную кровь, которую получают путем укола в мякоть IV пальца левой руки, или венозную кровь из локтевой вены (при анализе на автоматизаторах).

Берущий кровь должен пользоваться резиновыми перчатками. Для забора капиллярной крови используют одноразовые иглы – скарификаторы либо иглы Франка со сменными стерилизуемыми лезвиями.

Наиболее удобным местом прокола кожи является точка слева от срединной линии на некотором расстоянии от ногтя. Кожу на месте укола протирают ватным тампоном, смоченным спиртом, затем эфиром. Палец после обработки должен обсохнуть, иначе выступившая после укола капля крови будет растекаться по коже и насыщаться в капилляр с пузырьками воздуха. Палец сдавливают у основания ногтевой фаланги. Разовым скарификатором наносят укол. Укол в палец должен быть достаточно глубоким (2–3 мм), чтобы кровь выступила на его поверхность без надавливания. Надавливание на ткани приводят к смешиванию крови с лимфой, из-за чего результаты анализа окажутся недостоверными. Первую каплю крови для исследования не используют, т. к. она содержит случайные примеси и лимфу, поэтому ее снимают фильтровальной бумагой или ватой, смоченной эфиром. Для исследования берут вторую или третью каплю.

На ранку накладывают ватный тампон, смоченный настойкой йода или спиртом.

Выполнение работы

Перед тестированием доведите реагенты и образец крови до комнатной температуры.

1. Извлеките тестовую полоску из упаковочного пакета с реагентами и используйте ее в течение 1 часа, особенно в среде с комнатной температурой выше 30 °С или при высокой влажности.
2. Поместите набор на чистую платформу.
 - ✓ Образец сыворотки или плазмы: Добавьте 10 мкл образца сыворотки или плазмы в лунку А, а затем добавьте две кап-

ли (около 80 мкл) разведения образца в лунку В и начните отсчет времени.

- ✓ Образец цельной крови: Добавьте 20 мкл образца цельной крови в лунку А, а затем добавьте две капли (около 80 мкл) разведения образца в лунку В, и начните отсчет времени.
3. Дождитесь появления полосы оттенка фуксии. С результатами теста должны быть ознакомлены в течение 15 минут. Не читайте результаты после 20 минут.

Объяснение результатов анализа

Может быть несколько предложенных ниже вариантов:

- ✓ Положительный (+): появляются фиолетовые полосы как в области контроля качества, так и в области М или G;
- ✓ Отрицательный (-): в области контроля качества (С) имеется только одна фиолетовая полоса, а в испытательной области М и G она отсутствует.
- ✓ Недействительный: если в области контроля качества (С) отсутствует фиолетовая полоса, это указывает на неправильные рабочие процедуры или тестовая полоса уже испортилась. В таких условиях необходимо еще раз внимательно прочитать инструкцию по применению, а затем использовать новые тестовые полоски для повторного теста. Если проблема все еще существует, немедленно прекратите использование данной партии и обратитесь к местным поставщикам (**Рис. 4**).

Сделайте необходимый вывод и объясните, почему этот метод можно считать хроматографическим.

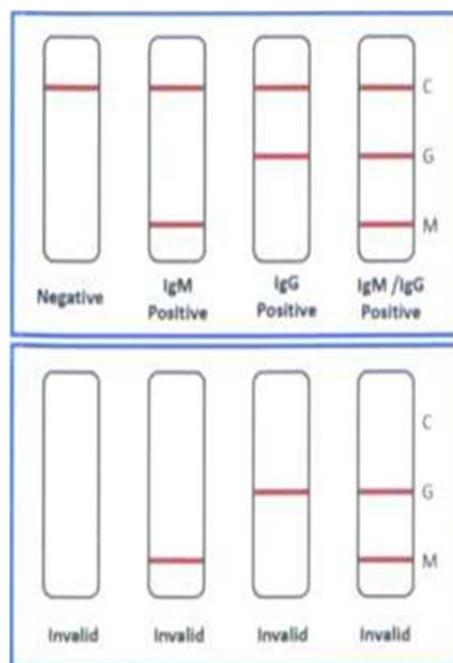


Рис. 4 – Интерпретация результатов теста

Вопросы к защите лабораторной работы

1. Что такое хроматография, на чём основаны все многочисленные её виды?
2. Объясните смысл величины коэффициента распределения.
3. Расскажите о классификации методов хроматографии.
4. Объясните принципы тонкослойной хроматографии. Что такое подвижность и в чём её смысл?
5. Опишите схему разделения методом восходящей ТСХ.
6. Опишите суть метода свидетелей и количественные методы анализа результатов тонкослойной хроматографии.

ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

1. Глинская, Н. А. Аналитическая и коллоидная химия : электрон. учеб.-метод. комплекс / Н. А. Глинская [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2022. – 445 с.
2. Валова (Копылова), В. Д. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : практикум / В. Д. Валова (Копылова), Е. И. Паршина. – М. : Дашков и К*, 2013. – 200 с.
3. Глинская, Н. А. Химия: Раздел «Аналитическая химия» : учеб.-метод. пособие к вып. практич. и лабор. работ / Н. А. Глинская, Е. И. Приловская, Е. С. Сильченко ; Мин-во образов. Респ. Беларусь, Полес. гос. ун-т. – Пинск : ПолесГУ, 2022. – 104 с.
4. Жебентяев, А. И. Аналитическая химия : практикум / А. И. Жебентяев, А. К. Жерносек, И. Е. Талуть. – Минск : Новое знание ; М. : ИНФРА-М, 2013. – 429 с.
5. Кийко, Т. Н. Физико-химические методы анализа : учеб.-метод. пособие / Т. Н. Кийко ; ред. Е. В. Радион. – Минск : БГТУ, 2009. – 66 с.
6. Лазарчук, О. А. Аналитическая химия : практикум / О. А. Лазарчук, А. В. Юренин, О. Н. Ринейская ; Мин-во здравоохран. Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т. – Минск : БГМУ, 2017. – 140 с.
7. Лебедь, Т. Л. Аналитическая биохимия : электрон. учеб.-метод. комплекс / Т. Л. Лебедь, Полес. гос. ун-т. – Пинск : ПолесГУ, 2021. – 94 с.
8. Методы аналитической биохимии : лабор. практикум / сост.: И. В. Семак, О. И. Губич, Т. Н. Зырянова. – Минск : БГУ, 2012. – 123 с.
9. Подобед, Л. Ф. Аналитическая химия : лабор. практикум / Л. Ф. Подобед, Е. П. Лобанова ; Междунар. гос. экон. ин-т им. А. Д. Сахарова. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 136 с.

10. Свирид, А. В. Практикум по дисциплине «Химико-аналитические методы в экологии (БСП)» : учеб.-метод. пособие / А. В. Свирид, Ю. Г. Походня ; Междунар. гос. экон. ин-т им. А. Д. Сахарова. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 76 с.

11. Мечковский, С. А. Аналитическая химия : учеб. пособие / С. А. Мечковский. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высшая школа, 1991. – 118 с.

12. Пилипенко, А. Т. Аналитическая химия : учеб. пособие : в 2 кн. / А. Т. Пилипенко, И. В. Пятницкий. – М. : Химия, 1990. – Кн. 2. – С. 481–846.

Дополнительная литература

1. Физико-химические методы анализа. Практическое руководство : учеб. пособие / ред. В. Б. Алесковский. – Ленинград : Химия, 1988. – 376 с.

2. Васильев, В. П. Аналитическая химия : учебник : в 2 ч. / В. П. Васильев. – М. : Высшая школа, 1989. – Ч. 2 : Физико-химические методы анализа. – 384 с.

3. Тикунова, И. В. Практикум по аналитической химии и физико-химическим методам анализа : учеб. пособие / И. В. Тикунова, Н. А. Шаповалов, А. И. Артеменко. – М. : Высшая школа, 2006. – 208 с.

Учебное издание

Татьяна Леонидовна Лебедь
Елена Игоревна Приловская

Физико-химические методы анализа

Лабораторный практикум для выполнения лабораторных работ

Ответственный за выпуск *Ю. В. Чечун*

Редактор *Т. И. Сакович*

Подписано в печать 14.09.2023 г. Формат 60 × 84/16.
Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс». Ризография.
Усл. печ. л. 2,21. Уч.-изд. л. 1,25.
Тираж 45 экз. Заказ № 186.

Отпечатано в редакционно-издательском отделе
Полесского государственного университета.
225710, г. Пинск, ул. Днепровской флотилии, 23.