

**КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ**

---

**Химический институт им. А.М. Бутлерова  
Кафедра физической химии**

**РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ РАБОТАМ  
ПО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДАМ ИССЛЕДОВАНИЯ**

для студентов Химического института

Казань – 2013

УДК 543

Печатается по решению Редакционно-издательского совета  
ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
учебно-методической комиссии Химического института  
им. А.М.Бутлерова  
Протокол № 1 от 12.09.2013  
заседания кафедры физической химии  
Протокол № 2 от 11.09.2013

*Составители:*

кандидат химических наук, доцент М.А. Варфоломеев  
кандидат химических наук, старший научный сотрудник И.А.Седов  
кандидат химических наук, доцент М.А. Зиганшин  
кандидат химических наук, доцент В.Б. Новиков  
кандидат химических наук, научный сотрудник А.В. Герасимов  
кандидат химических наук, доцент В.А. Сироткин  
доктор химических наук, профессор В.В. Горбачук  
доктор химических наук, профессор Б.Н. Соломонов

*Научный рецензент:*

доктор химических наук, профессор Я.А. Верещагина

**Руководство к практическим работам по физико-химическим методам исследования / М.А.Варфоломеев, И.А.Седов, М.А. Зиганшин, В.Б. Новиков, А.В. Герасимов, В.А. Сироткин, В.В. Горбачук, Б.Н. Соломонов. – Казань: Казанский университет, 2013. – 106 с.**

«Руководство к практическим работам...» написано в соответствии с программой курса «Химическая термодинамика» и предназначено для использования в качестве учебно-методического пособия при выполнении практических работ по физико-химическим методам исследования студентами Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета.

«Руководство к практическим работам...» подготовлено при поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, гос. контракт №14.740.11.0377 (ОК-1/2010).

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>4</b>
<b>1. СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ</b>	<b>5</b>
1.1. Ультрафиолетовая спектроскопия	5
1.2. Инфракрасная спектроскопия.....	20
<b>2. КАЛОРИМЕТРИЯ И ТЕРМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ</b>	<b>38</b>
2.1. Полуадиабатическая калориметрия.....	40
2.2. Дифференциальная сканирующая калориметрия.....	62
2.3. Совмещенный термический анализ.....	70
<b>3. ГРАВИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ</b>	<b>76</b>
<b>4. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ</b>	<b>82</b>
<b>5. ДЕНСИМЕТРИЯ</b>	<b>99</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

«Руководство к практическим работам по физико-химическим методам исследования» предназначено для студентов V курса кафедры физической химии Химического института им. А.М.Бутлерова КФУ, выполняющих практические работы спецпрактикума по физико-химическим методам исследования.

В руководство включены описания лабораторных работ с использованием методов УФ- и ИК-спектроскопии, калориметрии растворения, дифференциально-сканирующей калориметрии, газовой хроматографии, термогравиметрии и денсиметрии.

В каждой главы в краткой форме приведен соответствующий теоретический материал, описаны методы исследования, даны варианты работ и описан порядок их выполнения. В конце каждого раздела указана рекомендуемая литература.

Руководство может быть использовано в качестве учебно-методического пособия при выполнении практических работ по физико-химическим методам исследования студентами старших курсов Химического института им. А. М. Бутлерова Казанского федерального университета, а также для аспирантов и сотрудников, использующих эти методы в своей работе.

# 1. СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ

## 1.1. Ультрафиолетовая спектроскопия

Термин «ультрафиолетовая спектроскопия» обычно используют для обозначения молекулярной электронной абсорбционной спектроскопии в ультрафиолетовой и видимой области спектра. Иными словами, речь идет о спектроскопии поглощения света, которое переводит молекулы в возбужденное состояние за счет перехода их электронов на более высокие уровни энергии. Ультрафиолетовая спектроскопия как экспериментальный метод применяется для определения концентрации веществ в растворе, а также для изучения молекулярной структуры веществ. Основным научным прибором, который применяется для этой цели, является УФ-спектрофотометр, рис.1.1.



Рис.1.1. УФ-спектрофотометр.

Схема одноканального двухлучевого УФ-спектрофотометра приведена на рис. 1.2. Главными элементами этого прибора являются лампа, монохроматор, щель, светоделительное зеркало, ячейки (кюветы) с исследуемым образцом и образцом сравнения, детекторы и процессор, управляющий режимами прибора по командам программы, находящейся на персональном компьютере.

В спектрофотометре источником света для УФ-диапазона (190-390 нм) является ртутная или водородная лампа, а для видимой части спектра (390-800 нм) – лампа с вольфрамовой нитью накаливания. Свет лампы попадает в монохроматор, состоящий из дифракционной решетки, поворачивающейся под управлением процессора, и щели. Решетка диспергирует отраженный свет в пространстве на

составляющие спектра. Щель пропускает узкую часть спектра при заданной длине волны: обычно шириной от 0.5 до 2 нм.

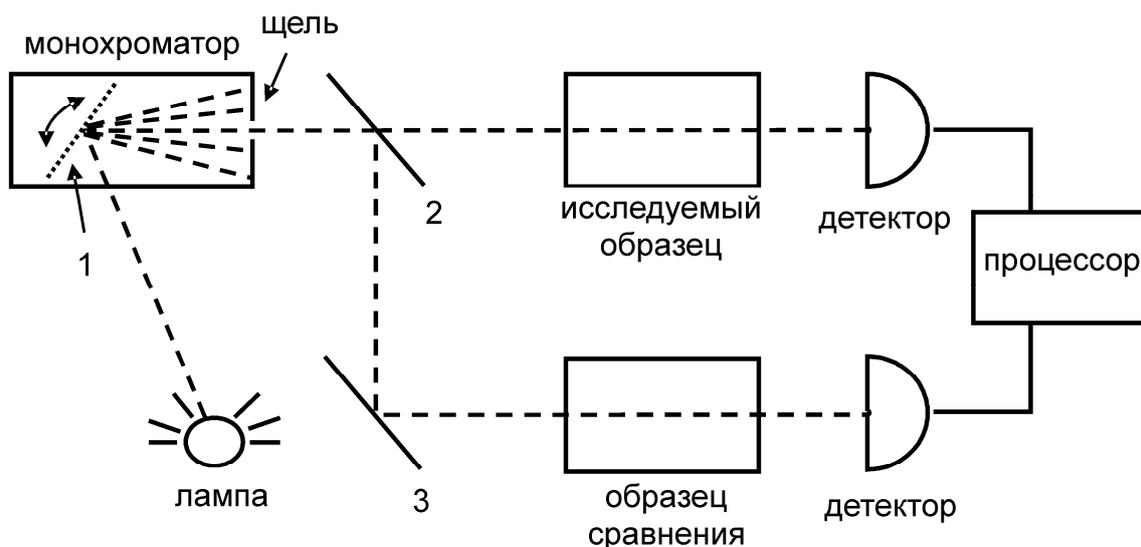


Рис. 1.2. Схема УФ-спектрофотометра: 1 – дифракционная решетка, 2 – светоделительное зеркало, 3 – зеркало

Свет, выходящий из монохроматора, попадает на светоделительное зеркало, где делится на два луча. Один из лучей проходит через исследуемый образец, а второй – через образец сравнения. Оба луча затем попадают на детекторы, которые регистрируют интенсивность проходящего и падающего света  $I$  и  $I_0$ , соответственно. Процессор вычисляет отношение этих величин  $I/I_0$ , или степень пропускания, и оптическую плотность исследуемого образца:

$$A = \lg \frac{I}{I_0}$$

Спектр записывается как зависимость оптической плотности  $A$  от длины волны  $\lambda$ . На рисунке 1.3 в качестве примера приведен УФ-спектр раствора бензола в гексане. При записи спектра раствора в ячейку (кювету) сравнения заливается растворитель. Критерием выбора растворителя является отсутствие существенного поглощения света в том диапазоне длин волн, в котором происходит запись спектра. В противном случае чувствительность детектора для регистрации спектра может оказаться недостаточной.

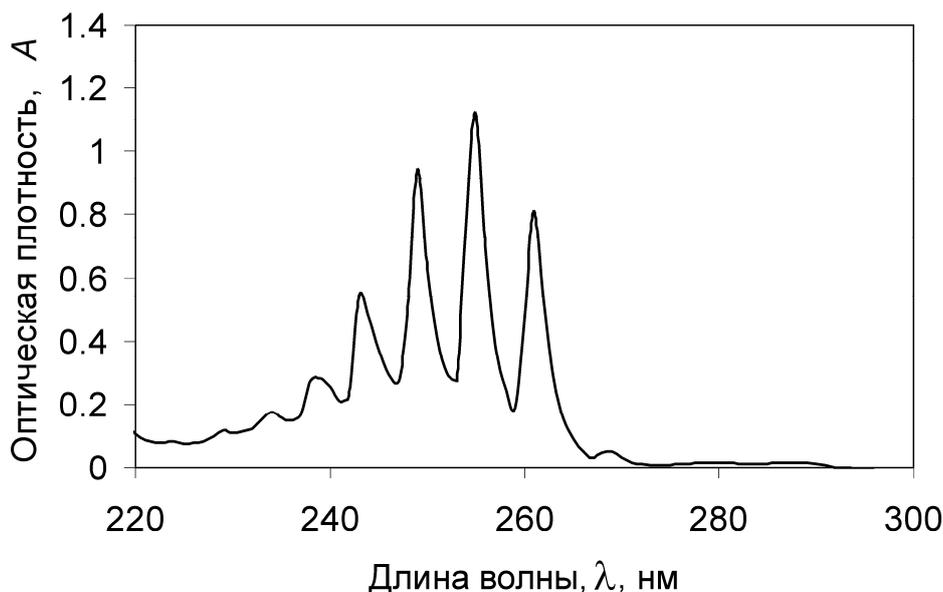


Рис. 1.3. УФ-спектр раствора бензола в гексане

Оптическая плотность раствора является функцией концентрации растворенного вещества  $C$  (моль/л), длины оптического пути в растворе  $L$  (см) и коэффициента экстинкции  $\varepsilon$  растворенного вещества при данной длине волны в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \lg \frac{I}{I_0} = \varepsilon CL \quad (1.1)$$

Для спектрофотометрического определения концентрации вещества в растворе необходимо знать его стандартный спектр, т.е. спектр раствора с известной концентрацией и длиной оптического пути  $L = 1$  см. Для ряда веществ такие спектры имеются в справочной литературе, где они приводятся в виде таблиц или графиков в координатах  $\varepsilon$  и  $\lambda$ . Пример стандартного спектра для толуола приведен на рисунке 1.4. В случае графического представления результатов указывают положение и величину коэффициента экстинкции для максимумов полос поглощения. Так для раствора бензола в циклогексане имеется максимум поглощения с  $\varepsilon = 210 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\text{см}^{-1}$  при  $\lambda = 254,75 \text{ нм}$ , а для толуола –  $\varepsilon = 2864 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\text{см}^{-1}$  при  $\lambda = 261,75 \text{ нм}$ .

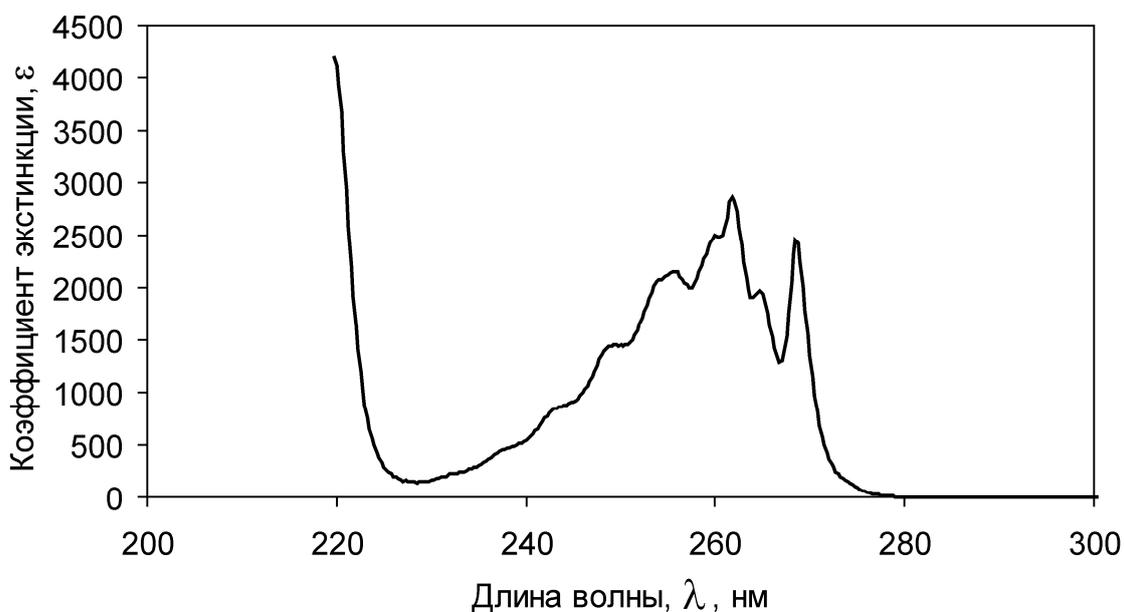


Рис. 1.4. Стандартный УФ-спектр раствора толуола в циклогексане

При экспериментальном определении УФ-спектров приходится учитывать, что при этом могут иметь место отклонения измеряемого коэффициента экстинкции  $\epsilon$  от стандартной величины. Эти отклонения могут быть обусловлены ошибками в приготовлении раствора, недостаточно узкой шириной щели спектрофотометра, или слишком высокой скоростью сканирования спектра. Ширина щели – один из существенных параметров работы прибора, определяющий интервал спектра света в нанометрах, выходящего в каждый момент времени из монохроматора и проходящего через ячейку с образцом. Уменьшение ширины щели ведет к уменьшению чувствительности анализа, если полоса поглощения света имеет широкий максимум. Если максимум узкий, то при широкой щели значения коэффициента экстинкции  $\epsilon$  могут быть существенно ниже стандартной величины. Если нужно определить концентрацию растворенного вещества спектрофотометрическим методом, даже при известном значении  $\epsilon$  необходимо снимать калибровочные спектры растворов с известной концентрацией.

#### *Порядок действий при записи спектра*

Включите УФ-спектрофотометр и компьютер с управляющей программой Uvwinlab. Если программа не запускается, перезагрузите компьютер и повторите ее запуск. При этом открывается окно выбора метода, рис. 1.5.

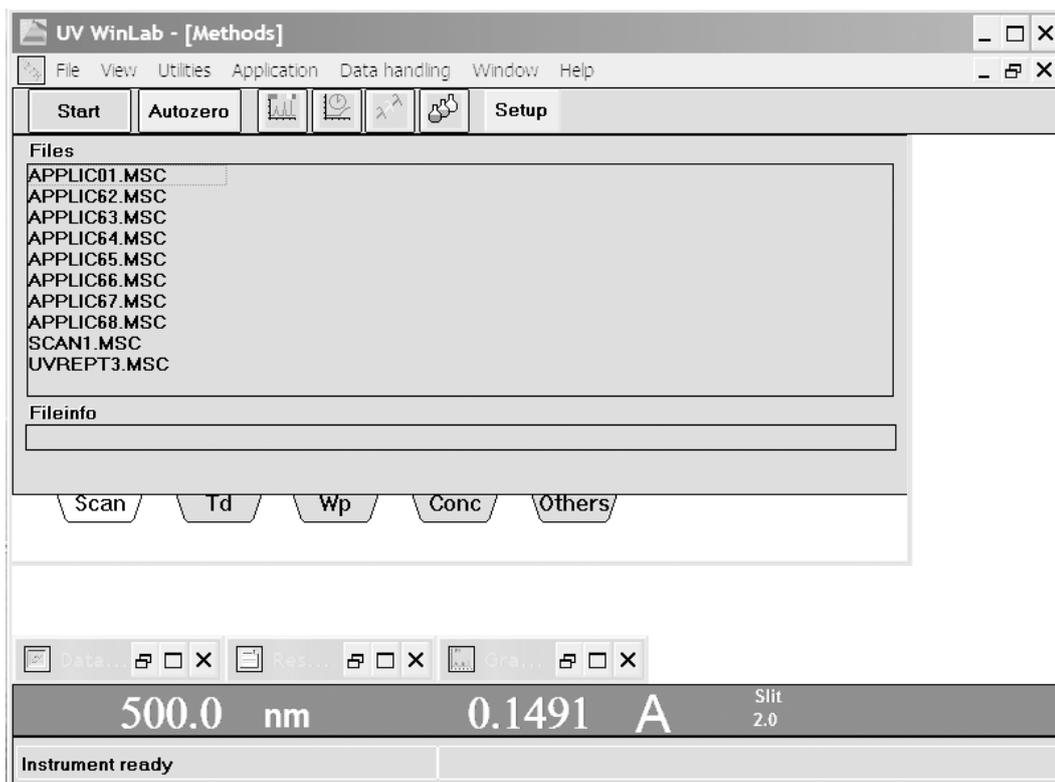


Рис. 1.5. Окно выбора метода

Выберите один из предложенных вариантов, щелкнув, например, по имени файла APPLIC66.MSC. В открывшемся окне SCAN, рис. 1.6, установите нужный диапазон записи спектра, интервал измерения оптической плотности в нм, число циклов съемки спектра, параметры отображения спектра на экране. Включите также автоматическую запись спектра (Autosave – On). Внесите свое описание метода записи спектра в окно Method info.

Нажмите мышкой на закладку Inst. В окне Instrument установите нужную скорость записи спектра, учитывая, что точность измерений тем выше, чем ниже скорость изменения длины волны света монохроматора в ходе эксперимента. Если спектр снимается для растворов со слишком низкой или слишком высокой оптической плотностью, задается ненулевое значение параметра сглаживания спектра для увеличения отношения сигнал/шум.

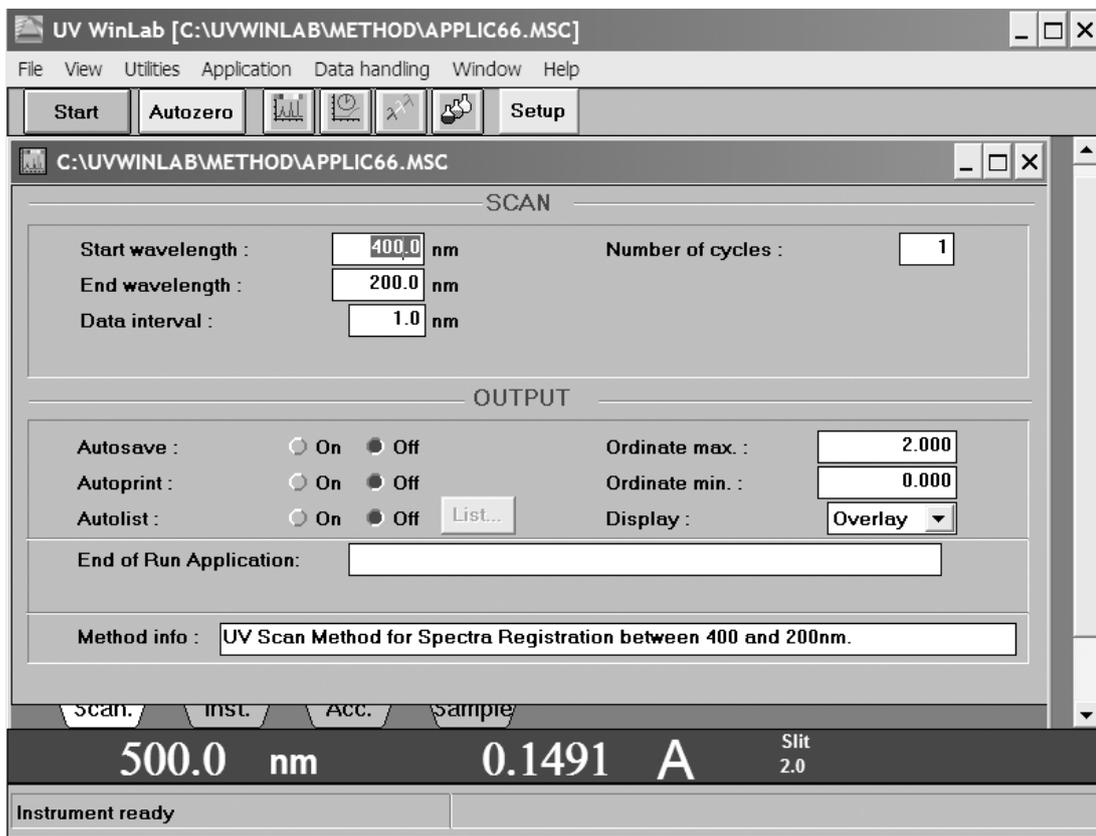


Рис. 1.6. Окно SCAN настройки параметров записи спектра

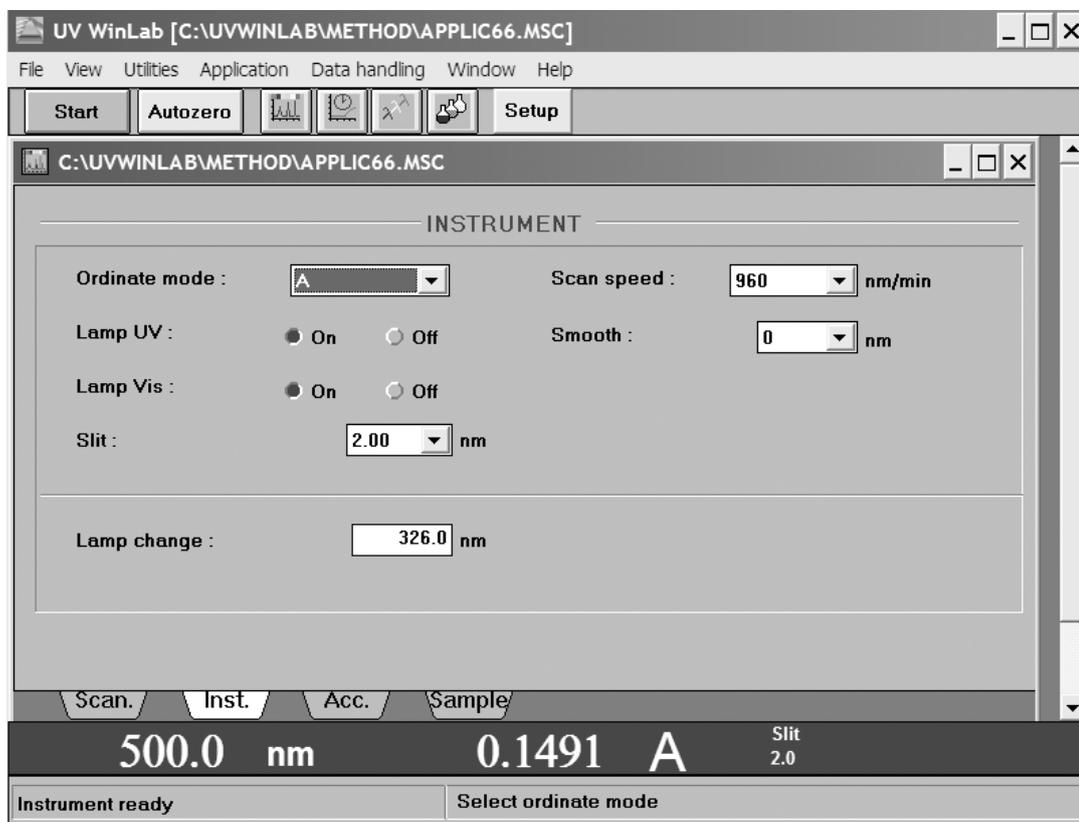


Рис. 1.7. Окно INSTRUMENT настройки параметров записи спектра

Нажмите на закладку Acc и отключите (включите) автоматическое перемещение кювет: Cell changer – «Off», если параллельно проводится исследование только одной реакции, или – «On», если параллельно определяются кинетические параметры нескольких химических реакций.

Нажмите на закладку Sample, рис. 1.8, и введите имя будущего файла с результатами, число и наименование образцов, спектры поглощения которых будут определены с одним бланковым образцом для измерения базовой линии спектра. Можно также непосредственно указать фактор разбавления исследуемого соединения для расчета его концентрации. Этот фактор может быть вычислен программой, если задать метод его расчета и ввести соответствующие значения исходного объема раствора, навески, конечного объема раствора и т.п.

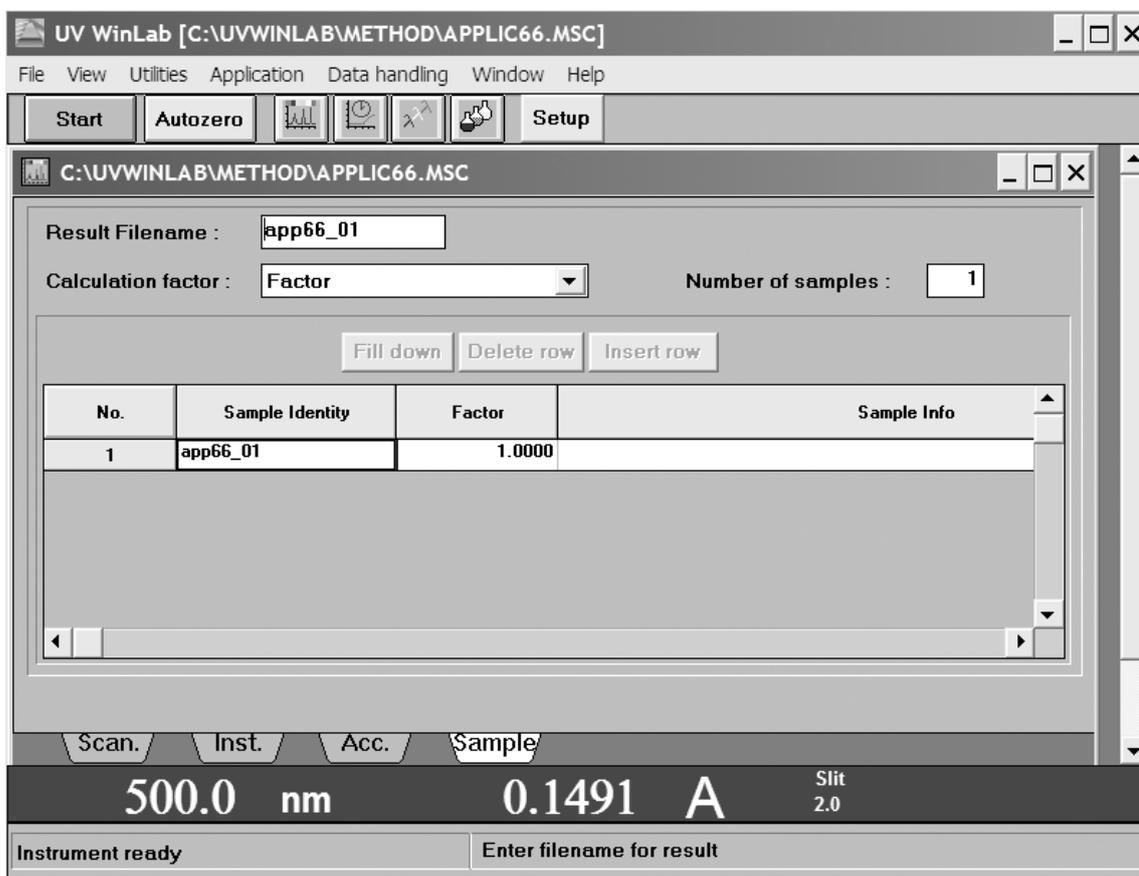


Рис. 1.8. Окно Sample настройки параметров записи спектра и вывода результатов

Как только введены все необходимые параметры записи спектра, отредактированный метод следует сохранить под новым именем, выбрав Save as в меню File.

Установите параметр Default spectral format в положение ASCII в окне Utilities -> Configuration. Этот параметр задает формат записи

спектра в файл, удобный для импорта в Excel или другие офисные программы для работы с табличными данными.

Нажмите кнопку Start. По этой команде метод будет передан в спектрофотометр и программа предложит ввести бланковый образец для снятия базовой линии спектра, рис. 1.9.

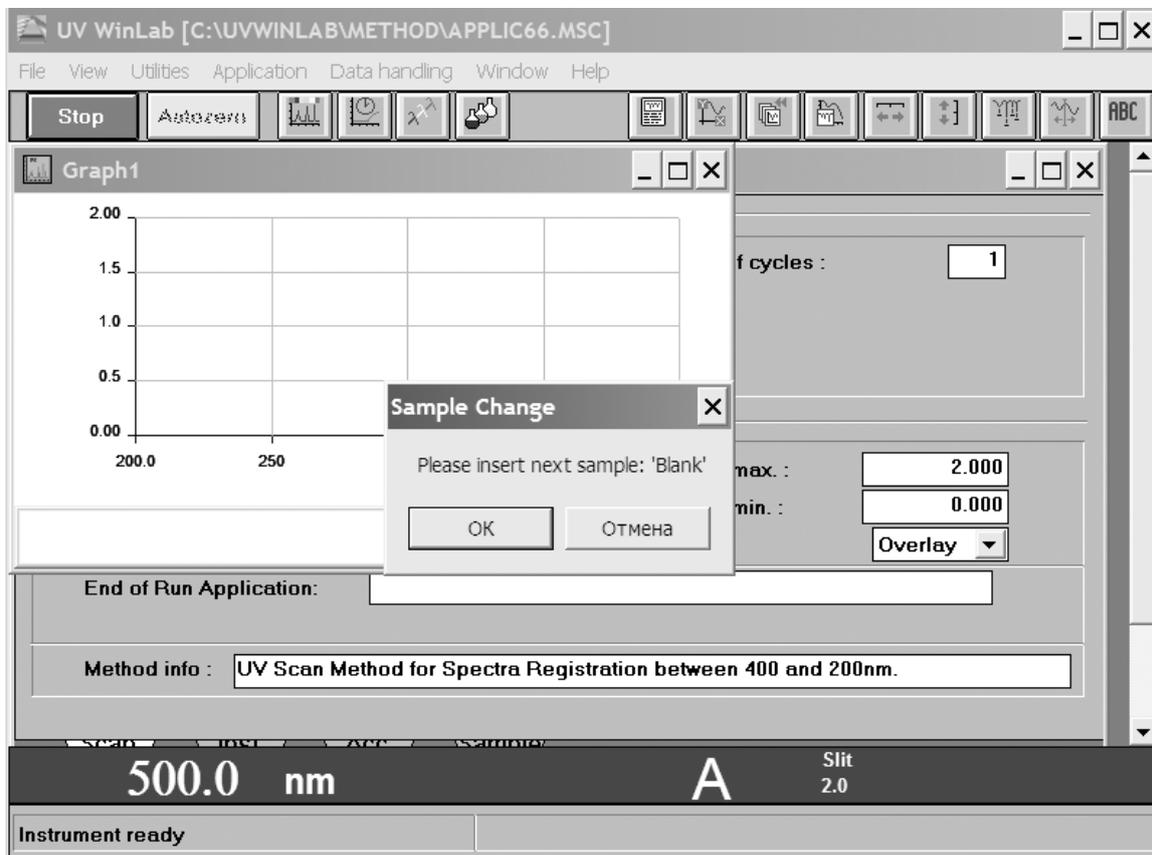


Рис. 1.9. Диалоговое окно смены образца. Программа предлагает установить бланковый образец для снятия базовой линии.

Установите два одинаковых образца с чистым растворителем или раствором без исследуемого соединения в кюветодержатель сравнения и в первую ячейку кюветодержателя для исследуемых образцов. В кювете с длиной оптического пути  $L=1$  см должно быть 3-3.5 мл жидкости. Закройте крышку отделения кювет спектрофотометра. Дождитесь установки теплового равновесия в кюветах. Нажмите на кнопку ОК в окне Sample change. Сразу после этого спектрофотометр начнет снимать спектр базовой линии, который будет вычитаться из спектров исследуемых образцов.

Затем программа предложит ввести исследуемый образец с именем, которое было задано в окне Sample метода. Приготовьте этот образец, используя тот же растворитель или раствор, для которого был снят спектр базовой линии. При этом анализируемый раствор должен

быть тщательно перемешан. Оптимальную концентрацию для записи спектра можно вычислить по уравнению:

$$C = \frac{1}{\varepsilon L}$$

Замените бланковый образец, находящийся в ближней ячейке кюветодержателя на исследуемый. Закройте крышку отделения кювет спектрофотометра. Дождитесь установки теплового равновесия в кювете с исследуемым образцом. Нажмите на кнопку ОК в окне Sample change. Спектрофотометр начинает снимать спектр, который отображается на экране компьютера в графическом виде, рис. 1.10. По завершении записи спектра он будет автоматически записан в файл с именем, которое отображается под спектром тем же цветом, что и линия спектра.

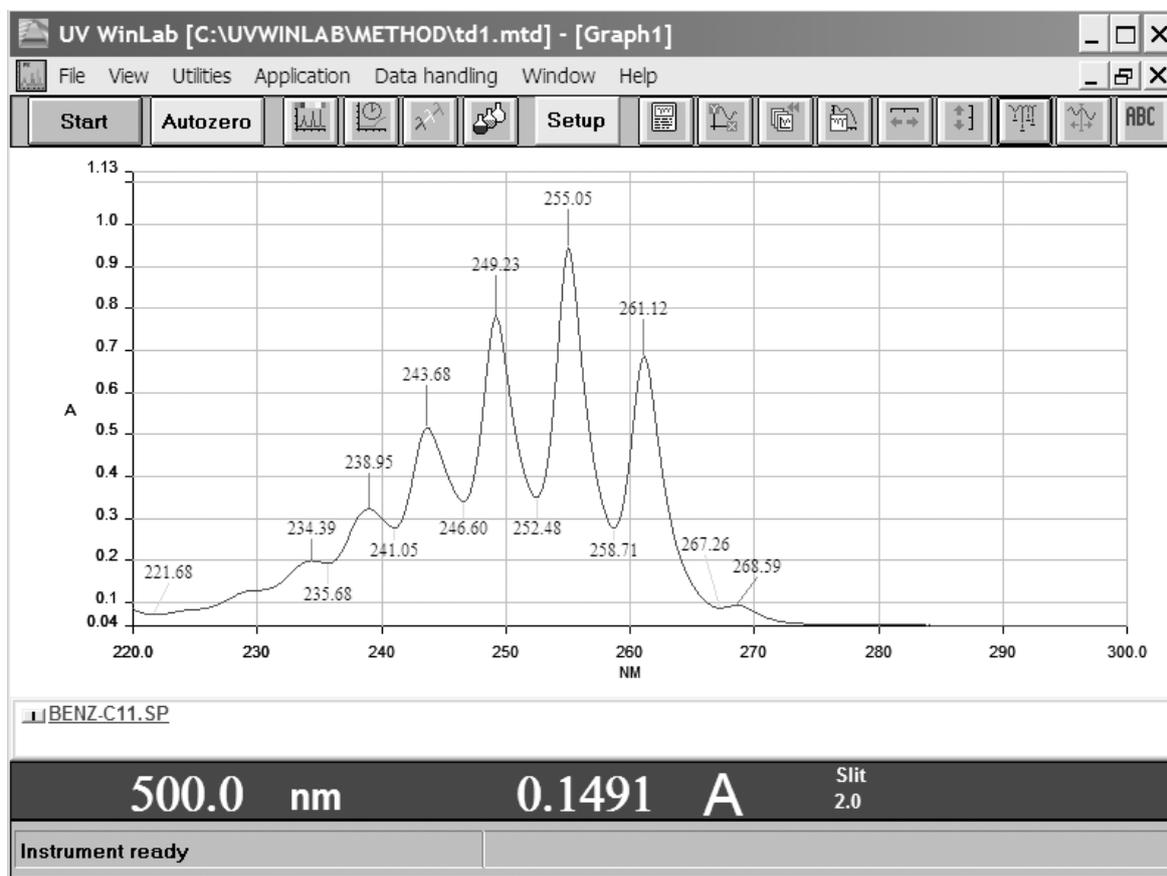


Рис. 1.10. Спектр раствора бензола в гексане

Программа UVWinlab позволяет осуществить автоматический поиск и маркировку максимумов и минимумов спектра по нажатию кнопки Find peaks (третья справа). Спектр, записанный в файл в формате ASCII, можно обработать и оформить с помощью программы

Excel. Импортируйте в Excel файл со спектром, указав в окне открытия файла параметр «все файлы» и следуя указаниям программы.

### **Работа 1.1 Определение коэффициента экстинкции нафталина в циклогексане**

Запишите УФ-спектр раствора 1-метилнафталина в циклогексане. Определите коэффициент экстинкции нафталина в этом растворе.

Порядок работы:

1. Приготовьте 25 мл раствора 1-метилнафталина в циклогексане с концентрацией  $10^{-3}$  моль/л.

2. Снимите спектр этого раствора в диапазоне 220–400 нм.

3. Если оптическая плотность  $A$  в диапазоне поглощения ароматическим ядром ( $> 250$  нм) оказывается выше 2.1, разбавьте раствор в 3 раза, если менее 2.1, то – в  $A$  раз.

4. Снова снимите спектр. Повторяйте операции 3-4 до тех пор, пока оптическая плотность раствора не попадет в интервал  $A = 0.7-1.7$ . На основе данных об исходной концентрации, степени разбавления и измеренной оптической плотности конечного раствора вычислите концентрацию раствора, который будет иметь оптическую плотность, равную единице  $A = 1$ . Заново приготовьте раствор с этой концентрацией, взяв навеску 1-метилнафталина на аналитических весах и растворив ее в 100 мл циклогексана. Снимите спектр. Вычислите коэффициент экстинкции по уравнению (1.1).

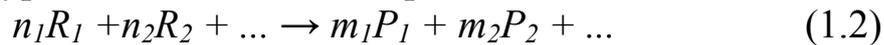
### *Определение кинетических параметров химических реакций методом УФ-спектрофотометрии*

Спектрофотометрический метод определения кинетических параметров химических реакций является одним из наиболее простых и эффективных экспериментальных методов химической кинетики. В отличие от многих других методов, он не требует отбора проб для их анализа вне реакционной смеси или добавок других реагентов в реакционную смесь через заданные промежутки времени, что обычно снижает точность измерений.

Основным условием применения этого метода является различие спектров поглощения исходных реагентов и продуктов реакции. Кроме того, при использовании стандартного спектрофотометра, описанного в предыдущем разделе, важно, чтобы скорость реакции укладывалась в определенный диапазон. Например, для реакций, протекающих на 80% за время, меньшее одной минуты, требуется специальное оборудование

для смешения реагентов и более быстросредействующий датчик фотоприемника, чем в обычных приборах. Для этой цели используются спектрофотометры «остановленной струи». В настоящем пособии описана методика определения кинетических параметров более медленных реакций, протекающих за время от нескольких минут до нескольких часов.

Наиболее удобными для изучения спектрофотометрическим методом являются реакции, протекающие в прозрачной жидкой фазе. В общем виде уравнение химической реакции может быть записано как



где  $R_1, R_2, \dots, R_i$  – исходные реагенты,  $P_1, P_2, \dots, P_i$  – продукты реакции,  $n_1, \dots, n_i, m_1, \dots, m_i$  – стехиометрические коэффициенты. Для реакций, протекающих при постоянном объеме, выражение для скорости реакции  $v$  имеет вид:

$$v = -\frac{1}{n_i} \frac{d[R_i]}{dt} = +\frac{1}{m_i} \frac{d[P_i]}{dt} \quad (1.3)$$

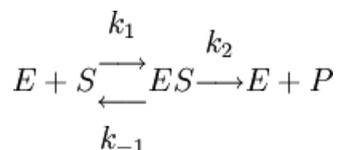
где  $t$  – время,  $[R_i]$  и  $[P_i]$  – молярные концентрации реагентов и продуктов реакции. Иногда в выражении для скорости реакции стехиометрические коэффициенты  $n_i, m_i$  не используют. В этом случае скорость одной и той же реакции может быть разной для разных реагентов и продуктов.

Для *простых*, или *элементарных* реакций применим основной постулат химической кинетики, согласно которому скорость реакции пропорциональна произведению концентраций реагентов в степенях, равных стехиометрическим коэффициентам:

$$v = -\frac{d[R_1]}{dt} = k[R_1]^{n_1}[R_2]^{n_2} \dots \quad (1.4)$$

Величины  $n_1, n_2, \dots$  называются частным *порядком реакции* по соответствующим реагентам. Сумма частных порядков называется общим порядком реакции. Большинство известных реакций являются *сложными*, состоят из нескольких простых реакций, и их частные порядки часто не равны стехиометрическим коэффициентам уравнения реакции. Общий или частный порядок таких реакций может быть дробным, равным нулю (нулевой порядок реакции), а также может зависеть от условий эксперимента.

Существуют сложные реакции с кинетическим уравнением, которое существенно отличается от уравнения (1.4). Наиболее распространенными из них являются ферментативные реакции, протекающие в соответствии с уравнением:



где  $E$  – фермент,  $S$  – субстрат,  $P$  – продукт реакции,  $k_1$ ,  $k_{-1}$ ,  $k_2$  – константы скорости соответствующих реакций.

Выражение для скорости ферментативной реакции (уравнение Михаэлиса-Ментен) имеет вид

$$\frac{d[P]}{dt} = V_{\max} \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (1.5)$$

где  $V_{\max}$  – максимальная скорость реакции,  $K_M$  – константа Михаэлиса:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Спектрофотометрический метод удобен в том случае, если спектры поглощения исходных веществ и продуктов реакции в УФ- или видимой области не совпадают. Кинетические параметры реакции определяются по зависимости оптической плотности раствора, где она протекает, от времени. При этом для определения концентрации реагентов или продуктов в текущий момент времени используют закон Бугера-Ламберта-Бееера, уравнение (1.1).

### *Методика измерения кинетики химической реакции*

Для изучения кинетики химических реакций спектрофотометрическим методом с помощью УФ-спектрофотометра Lambda-35 пользуются программой KinLab. Подготовьте растворы реагентов. Включите спектрофотометр, термостат, компьютер и запустите эту программу. После запуска программа предложит отредактировать параметры метода измерения в окне MethodEditor. Вы можете открыть также ранее сохраненный файл \*.mki с параметрами метода. Нажмите закладку Kinetics и выберите подходящий временной диапазон результатов измерений, который будет обрабатываться программой расчета кинетических параметров.

Нажмите закладку Sample. Типичный вариант выбора параметров в этом окне приведен на рис. 1.11. Укажите число образцов (Number of Samples) реакционных смесей, которые будут изучены один за другим в ходе эксперимента. Если в реакционной смеси идет процесс, не связанный с исследуемой реакцией, но влияющий на оптическую плотность раствора, в свойствах первого образца установите параметр Blank. При обработке результатов будет сделана поправка на этот процесс.

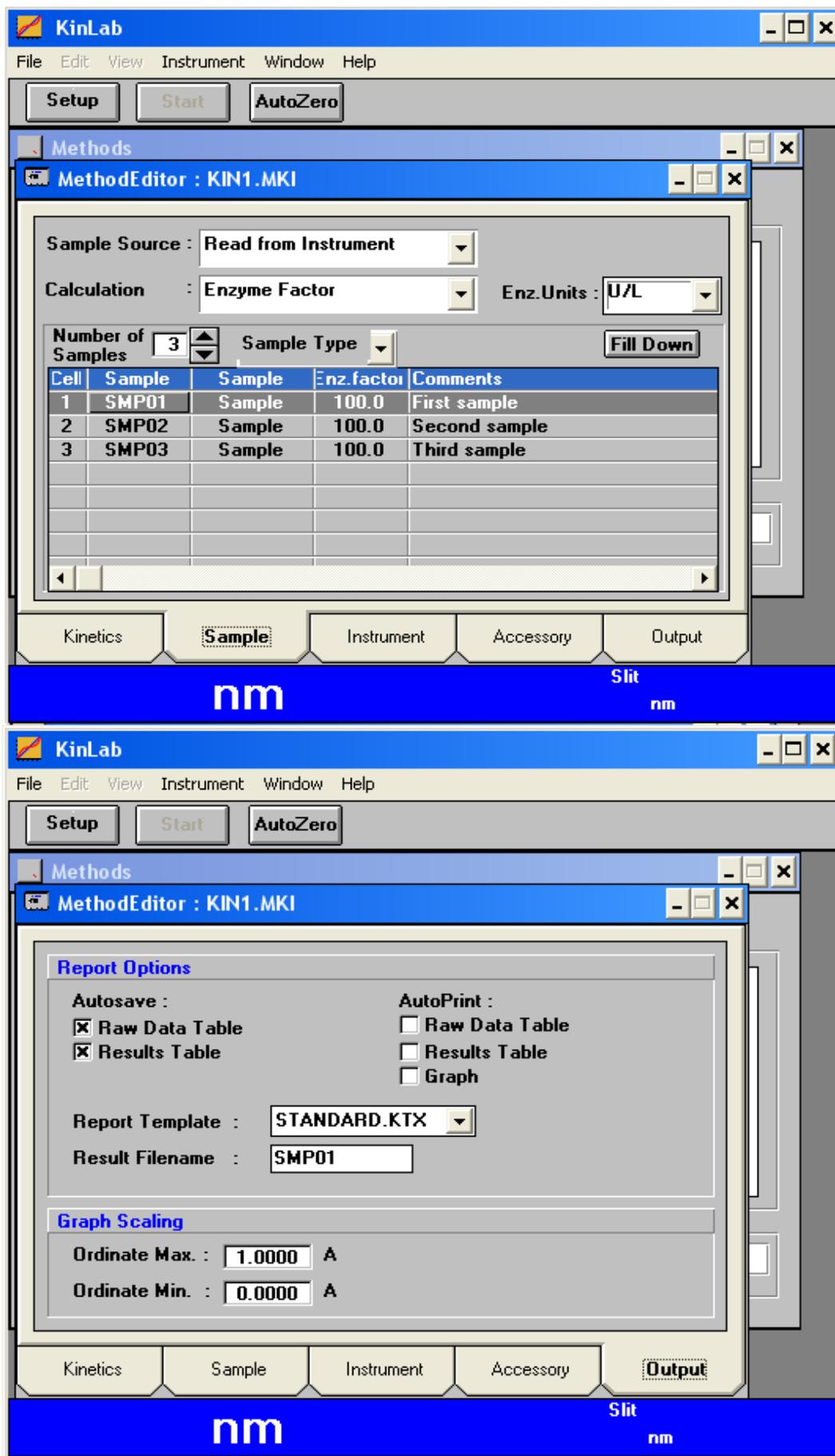


Рис. 1.11. Окна выбора параметров для измерения кинетики реакций

Нажмите на закладку Instrument. В этом окне укажите длину волны, при которой будет определяться зависимость оптической плотности образцов от времени, ширину щели спектрофотометра, общее время измерения кинетики реакции для одного образца, интервал времени между измерениями оптической плотности, время задержки начала измерений с момента запуска программы. В окне Accessories задаются параметры перемещения кюветодержателя и параметры его термостатирования.

В окне Output задайте параметры, как показано на рис. 1.11. Сохраните заданные параметры, нажав кнопки File, Save Method As. Нажмите на кнопку Setup. По этой команде параметры метода передаются с компьютера в микропроцессор спектрофотометра.

Залейте 3 мл раствора одного из реагентов в кварцевую кювету с длиной оптического пути 1 см и установите ее в кюветодержатель. Установите также кювету сравнения в дальний от себя кюветодержатель. В кювете сравнения должно быть также 3 мл растворителя или раствора, в котором был растворен реагент. Растворы в кюветах не должны содержать пузырьки воздуха, чтобы не исказить результаты кинетических измерений. Нажмите на кнопку AutoZero. Эксперимент можно начинать, если с момента включения термостата прошло не менее 30 мин. Кюветы с растворами должны находиться в ячейках кюветодержателей до начала эксперимента не менее 5 мин. Добавьте раствор со вторым реагентом в кювету с первым и тщательно перемешайте. Без задержки нажмите на кнопку Start. Раствор второго реагента обычно имеет объем 10-50 мкл. С этого момента прибор начинает измерения оптической плотности исследуемого образца реакционной смеси через заданные интервалы времени.

После истечения времени, заданного в окне Instrument, программа предложит установить следующий образец и так далее, вплоть до последнего, указанного в окне Sample. Результаты эксперимента будут записаны в папке .../Uvwinlab/Data в файлах типа \*.rki. Таблица с результатами имеет следующий вид:

Time[min]	A	Delta A	dA/min
0.00	0.1171		
0.08	0.1211	0.0041	0.0491
0.17	0.1257	0.0045	0.0518
0.25	0.1282	0.0025	0.0446
0.33	0.1312	0.0030	0.0425
.....			
13.50	0.3052	0.0004	0.0139
13.58	0.3055	0.0002	0.0139

где  $\text{Time}[\text{min}]$  – время, прошедшее с начала эксперимента,  $A$  – округленная оптическая плотность раствора,  $\Delta A$  – разница между соседними величинами  $A$ ,  $dA/\text{min}$  – величина, пропорциональная скорости реакции в данный момент времени. Коэффициент пропорциональности между  $dA/\text{min}$  и скоростью реакции можно рассчитать, если определена разность в коэффициентах экстинкции реагентов и продуктов. Если известна начальная концентрация реагентов, а конечная степень превращения реагентов в ходе эксперимента выше 80%, то разность в коэффициентах экстинкции можно рассчитать с достаточной точностью по измеренной зависимости оптической плотности реакционной смеси от времени.

Для расчетов кинетических параметров важны первая и последняя колонки результатов измерений. Величина  $dA/\text{min}$  не содержит ошибок округления величины  $A$ . Импортируйте таблицу с результатами в Excel и рассчитайте кинетические параметры изученных реакций.

### **Работа 1.2 Определение максимальной скорости и константы Михаэлиса ферментативной реакции гидролиза**

Определите максимальную скорость и константу Михаэлиса ферментативной реакции гидролиза пара-нитроанилида бензоиларгинина (ВАРНА) с помощью трипсина. Приготовьте 25 мл раствора трипсина в 0,05 М ТРИС буфере (pH=8,1), содержащем  $10^{-2}$  М  $\text{CaCl}_2$ , и 200 мкл раствора ВАРНА в диметилформамиде, в расчете на то, что исходная концентрация ВАРНА в реакционной смеси будет составлять  $0,36 \cdot 10^{-3}$  М, а трипсина – 24 мг/мл. Измерения оптической плотности реакционной смеси осуществляются при длине волны  $\lambda = 410$  нм.

## 1.2. Инфракрасная спектроскопия

Современная молекулярная спектроскопия базируется на квантовой теории, согласно которой любая молекула может существовать в стационарных состояниях, соответствующих определенным энергетическим уровням. Из одного состояния в другое молекула может переходить, поглощая или испуская квант света, энергия которого определяется разностью энергий исходного и конечного состояний.

В зависимости от природы энергетических уровней, между которыми происходят квантовые переходы, оптическая молекулярная спектроскопия подразделяется на вращательную, колебательную и электронную. Вращательные спектры связаны с движением молекулы как целого, происходящим без изменения положения центра тяжести. Колебательные спектры имеют место при изменении взаимного расположения атомов в молекуле. Наконец, электронные спектры возникают при изменении распределения электронной плотности, т.е. определяются электронным движением.

Согласно этой классификации инфракрасные спектры (ИК спектры) возникают при изменении колебательных и вращательных уровней молекулы. Поэтому их часто называют колебательно-вращательными. ИК спектры большинства молекул не содержат особенно узких линий поглощения. Это вызвано тем, что изменения вращательной энергии могут происходить одновременно с изменением колебательной энергии. В этих случаях наблюдается «полоса» очень тесно расположенных линий для каждого изменения колебательной энергии. Для сложных молекул, особенно в жидком состоянии, «тонкая вращательная структура» данной полосы обычно не может быть разрешена.

### *Соотношения между энергетическими и волновыми параметрами*

При взаимодействии молекулы с электромагнитным излучением происходит изменение энергии молекулы, которое определяется соотношением (1.6):

$$\Delta E = E_2 - E_1 \quad (1.6)$$

где  $E_2$  и  $E_1$  – энергии системы в конечном и начальном состояниях.

Электромагнитное излучение может быть охарактеризовано волновыми и энергетическими параметрами. В ИК-спектроскопии волновой параметр выражается волновым числом  $\nu$  (часто также называют частотой поглощения), имеющим размерность  $\text{см}^{-1}$  ( $\nu = 1/\lambda$ ,

где  $\lambda$  – длина волны). Связь между энергетическими и волновыми параметрами выражается следующим соотношением:

$$1 \text{ ккал/моль } (\Delta E) = 2.859 \cdot 10^{-3} \nu \text{ (см}^{-1}\text{)}.$$

Например, длине волны 400 нм отвечает волновое число 25000  $\text{см}^{-1}$  или энергия 71.5 ккал/моль.

### *Характеристические колебания*

Нелинейная молекула, содержащая  $n$ -атомов, имеет  $3n-6$  основных (фундаментальных) колебаний. У линейной молекулы число основных колебаний возрастает до  $3n-5$ . В зависимости от типа симметрии молекулы, в ИК-спектрах проявляются либо все фундаментальные, либо только часть из них.

Наряду с основными частотами в ИК-спектрах вследствие ангармоничности колебаний обычно присутствуют обертоны и составные частоты. Обертоны соответствуют частотам, кратным какой-либо частоте, а составные частоты являются суммами или разностями различных фундаментальных частот. Обертоны и составные частоты имеют невысокую интенсивность.

Колебание двухатомной молекулы можно приближенно рассматривать как колебание гармонического осциллятора, частота которого определяется уравнением (1.7):

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (1.7)$$

где  $\nu$  – частота колебания;  $K$  – силовая постоянная, характеризующая упругость связи; а  $\mu$  – приведенная масса осциллятора (уравнение 1.8)

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (1.8)$$

В многоатомной молекуле сохраняется симбатность частоты и величины  $K/\mu$  для отдельных атомных группировок. Если в такой атомной группировке силовые постоянные связи или массы сильно отличаются от параметров остальной части молекулы, то колебания наблюдаются в узком интервале частот и проявляются в спектрах всех соединений, содержащих эту группировку. Такие колебания получили название **характеристических**, или **групповых**. Так, характеристическими будут колебания групп, содержащих легкий атом водорода (C-H, O-H, N-H), и колебания групп с кратными связями (C=C, C=N, C=O, N=N).

В настоящее время ИК-спектры молекул широко применяются для следующих целей: а) для идентификации соединений, б) для

количественного анализа, в) для структурно-группового анализа, г) для изучения внутри- и межмолекулярных взаимодействий.

*Наиболее важные полосы поглощения в ИК-спектрах химических соединений*  
*Предельные углеводороды*

ИК-спектры предельных углеводородов характеризуются появлением полос поглощения, вызванных колебаниями связей С-С и С-Н. Полосы углеводородов, связанные с характеристическими частотами С-Н, находятся в трех областях:  $3000-2800\text{ см}^{-1}$ ,  $1400-1300\text{ см}^{-1}$  и около  $700\text{ см}^{-1}$ , рис. 1.12.

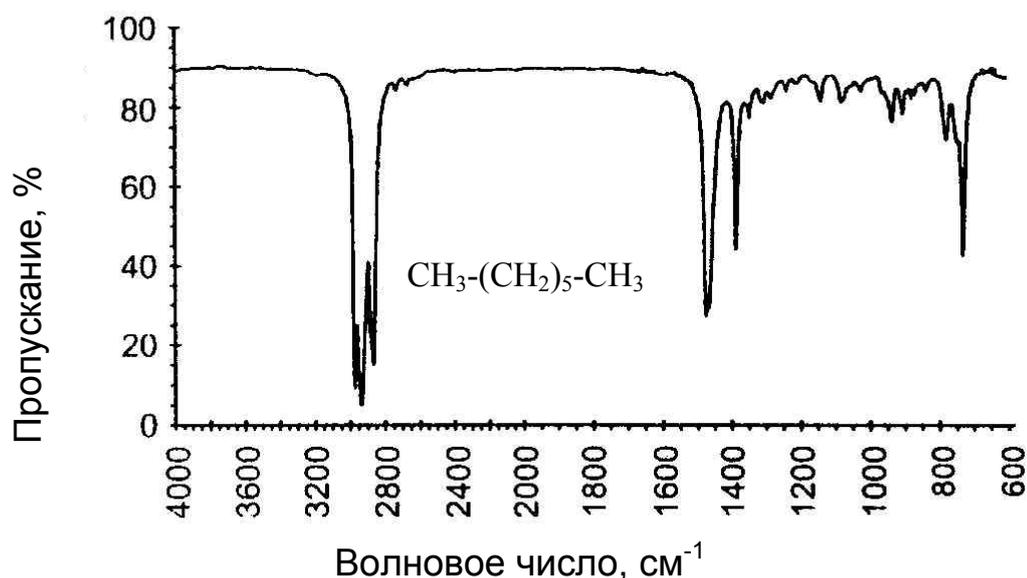


Рис. 1.12. ИК-спектр н-гептана

Поглощение в области  $3000-2800\text{ см}^{-1}$  обусловлено валентными колебаниями С-Н. Оно проявляется в виде сложной полосы поглощения, в которой пики при  $2962\text{ см}^{-1}$  и  $2872\text{ см}^{-1}$  принадлежат колебаниям метильной группы (асимметричные -  $\nu_{as}$  и симметричные -  $\nu_s$ ), а пики при  $2926$  и  $2853\text{ см}^{-1}$  относятся к валентным колебаниям метиленовой группы ( $\nu_{as}$  и  $\nu_s$ , соответственно). Положение этих полос поглощения хорошо сохраняется у всех типов алифатических углеводородов. Интенсивности полос зависят от числа метиленовых и метильных групп в молекуле углеводорода.

Поглощение в области  $1400-1300\text{ см}^{-1}$  и около  $700\text{ см}^{-1}$  обусловлено деформационными колебаниями С-Н связей.

## Алкены

Введение кратной связи в молекулу органического соединения приводит к появлению полос поглощения, характеризующих эту связь, и изменяет положение полос поглощения групп, непосредственно связанных с ней. В моноолефинах с валентными колебаниями C=C связана полоса поглощения в области  $1680-1640\text{ см}^{-1}$ . Это колебание не является строго валентным, поскольку наряду с растяжением связи C=C происходит изменение углов H-C=C, рис. 1.13.

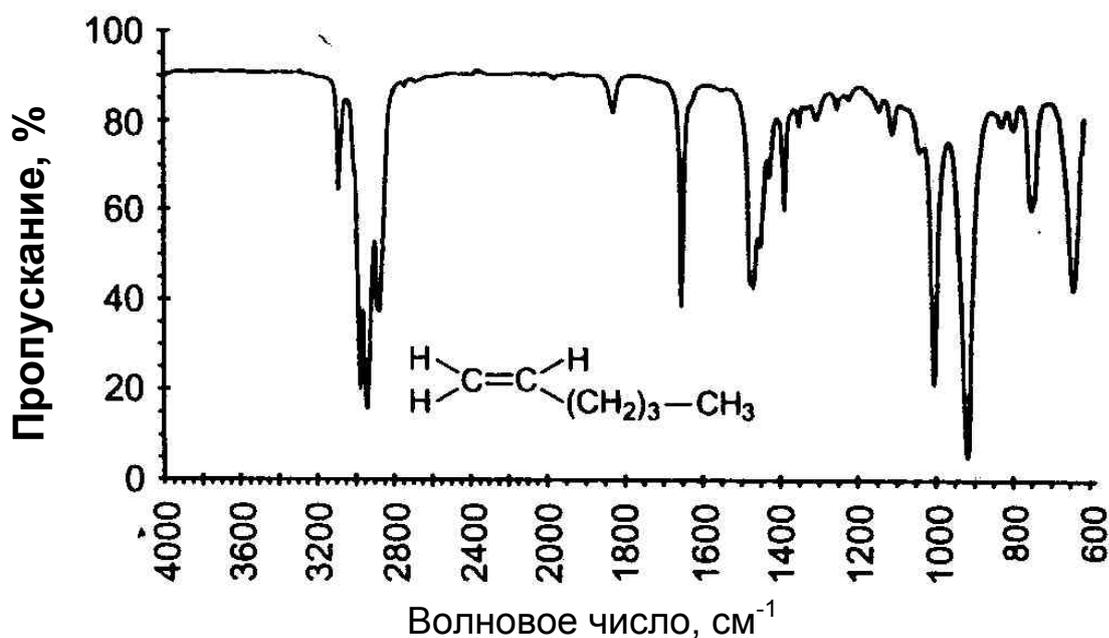


Рис. 1.13. ИК-спектр гексена-1.

В центральносимметричных этиленовых соединениях колебание  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$  неактивно вследствие запрета по симметрии (так как симметричные колебания происходят без изменения дипольного момента). В несимметричных молекулах интенсивность полосы поглощения увеличивается по мере смещения двойной связи на конец цепи. Положение полосы C=C внутри интервала  $1680-1640\text{ см}^{-1}$  зависит от степени замещения у связи C=C и геометрии молекулы, табл. 1.

Как видно из таблицы 1, увеличение числа заместителей повышает частоту  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ . Для транс-изомера частота  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ , как правило, выше, чем для цис-изомера.

Таблица 1  
Частоты колебания ( $\nu$ ) С=C связи алкенов

Структура алкена	$\nu$ , см <sup>-1</sup>	Соединение	$\nu$ , см <sup>-1</sup>
RCH=CH <sub>2</sub>	1648-1638	Гексен-1	1642
R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> C=CH <sub>2</sub>		3,3-диметилбутен-1	1645
R <sub>1</sub> CH=CHR <sub>2</sub> - <i>цис</i>	1658-1648	2-метилпентен-1	1653
R <sub>1</sub> CH=CHR <sub>2</sub> - <i>транс</i>	1662-1652	<i>цис</i> -пентен-2	1658
R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> C=CHR <sub>3</sub>	1678-1668	<i>транс</i> -пентен-2	1670
R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> C=CR <sub>3</sub> R <sub>4</sub>	1675-1665		

### *Ароматические углеводороды*

Ароматические соединения могут быть обнаружены по поглощению в трех областях: по валентным колебаниям С-Н ( $\nu_{\text{C-H}} > 3000$  см<sup>-1</sup>), скелетным колебаниям ароматических углерод-углеродных связей (1600-1500 см<sup>-1</sup>) и по интенсивному поглощению ниже 900 см<sup>-1</sup>, обусловленному деформационными колебаниями С-Н связей.

Полосы валентных колебаний связей С-Н имеют среднюю интенсивность и обычно представляют группу полос. В присутствии алкильных групп полосы поглощения ароматических С-Н связей появляются как плечи на основной полосе алифатических  $\nu_{\text{C-H}}$ .

Особенностью ИК-спектров бензольных углеводородов является интенсивное поглощение, находящееся в области ниже 900 см<sup>-1</sup>. Это поглощение относится к неплоским деформационным колебаниям С-Н ароматического кольца. Для самого бензола этому колебанию соответствует полоса 671 см<sup>-1</sup>. Для замещенных бензола частоты деформационных колебаний связей С-Н зависят от числа и положения заместителей.

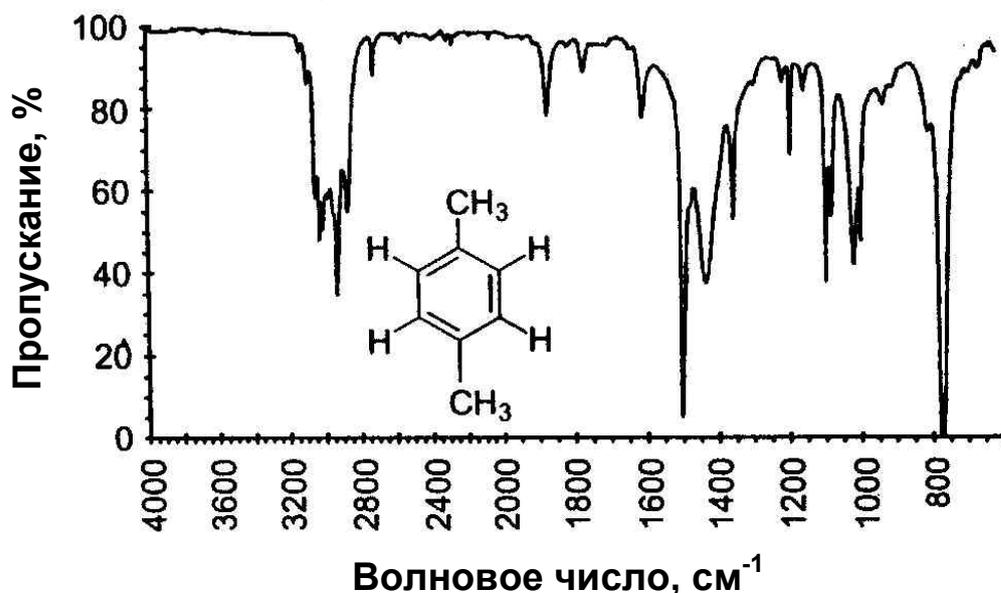


Рис. 1.14. ИК-спектр 1,4-диметилбензола.

### *Гидроксилсодержащие соединения*

Введение гидроксильной группы в молекулу приводит к появлению полос поглощения, связанных с колебаниями связей О-Н. Наиболее характерные полосы появляются в области  $3600\text{-}3000\text{ см}^{-1}$  (валентные колебания О-Н группы), рис. 1.15.

Валентные колебания О-Н группы являются характеристическими, поскольку в них принимает участие легкий атом водорода. Они наблюдаются в широком интервале частот ( $3600\text{-}3000\text{ см}^{-1}$ ), что связано со способностью гидроксильной группы образовывать водородные связи. Образование водородной связи влияет на положение и форму полос валентных колебаний О-Н связи.

Свободная, неассоциированная гидроксильная группа спиртов и фенолов имеет узкую полосу поглощения в области  $3670\text{-}3580\text{ см}^{-1}$ . Эта полоса обычно наблюдается в разбавленных растворах гидроксилсодержащих соединений в инертных растворителях. Идентификация полос свободной ОН-группы не вызывает затруднений, так как другие основные колебания не дают полос в этой области, а интенсивность обертонов намного ниже.

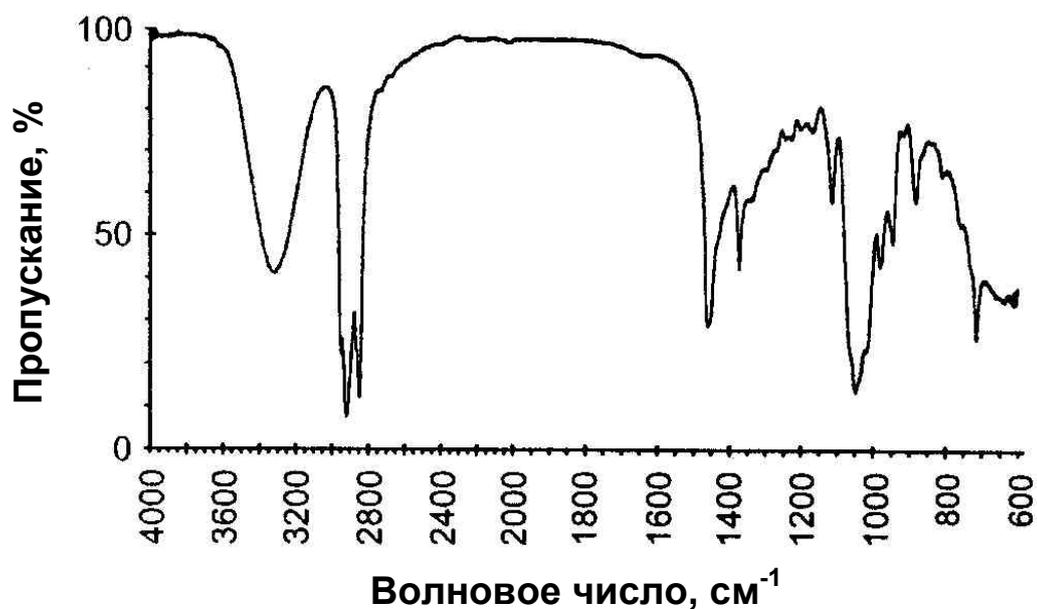


Рис. 1.15. ИК-спектр октанола-1.

Участие гидроксильной группы в образовании межмолекулярных водородных связей проявляется в смещении полосы поглощения в сторону меньших частот и значительном увеличении ее интенсивности. Образование водородных связей между молекулами спирта приводит к появлению димеров и ассоциатов. Для димеров характерно возникновение резкой полосы поглощения в области  $3550-3450\text{ см}^{-1}$ . В спектре ассоциатов наблюдается широкая полоса в области  $3400-3200\text{ см}^{-1}$ . Характерным признаком межмолекулярных водородных связей является изменение характера спектра в области  $3600-3200\text{ см}^{-1}$  при изменении концентрации гидроксилсодержащего соединения в инертном растворителе: при малых концентрациях гидроксилсодержащего вещества в спектре имеется узкая полоса поглощения, отвечающая свободной гидроксильной группе. Увеличение концентрации приводит к появлению димеров и ассоциатов и в спектре, наряду с полосой свободной ОН-группы появляются полосы поглощения в более длинноволновой области. Дальнейшее увеличение концентрации сопровождается возрастанием интенсивности поглощения полос связанных ОН-групп и уменьшением интенсивности полосы свободной гидроксильной группы.

Таким образом, ИК-спектры в области  $3600-3000\text{ см}^{-1}$  дают возможность исследовать водородные связи в различных химических соединениях. Изучение зависимости положения и интенсивности полос поглощения в этой области от концентрации гидроксилсодержащего соединения позволяет определить характер и прочность водородной связи.

## Соединения, содержащие карбонильную группу

ИК-спектры всех типов карбонильных соединений характеризуются интенсивным поглощением в области  $1900-1580\text{ см}^{-1}$ , обусловленным характеристическими колебаниями с участием группы  $\text{C}=\text{O}$ . На положение и интенсивность полос поглощения  $\text{C}=\text{O}$  влияет в первую очередь структура молекулы (геометрия молекулы; массы атомов, связанных с карбонильной группой; индукционные и мезомерные эффекты; стерические факторы). Кроме того, на частоту  $\text{C}=\text{O}$  влияют агрегатное состояние и растворитель (образование водородных связей или электростатические взаимодействия). Смещения, происходящие при этом, обычно меньше сдвигов, наблюдаемых под влиянием структурных факторов.

Высокая чувствительность карбонильного поглощения к изменению ближайшего окружения связана с тем, что это групповое колебание, в котором наряду с колебанием связи  $\text{C}=\text{O}$  принимают весьма существенное участие прилежащие углы и связи. Для отдельных классов химических соединений частоты поглощения  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  находятся в узком интервале, вследствие чего по положению полосы поглощения  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  можно сделать заключение о типе карбонильного соединения.

Для простейшего карбонилсодержащего соединения – муравьиного альдегида – колебание, связанное с  $\text{C}=\text{O}$ -группой, проявляется при  $1745\text{ см}^{-1}$ .

В **алифатических альдегидах** поглощение карбонильной группы находится в интервале  $1740-1720\text{ см}^{-1}$ . В газообразном состоянии частота  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  повышается. Например,  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  ацетальдегида в парах равно  $1752\text{ см}^{-1}$ , а пропионового альдегида –  $1757\text{ см}^{-1}$ .

В **насыщенных кетонах** частота карбонильной группы наблюдается в интервале  $1725-1705\text{ см}^{-1}$ . Как и для альдегидов,  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  в парах повышается ~ на  $20\text{ см}^{-1}$ . Для ацетона, например,  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  в парах  $1742\text{ см}^{-1}$ , а в растворах –  $1728-1718\text{ см}^{-1}$  в зависимости от растворителя.

В **карбоновых кислотах** частота колебаний  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  увеличивается. В парообразном состоянии или в разбавленных растворах в неполярных растворителях  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  наблюдается в области  $1790-1770\text{ см}^{-1}$ . Обычно наблюдаемое поглощение жидких карбоновых кислот в области  $1720-1700\text{ см}^{-1}$  принадлежит колебаниям карбонильной группы димера, рис. 1.16.

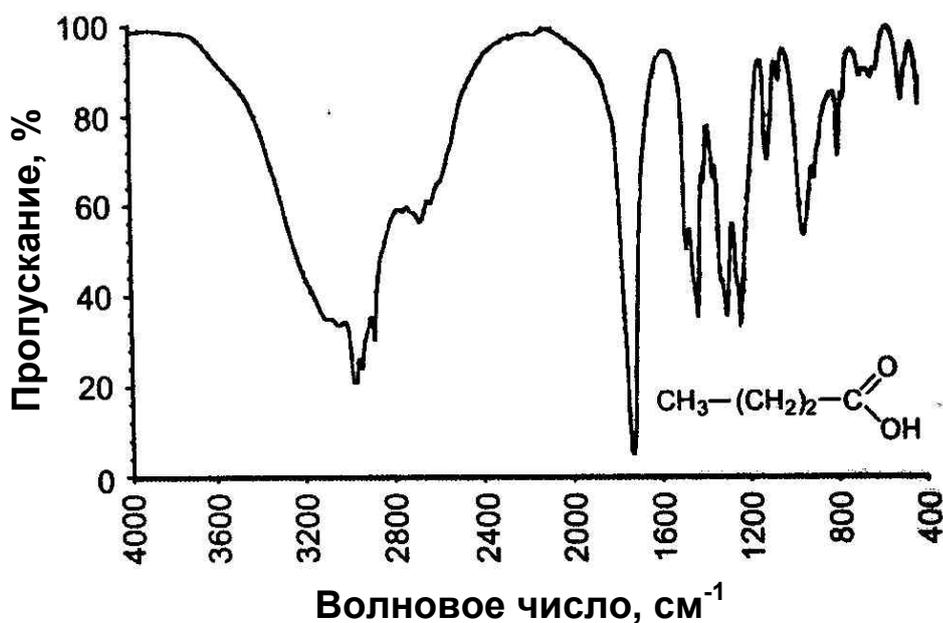


Рис. 1.16. ИК-спектр бутановой кислоты.

В твердом состоянии, когда ассоциация еще сильнее, полоса поглощения карбонильной группы смещена  $\sim$  на  $30 \text{ см}^{-1}$  в длинноволновую область.

Для **сложных эфиров** поглощение карбонильной группы наблюдается при  $1750 - 1735 \text{ см}^{-1}$ . Это значение  $\nu_{\text{C=O}}$  выше наблюдаемых величин  $\nu_{\text{C=O}}$  соответствующих ассоциированных карбоновых кислот, но ниже  $\nu_{\text{C=O}}$  мономерных кислот.

### Амины

Появление специфических полос поглощения в ИК-спектрах аминов связано с колебаниями связей N-H и C-N, которые проявляются в областях  $3500 - 3300$ ,  $1650 - 1500$ ,  $1360 - 1000 \text{ см}^{-1}$ .

Поглощение в области  $3500 - 3300 \text{ см}^{-1}$  вызвано валентными колебаниями связей N-H. Первичные амины в разбавленных растворах в инертных растворителях имеют две полосы поглощения, рис. 1.17. Более высокочастотная полоса ( $\sim 3500 \text{ см}^{-1}$ ) соответствует асимметричным валентным колебаниям, вторая полоса ( $\sim 3400 \text{ см}^{-1}$ ) – симметричным валентным колебаниям группы  $\text{NH}_2$ . Вторичные амины имеют в этой области только одну полосу валентных колебаний, рис. 1.18. У третичных аминов соответствующих полос поглощения нет, рис. 1.19.

Подобно гидроксильной группе аминогруппа склонна к образованию меж- и внутримолекулярных водородных связей. При этом полосы поглощения валентных колебаний NH смещаются в

низкочастотную сторону. Эти смещения меньше, чем в случае гидроксильной группы.

При неполной ассоциации аминов, наряду с полосами ассоциированной аминогруппы, можно наблюдать и полосы свободной аминогруппы.

Поглощение в области  $1650-1500\text{ см}^{-1}$  определяется деформационными колебаниями аминогруппы. Первичные амины имеют интенсивную полосу плоских антисимметричных деформационных колебаний в интервале  $1650-1580\text{ см}^{-1}$ . Полоса деформационных колебаний группы NH вторичных аминов, расположенная в области  $1600-1500\text{ см}^{-1}$ , обычно слабая и определяется трудно.

В области  $1360 - 1000\text{ см}^{-1}$  у всех типов аминов появляются полосы поглощения, вызванные участием C-N связи в скелетных колебаниях молекулы.

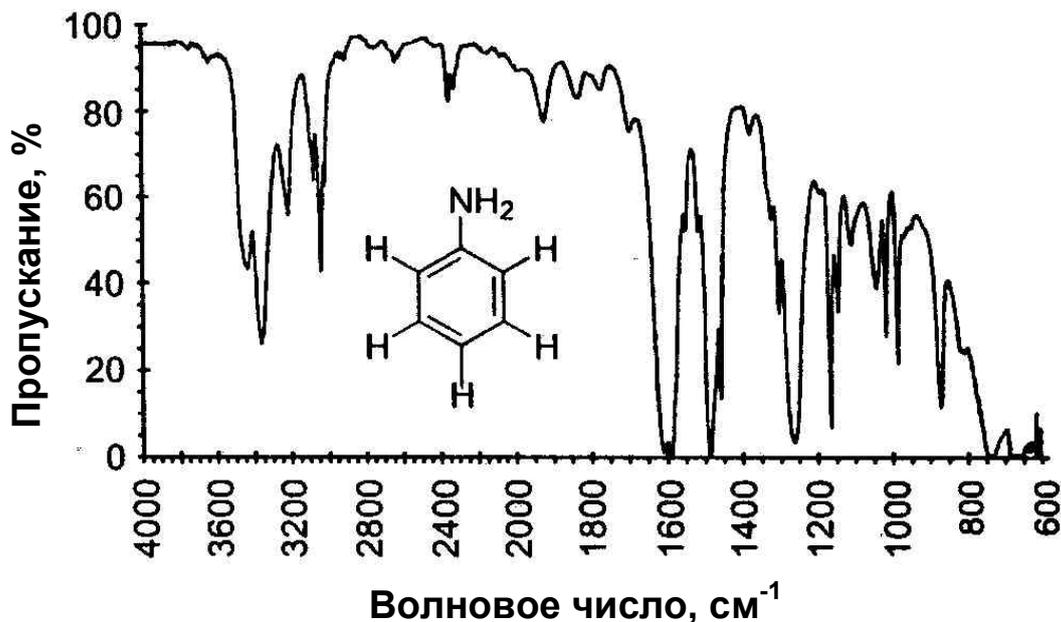


Рис. 1.17. ИК-спектр первичного амина (анилина).

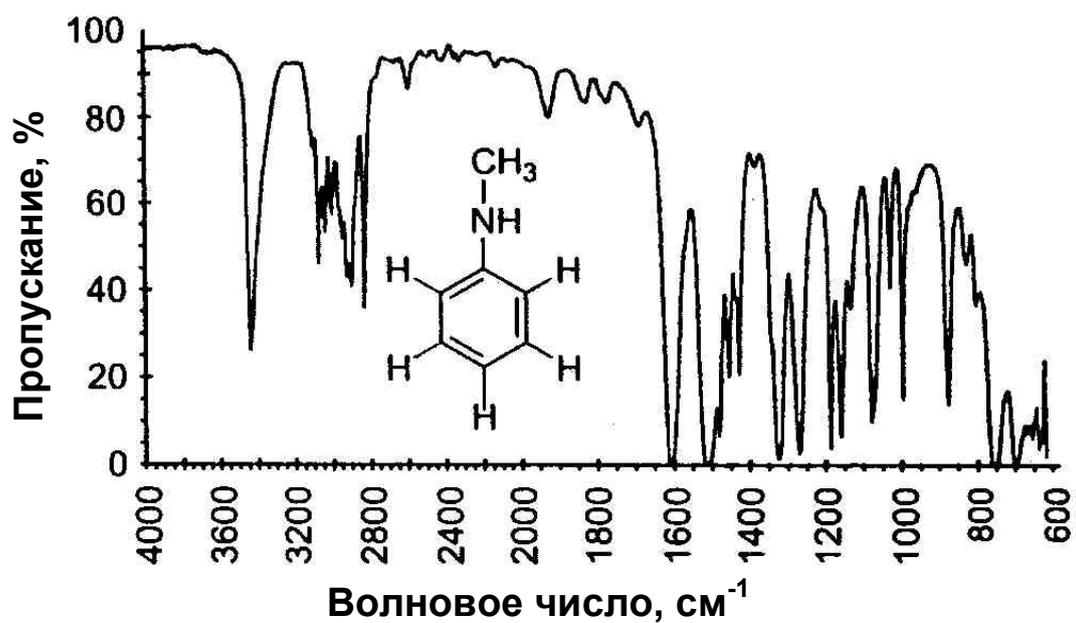


Рис. 1.18. ИК-спектр вторичного амина (N-метиланилина).

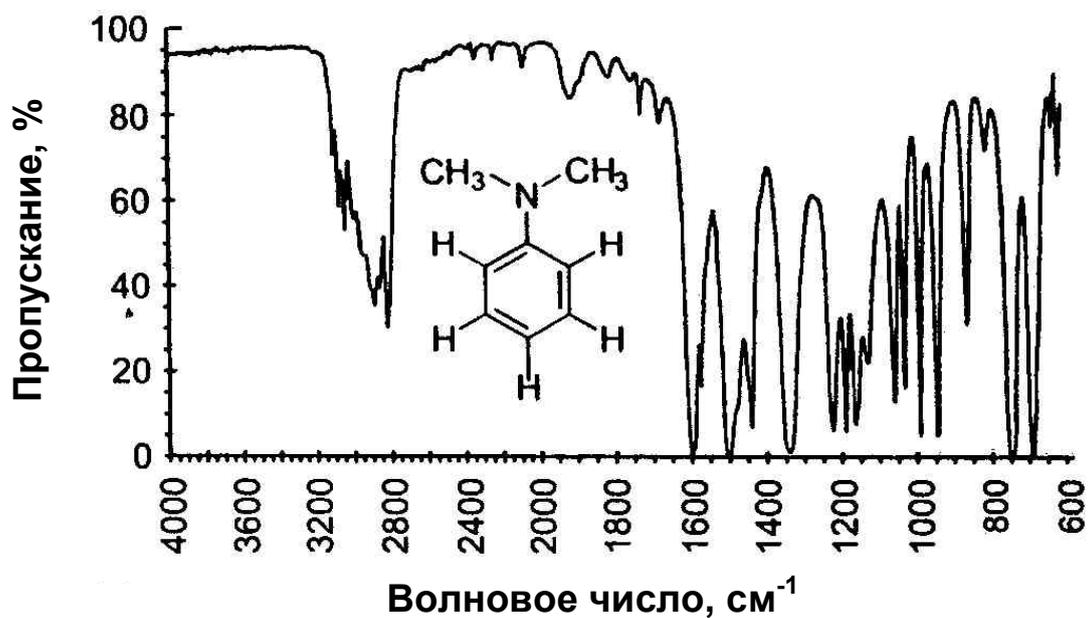


Рис. 1.19. ИК-спектр третичного амина N,N-диметиланилина.

## Устройство ИК-спектрометра

Прибор, на котором проводятся измерения инфракрасных спектров называется ИК-спектрометр. На рис 1.20 представлен общий вид ИК-спектрометра Vector 22 фирмы Bruker, на котором проводится спецпрактикум.

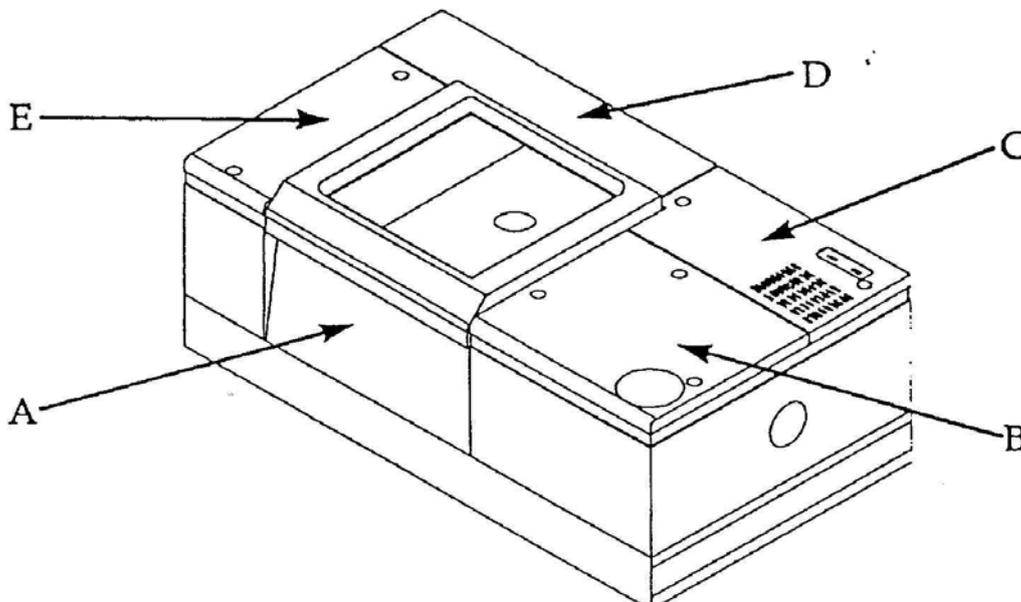


Рис. 1.20. Внешний вид ИК-спектрометра Vector 22, показывающий расположение отсеков: А – кюветный отсек, В – интерферометра, С – отсек источника излучения, D – отсек блока питания, E – отсек детектора.

На рис. 1.21 представлен оптический путь в ИК-спектрометре. Частотный диапазон ИК спектрометра Vector 22 – от 7500 до 370  $\text{см}^{-1}$ . Он имеет разрешение до 1  $\text{см}^{-1}$ .

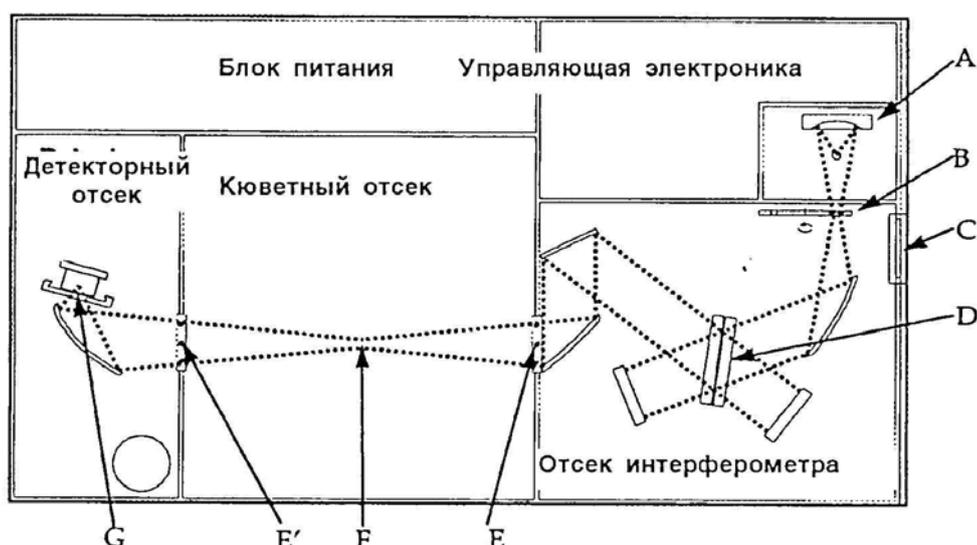


Рис. 1.21. Оптический путь в приборе Vector 22. Главные компоненты оптической схемы: А – ИК источник, В – пленочный диск, С – выходной порт, D – светоделитель, Е – окно камеры, Е' – дополнительное окно камеры, F – держатель образца, G – детектор.

Типичные ИК-спектроскопические кюветы представлены на рис. 1.22. В их состав входят: два плоскопараллельных окошка, разделенных стеклянным стаканчиком или прокладкой из свинцовой и алюминиевой фольги или тефлона. Материалом окошек в зависимости от их назначения служит кварц, стекло или галоидные соли щелочных или щелочноземельных металлов. Окошки и прокладки прочно закреплены в специальном держателе. Толщина прокладки и высота стаканчика должны быть точно известны, поскольку ими определяется толщина поглощающего слоя.

При работе с растворами необходимо иметь в виду ряд требований:

А) Растворители должны быть достаточно прозрачными в области поглощения исследуемого вещества;

Б) Растворители не должны химически взаимодействовать с растворенным веществом;

В) Растворители не должны взаимодействовать с материалом кювет.

Наиболее удобными растворителями при измерении ИК-спектров являются тетрахлорметан, хлороформ, тетрахлорэтилен и сероуглерод.



Рис. 1.22. Общий вид ИК спектроскопической кюветы.

### *Порядок включения прибора и записи спектров*

1) Включите ИК спектрометр. После инициализации (приблизительно через 30 сек) лампочка состояния прибора должна начать мигать зеленым светом. В противном случае – обратиться к преподавателю.

2) Включите компьютер и монитор.

3) Войдите в операционную систему (Windows, OS2) и затем в управляющую программу OPUS.

4) Откройте диалоговое окно и выберите опцию *Measurement*.

5) Следующий этап - запись спектра базовой линии. После выбора опции *Measurement* в открывшемся окне, рис. 1.23, введите число сканов (стрелка С). В данном случае число сканов - 32. Введите описание эксперимента и директории, где будет храниться файл (стрелка В). В данном случае образец называется Sample, файл называется Work, а директория, где будет храниться файл - E:\opus\MEAS. Затем нажмите закладку "*Start Background Measurement*" (стрелка Е) и прибор начнет снимать спектр базовой линии. Этот спектр будет автоматически вычтен сразу после записи спектра с образцом.

Закладки Experiment (стрелка А), Repeat Control (стрелка D), Special Measurements (стрелка F), Setup (стрелка А), Test/Optic Utilities (стрелка I), Align Mode (стрелка G) нажимать не рекомендуется без разрешения преподавателя, поскольку в этом случае могут быть сбиты настройки программы.

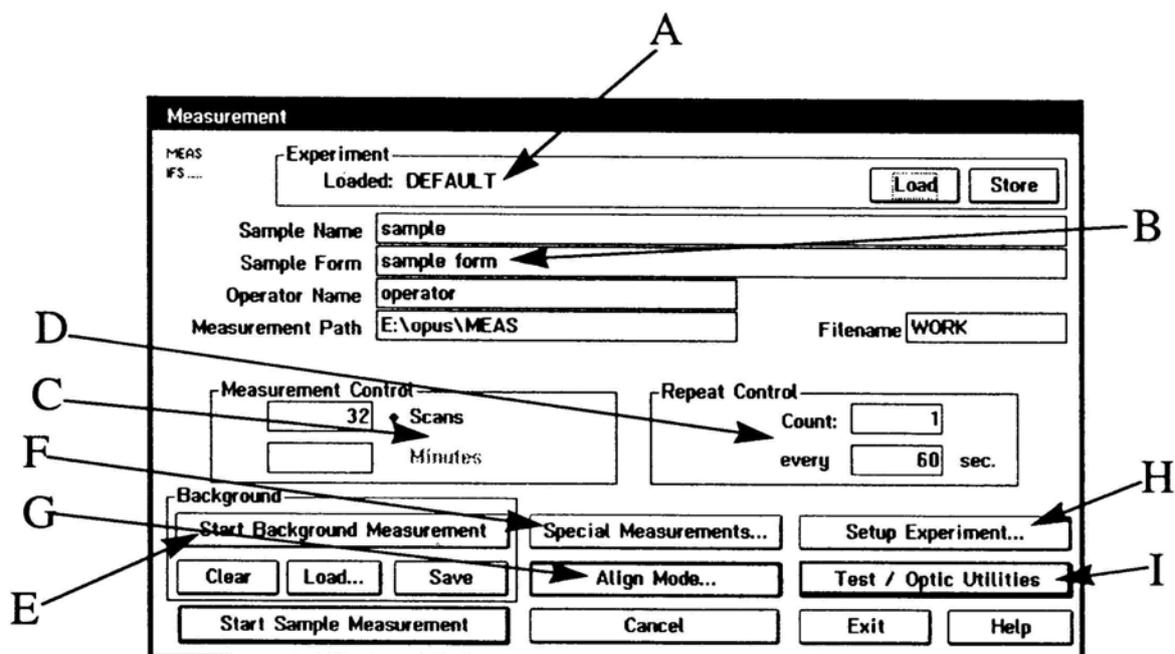


Рис. 1.23. Диалоговое окно *Measurement*.

б) Следующий шаг – запись спектра образца. Откройте кюветный отдел. Установите кювету с образцом в кюветодержатель. Закройте кюветный отдел ИК спектрометра. Затем в диалоговом окне “*Measurement*” нажмите закладку “*Start Sample Measurement*”, чтобы прибор начал снимать спектр исследуемого образца. Полученный спектр запишется под именем “*Work*” в директории *E:\opus\MEAS*.

### Работа 1.3. Определение класса органических веществ по частотам поглощения в ИК-спектрах.

Метод ИК-спектроскопии позволяет определять к какому классу веществ относятся исследуемые образцы. Это можно сделать на основе анализа полос поглощения валентных колебаний органических соединений. Наличие характеристической группы в молекуле позволяет идентифицировать ее по ИК-спектру и, следовательно, определить принадлежность образца к определенному классу соединений.

Порядок работы:

- 1) Записать спектр базовой линии

2) Записать спектры образцов из 5 пробирок, в которых находятся н-гексан, бензол, этанол, ацетон, ацетонитрил.

3) Найти в спектрах полосы поглощения характеристических групп исследуемых соединений и определить в какой из пробирок находится каждое вещество.

### **Работа 1.4. Определение содержания воды в алифатических спиртах.**

На сегодняшний день одним из важных аспектов применений физико-химических методов является количественный анализ состава многокомпонентных смесей. Метод ИК-спектроскопии позволяет с достаточно высокой точностью определить содержание воды в различных органических веществах. Этот метод основан на том, что вода имеет интенсивную полосу деформационных колебаний в области  $1700 - 1600 \text{ см}^{-1}$ . Очень часто этот метод используется для определения содержания воды в алифатических спиртах. В первую очередь при анализе содержания воды необходимо построить калибровочный график зависимости интенсивности (интегральной интенсивности) полосы поглощения деформационных колебаний молекулы воды от ее концентрации в образце.

Порядок работы:

1) Записать спектры четырех растворов воды в чистом 1-бутаноле с известными концентрациями.

2) Найти и определить интенсивность полосы поглощения деформационного колебания воды в ИК-спектрах (область  $1700 - 1600 \text{ см}^{-1}$ ).

3) Построить калибровочный график зависимости интенсивности полосы поглощения деформационных колебаний молекулы воды от ее концентрации в растворе.

4) Записать спектры двух растворов воды в 1-бутаноле с неизвестной концентрацией.

5) Определить интенсивность полосы поглощения деформационного колебания воды в ИК-спектрах (область 1700 – 1600 см<sup>-1</sup>) и рассчитать концентрацию воды в образце по калибровочному графику.

### Работа 1.5. Определение энтальпии образования водородной связи в растворах фенола по смещению полосы ОН-колебаний

Наиболее широкое распространение имеют косвенные спектроскопические методы исследования водородной связи. Они заключаются в исследовании изменения частот, интенсивностей и формы контура характеристических полос основных колебаний тех группировок, атомы которых участвуют непосредственно в образовании водородной связи. Так, для спиртов обычно изучают полосу валентного колебания ОН-связи. При образовании водородной связи частота этой полосы понижается, а интенсивность и полуширина – существенно увеличиваются. Существует корреляция между смещением полосы ОН-колебания и энтальпией образования водородной связи. Так, для фенола при ассоциации с различными протонакцепторами (В) по схеме:



в растворах ССl<sub>4</sub> выполняется соотношение (1.9)

$$\Delta H = 0.016\Delta\nu_{OH} + 0.63 \quad (1.9)$$

где  $\Delta\nu_{OH}$  – разность волновых чисел полосы валентного колебания ОН-связи мономерных и связанных в комплекс молекул (см<sup>-1</sup>).  $\Delta H$  – энтальпия образования комплекса за счет Н-связи (ккал/моль).

В настоящей работе предлагается определить энтальпию образования водородной связи в димерах фенола.

Порядок работы:

1) Записать спектр разбавленного раствора фенола (С=0.005 моль/л) в ССl<sub>4</sub> в области валентных колебаний ОН-связи (3700-3000 см<sup>-1</sup>) в слое 5 мм.

2) Записать спектр концентрированного раствора фенола (С=5 моль/л) в тонком слое.

3) Найти в спектре волновые числа максимума полос мономерной и ассоциированной ОН-группы.

4) Рассчитать по формуле энтальпию образования водородной связи в самоассоциатах фенола.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Драго Р. Физические методы в химии. М.: Мир. 1981. Т.1.
2. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: Высшая школа, 1971.
3. Пентин Ю.А., Вилков Л.В. Физические методы исследования в химии. М.: Мир, 2003.
4. Ельяшевич М.А. Атомная и молекулярная спектроскопия. Молекулярная спектроскопия. М.: Либроком, 2009.
5. Отто М. Современные методы аналитической химии. М.: Техносфера, 2003. Т.1.

## 2. КАЛОРИМЕТРИЯ И ТЕРМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

### *Основные понятия и определения*

Для правильной интерпретации результатов калориметрических экспериментов необходимо знание основ термодинамики.

Объект изучения термодинамики – термодинамические системы, т.е. макроскопические объекты, отделенные от окружающего пространства реальной или мысленной поверхностью. Вещество или тело, помещенное в калориметр, следует рассматривать как термодинамическую систему.

Системы бывают:

– **открытые**, в которых существует обмен энергией и веществом с окружающей средой;

– **закрытые**, в которых существует обмен энергией с окружением, но нет обмена веществом;

– **изолированные**, в которых нет обмена с окружением ни энергией, ни веществом.

Любая термодинамическая система или процесс могут быть охарактеризованы количественно с помощью **термодинамических функций**. Выделяют следующие виды этих функций:

– **Функции состояния**, которые зависят только от состояния системы и не зависят от пути процесса, по которому это состояние получено. Примеры функций состояния: внутренняя энергия  $U$ , энтальпия  $H$ , энергия Гиббса  $G$ , энергия Гельмгольца  $F$ , энтропия  $S$ .

– **Функции перехода**, значение которых зависит от пути процесса, по которому происходит изменение системы. Примеры функций перехода: работа  $A$  и теплота  $Q$ .

Изучение тепловых эффектов химических процессов составляет содержание раздела термодинамики – термохимии. В большинстве случаев исследуемые процессы протекают при постоянном объеме или постоянном давлении и отсутствии других видов работы, кроме работы объемного расширения. Тогда, согласно первому закону термодинамики, при постоянном объеме количество выделяемой в ходе процесса теплоты равно изменению внутренней энергии с обратным знаком:  $Q_V = -\Delta U$ , а при постоянном давлении – изменению энтальпии с обратным знаком:  $Q_P = -\Delta H$ .

Другими словами, в этих случаях тепловой эффект химической реакции или физико-химического процесса равен изменению функции состояния. Это означает, что при постоянном давлении и или объеме с тепловыми эффектами можно обращаться как с функциями, изменение которых не зависит от пути, по которому осуществляется

интересующее нас превращение. Это свойство теплового эффекта находит широкое применение в практических исследованиях.

Приборы, предназначенные для измерения тепловых эффектов, называются **калориметрами**. Калориметры классифицируют по принципу измерения теплового эффекта, характеру теплообмена калориметрической ячейки с окружающей средой, а также по типу изучаемых процессов. Различают калориметры сгорания, испарения, смешения, титрования. На практике применяются следующие режимы калориметрических измерений:

1. *Изотермический режим*. В этом режиме оболочка калориметра и калориметрическая система имеют постоянную и равную температуру:  $T_{изм}=T_{об}=const$ . При изотермических измерениях необходима компенсация возникающего теплового потока реакции. Он компенсируется теплотой фазового перехода материала оболочки или термоэлектрическим эффектом, величина которых измеряется.

2. *Изопериболический режим*. Температура оболочки калориметра поддерживается постоянной:  $T_{об}=const$ . При этом температура измерительной системы  $T_{изм}$  в начальный момент времени равна температуре оболочки  $T_{изм}=T_{об}$ , а затем меняется пропорционально мощности теплового потока исследуемого процесса. Через некоторое время после завершения этого процесса температуры измерительной системы и оболочки вновь становятся одинаковыми. В ходе эксперимента измеряется площадь пика на зависимости мощности теплового потока от времени.

3. *Адиабатический режим*. Теплообмен между калориметрической системой и оболочкой калориметра полностью исключен. Для этого температуру оболочки в ходе измерений поддерживают равной температуре калориметрической системы:  $T_{об}(t)=T_{изм}(t)$ . В ходе эксперимента измеряется тепловой эффект, сообщаемый оболочке для поддержания равенства ее температуры с температурой калориметрической системы.

Адиабатические калориметры применяют для реакций, где скорость выделения теплоты в ходе реакции невелика.

4. *Сканирующий режим*. Температура оболочки  $T_{об}$  или калориметрической системы  $T_{изм}$  линейно изменяется во времени. Один из типичных способов – нагревание оболочки с постоянной скоростью. При этом температура системы повышается с некоторым запаздыванием.

$$T_{об} = (T_{об})_0 + at$$

В современных сканирующих калориметрах имеется возможность широкого выбора рабочих температур. С помощью этих калориметров может быть изучен широкий спектр физических и химических

процессов: фазовые и полиморфные переходы, процессы упорядочения структур, кинетика химических реакций.

В настоящем пособии представлено руководство по применению полуадиабатического, изопериболического и сканирующего калориметров для выполнения ряда лабораторных работ.

## 2.1. Полуадиабатическая калориметрия

Абсолютно адиабатический режим (так же, как и абсолютно изотермический) реально недостижим. Это скорее некоторая абстракция. Любая калориметрическая ячейка изготавливается из реальных материалов, которые имеют конечную (отнюдь не нулевую) теплопроводность. Поэтому невозможно полностью исключить теплообмен между ячейкой и окружающей средой. В калориметрах, называемых адиабатическими, теплообмен с окружающей средой минимизируется тем, что калориметрическая ячейка помещается в оболочку, температура которой «точно» следит за температурой ячейки. Слово «точно» взято в кавычки потому, что и в этом случае *абсолютная* адиабатичность не может быть достигнута потому, что любая система управления температурой оболочки будет иметь какое-то запаздывание. Ситуация осложняется тем, что в любой калориметрической ячейке могут иметь и имеют место градиенты температура.

В адиабатическом калориметре теплообменом между ячейкой и окружающей средой просто пренебрегают. Естественно это вносит некоторую погрешность в результаты измерений. Существуют способы, позволяющие оценить максимальную величину такой погрешности. Фактически, считать ли некий калориметр адиабатическим или нет, зависит от того, какие требования предъявляются к точности измеряемых тепловых эффектов. В современной калориметрии прецизионными принято считать тепловые эффекты, полученные с точностью до десятых и сотых долей процента. Адиабатический калориметр с такой низкой погрешностью может быть реализован только с помощью нескольких температурных экранов, следящих за температурой ячейки. Если бы нас устраивала точность порядка двух - трех процентов (возможно и были такие времена на заре развития термохимии), то в качестве калориметрической ячейки мы могли бы взять простой сосуд Дьюара, помещенный в термостат, пренебречь теплообменом и считать такую систему адиабатической. И уже совсем утрированно: если нас не пугают погрешности в 10 и 20%, мы можем взять обычную кастрюлю, налить в нее определенное количество воды, опустить в нее

кипятильник известной мощности, засечь с помощью секундомера время необходимое для закипания (нагрев от комнатной температуры, например 20 градусов Цельсия, до 100 градусов Цельсия). Из массы воды, мощности нагревателя и потребовавшегося времени можно рассчитать термодинамическую величину – среднюю теплоемкость воды. Это ни что иное, как калориметрический эксперимент. Поскольку мы пренебрегли (в данном случае достаточно большим) теплообменом, мы, фактически, посчитали нашу «калориметрическую систему» адиабатической.

Существует, однако, довольно широкий круг калориметров, в которых теплообмен с окружающей средой не исключен полностью, но он не игнорируется, а учитывается с помощью поправок к тепловому эффекту. Точность таких приборов удовлетворительна тогда, когда теплообмен относительно невелик, то есть в грубом приближении такие калориметры работают в режиме, близком к адиабатическому. К такому типу часто относятся калориметры растворения и калориметры сгорания. В научной литературе этот тип калориметра назывался по-разному: «псевдоадиабатический калориметр», «адиабатический калориметр с утечкой теплоты». В последние годы для калориметров этого типа часто используется термин «*полуадиабатический*» (semi-adiabatic). То есть этот тип калориметра по режиму работы близок к адиабатическому и для понимания принципов расчета теплового эффекта начать следует так же с адиабатического калориметра.

На рис. 2.3 показана зависимость от времени температуры в калориметрической ячейке идеального адиабатического калориметра.

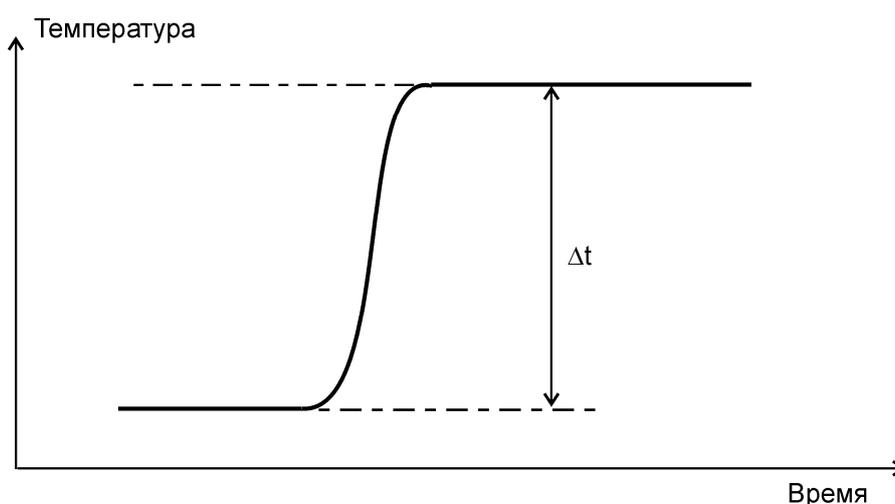


Рис. 2.3. Ход температуры в ячейке идеального адиабатического калориметра

По определению, у адиабатического калориметра отсутствует теплообмен с окружающей средой. Поэтому, как видно из рис. 2.3, температура калориметрической ячейки до начала исследуемого процесса не меняется: начальный участок калориметрической кривой параллелен оси абсцисс. В результате изучаемого процесса выделяется теплота, которая полностью тратится на увеличение температуры калориметрической ячейки. На конечном участке температура также не меняется, поскольку теплообмена с окружающей средой нет.

Величина теплового эффекта пропорциональна величине «скачка» температуры ( $\Delta t$ ):

$$Q = C \cdot \Delta t \quad (2.1)$$

Коэффициент пропорциональности  $C$  в этом уравнении называют постоянной калориметрической ячейки. Это теплоемкость калориметрической ячейки, она может быть рассчитана, исходя из удельных теплоемкостей и масс материалов, использованных для изготовления ячейки, а также теплоемкостей и масс реагентов, помещенных в нее. Однако, гораздо проще и точнее определять эту величину с помощью процедуры калибровки. Для этого в калориметрическую ячейку вводится известное количество теплоты  $Q_k$  и измеряется соответствующий температурный скачок  $\Delta t_k$ . Постоянную или «калибровочный коэффициент» калориметрической ячейки можно вычислить по уравнению:

$$C = \frac{Q_k}{\Delta t_k}$$

В реальном калориметре абсолютной адиабатичности достичь невозможно. Можно лишь более или менее приблизиться к адиабатичности, максимально снизив теплообмен. Ход температуры в таком калориметре показан на рис. 2.4. Для корректного определения величины  $\Delta t$  здесь имеет принципиальное значение правильное определение времени начала изучаемого процесса и его завершения. На рис. 2.4 они обозначены как  $\tau_b$  и  $\tau_e$ . Определяются они как абсциссы точек отрыва реальной калориметрической кривой от касательных, продолжающих линию хода температуры до и после изучаемого процесса. В калориметрии принято называть участок калориметрической кривой до точки  $\tau_b$  *начальным периодом*; между точками  $\tau_b$  и  $\tau_e$  – *главным периодом*, а после точки – *конечным периодом*. Разница значений ординаты в точках конца и начала изучаемого процесса  $\Delta t'$  представляет собой лишь приблизительную оценку истинного скачка температуры  $\Delta t$ , поскольку ко времени  $\tau_e$  часть теплоты исследуемого процесса успевает рассеяться в результате теплообмена.

Полное отсутствие теплообмена до момента времени  $\tau_b$ , как это показано на рис. 2.4, может наблюдаться лишь в одном исключительном случае, когда исходная температура в ячейке точно равна температуре окружающей среды. Если это не так, то в реальном эксперименте мы можем получить калориметрическую кривую, например, такую, как на рис. 2.5.

При расчете истинного скачка температуры  $\Delta t$  к реально измеряемой величине  $\Delta t'$  рассчитывается поправка, зависящая от длительности изучаемого процесса, наклона начального и конечного участка калориметрической кривой в точках  $\tau_b$  и  $\tau_e$ , а также формы кривой на участке от  $\tau_b$  до  $\tau_e$ .

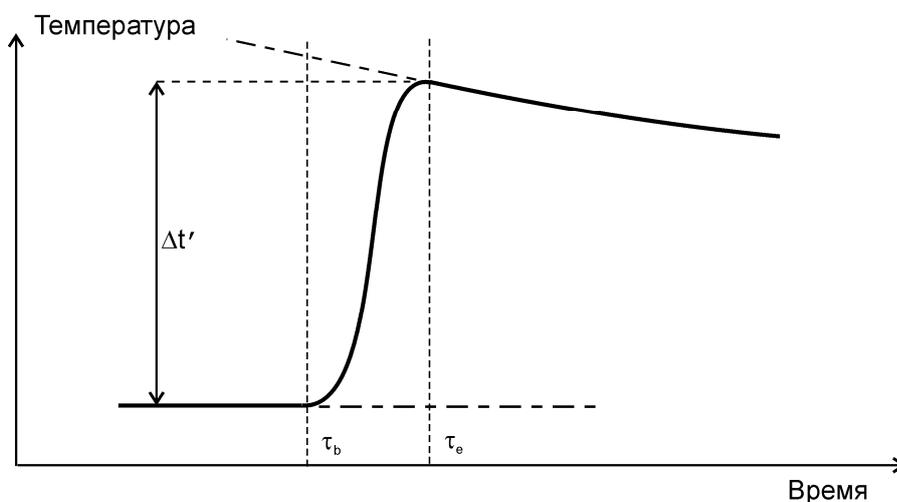


Рис. 2.4. Зависимость температуры от времени в ячейке адиабатического калориметра с утечкой теплоты

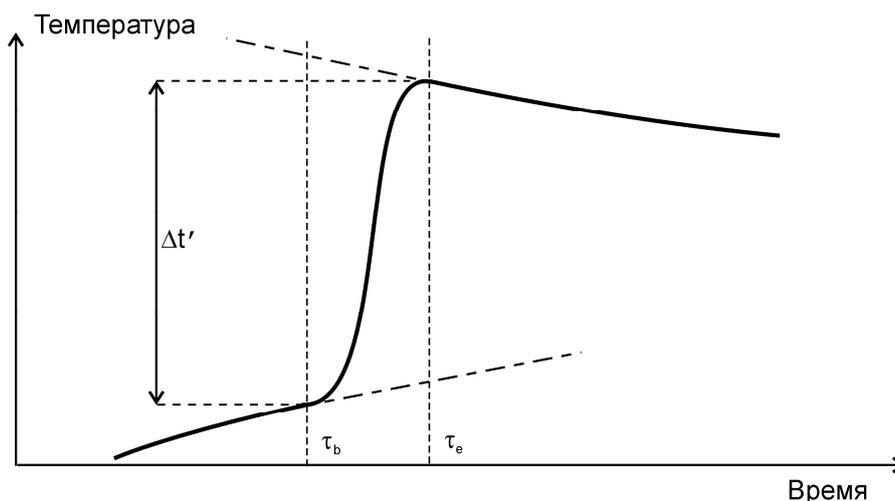


Рис. 2.5. Пример реальной калориметрической кривой

Величина температурной поправки определяется чаще всего методом Реньо-Пфаундлера. По начальному и конечному периоду

определяется характер и параметры теплообмена ячейки с окружающей средой. Предполагается, что теплообмен может быть описан законом теплопередачи Ньютона, то есть скорость изменения температуры в калориметрической ячейке прямо пропорциональна разности температур ячейки ( $T$ ) и окружающей среды ( $T_{\infty}$ )

$$\frac{dT}{d\tau} = k \cdot (T_{\infty} - T)$$

Две неизвестные величины в этом уравнении ( $k$  и  $T_{\infty}$ ) определяются из измеренных значений тангенсов наклона касательных в точках  $\tau_b$  и  $\tau_e$ . Затем это уравнение интегрируется на участке от  $\tau_b$  до  $\tau_e$ .

В современных калориметрах температура в ячейке измеряется с точностью до  $10^{-6}$  градуса. Естественно, что метод Реньо-Пфаундлера даст абсолютно точную поправку на теплообмен лишь в том случае, если температура окружающей среды в процессе опыта остается постоянной примерно в тех же пределах. Реально комнатная температура в процессе эксперимента может меняться до нескольких десятых и даже целых градусов. Ситуация несколько облегчается тем, что колебания температуры внешней поверхности ячейки могут быть в значительной степени сглажены, если ячейка помещена в массивный (а значит, инерционный) калориметрический блок. Тем не менее, метод Реньо-Пфаундлера дает в этих случаях некую эффективную поправку, которая может содержать ошибку. Поэтому в высококачественных калориметрах калориметрический блок с калориметрической ячейкой помещается в термостат, параметры которого во многом определяют возможности калориметра по чувствительности и точности.

На кафедре физической химии имеются 4 модели калориметров, которые относятся к описанному типу. По типу изучаемых процессов их можно также отнести к калориметрам растворения.

Первый из них (рис. 2.6) – это калориметр учебно-лабораторного комплекса «Химия». Это простейший калориметр, используемый на общем практикуме для демонстрации принципов работы калориметра. Имеет простейший датчик температуры с чувствительностью  $10^{-3}$  градуса. В качестве ячейки используется химический стаканчик на 100 мл. Термостатирование отсутствует, если не считать пенополипропиленовой оболочки для стаканчика. Простейшее устройство ввода, изготовленное из одноразового медицинского шприца, ограничивает область применения только водными растворами.

На следующем рисунке (2.7) изображен более сложный калориметр американской фирмы «Parr Instruments». Его чувствительность на порядок выше, чем у предыдущего прибора ( $10^{-4}$  градуса). Используется электронная система управления со встроенным процессором. Материалы устройства ввода: стекло и фторопласт, то есть возможна работа не только в водных растворителях. Однако конструкция устройства ввода – сбрасываемая чашечка – подразумевает возможность просачивания растворителя. Для надежных измерений навески растворяемого вещества должны быть достаточно велики (несколько грамм), поэтому трудно достигнуть условий предельного разбавления. Недостатком также является отсутствие термостатирования. Этот прибор также используется в физико-химическом практикуме.

На рис. 2.8 показан калориметр, изготовленный на кафедре физической химии. Особенностью прибора является дифференциальная схема. То есть калориметр состоит из двух калориметрических ячеек, подключенных к измерительной системе так, что сигналом является не температура в какой-либо ячейке, а разность температур между ними. Дифференциальная схема позволяет снизить некоторые виды наводок, например, из-за колебаний температуры окружающей среды, или электрические наводки на измерительную схему. Первый аналог этого калориметра был изготовлен в начале 70 годов. С тех пор на разных кафедрах (КФХ, КОХ, КВМиЭОС) было изготовлено около десятка экземпляров. Усовершенствования, вносимые в более поздние экземпляры, касались в основном измерительной и управляющей системы (повышение чувствительности и связь с компьютером), а также улучшение системы термостатирования калориметрических ячеек. Экземпляр, изображенный на фото, имеет чувствительность по температуре  $10^{-5}$  градуса, а термостат позволяет поддерживать стабильность температуры порядка  $\pm 2 \cdot 10^{-4}$  градуса. Этот прибор используется при выполнении научно-исследовательских работ, а также курсовых и дипломных работ. С 70 годов экспериментальные данные, полученные на подобных калориметрах, были включены не менее чем в 150 научных публикаций. На их основе были защищены не менее десятка кандидатских диссертаций и не менее трех докторских.



Рис. 2.6. Калориметр учебно-лабораторного комплекса (УЛК) «Химия», разработанного в Томском политехническом университете



Рис. 2.7. Калориметр растворения, производимый фирмой «Parr Instruments» (США)



Рис. 2.8. Калориметр растворения, изготовленный сотрудниками кафедры физической химии КФУ



Рис. 2.9. Прецизионный калориметр растворения-титрования, производимый фирмой «ГА Instruments». На переднем плане – калориметрическая ячейка; на заднем плане – термостат ТАМ III.

Прецизионный калориметр растворения фирмы «ГА Instruments» появился на кафедре физической химии относительно недавно. Это лучший промышленно производимый калориметр растворения. Он имеет чувствительность по температуре  $10^{-6}$  градуса, а термостат поддерживает постоянство температуры на уровне  $10^{-5}$  градуса. Высококачественное термостатирование вместе с рядом других конструктивных особенностей позволяет, в том числе с высокой точностью, получать тепловые эффекты медленных процессов (длительностью 1 час и более). Для сравнения предыдущий тип калориметра (рис. 2.8) позволяет получать тепловой эффект растворения с удовлетворительной точностью только в том случае, если процесс растворения успевает полностью завершиться не более чем за 10 минут. Еще одной особенностью этого калориметра является возможность ввода жидких растворяемых веществ с помощью поршневого дозатора, управляемого компьютером. То есть этот прибор может функционировать, как калориметр титрования.

*Устройство калориметра растворения, изображенного на рис. 2.8*

Основные части калориметра – это две одинаковые калориметрические ячейки. Схема калориметрической ячейки изображена на рис. 2.10. Ячейка включает сосуд Дьюара (1), в который наливают 110 мл растворителя. Сверху сосуд Дьюара закрывается тефлоновой крышкой (2). На крышке смонтированы мешалка (3) и несколько запаянных снизу стеклянных трубок, в которых залито силиконовое масло и размещены: термистор (4) для измерения температуры в ячейке, прецизионное проволочное сопротивление (5) для калибровки калориметрической ячейки с помощью эффекта Джоуля-Ленца. Еще в одной стеклянной трубке находится резистор для более мощного нагрева содержимого ячейки. Это необходимо для доведения температуры ячейки до стандартного значения в  $25^{\circ}\text{C}$  перед экспериментом.

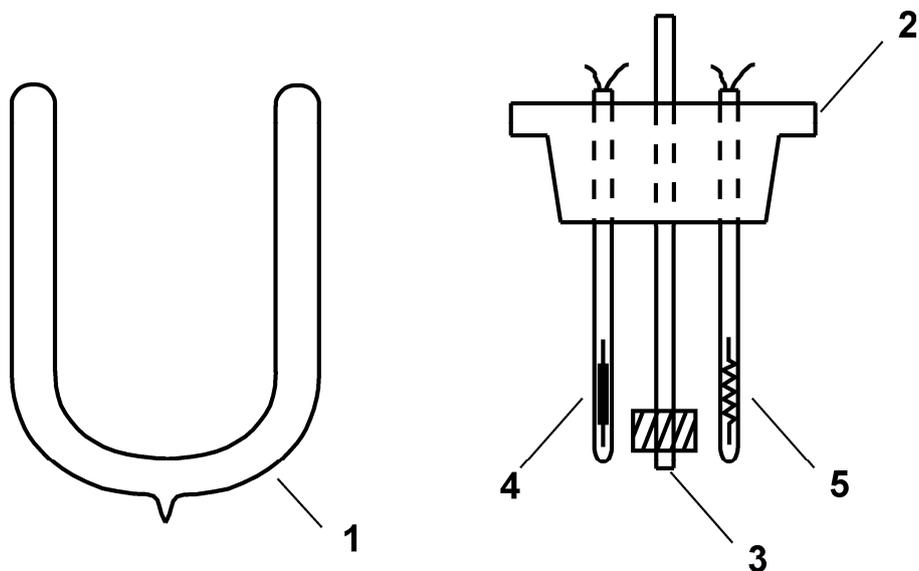


Рис. 2.10. Калориметрическая ячейка

В крышке ячейки также имеется отверстие для устройства ввода растворимого соединения. Это устройство изображено на рис. 2.11. Оно состоит из тефлонового корпуса (6) с подвижным штоком (7) и вставляется в крышку калориметрической ячейки вертикально. На нижней части штока имеются лезвия из нержавеющей стали (8).

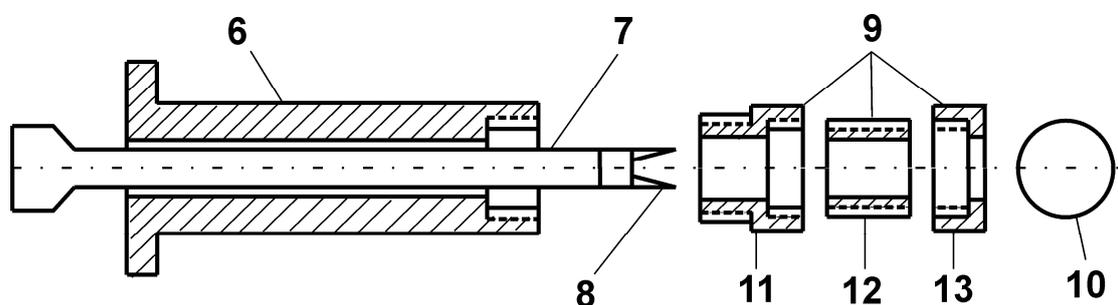


Рис. 2.11. Устройство для ввода растворимого вещества в калориметрическую ячейку

На устройство ввода навинчивается контейнер с растворимым веществом (9), который состоит из трех металлических (латунных или дюралюминиевых) частей: основания (11), средней части (12) и крышки (13), а также двух тонких тефлоновых пленок (10). Сборка контейнера (называемого также «контейнер для вещества») производится следующим образом. Берется основание (11) и в него вставляется тефлоновая пленка (10). Затем в основание плотно ввинчивается средняя часть (12). Таким образом, тефлоновая пленка оказывается зажатой между основанием и средней частью, и мы получаем маленький «стаканчик», в который и берется навеска растворимого вещества. Вторая тефлоновая пленка вкладывается в

крышку (13) и последняя туго навинчивается на «стаканчик» с растворимым веществом. Получается герметичный контейнер, который ввинчивается в корпус устройства ввода (6).

Устройство ввода в сборе вставляется в крышку калориметрической ячейки с растворителем. Затем калориметрическая ячейка термостатируется пока наклон зависимости разности температур ячеек от времени не станет постоянным. В момент проведения калориметрического эксперимента шток (7) опускают вниз и вращательным движением прорезают последовательно обе тефлоновые пленки. При этом растворимое вещество попадает в растворитель. После того как обе пленки разрезаны, шток возвращают в исходное состояние.

В основе измерительной системы калориметра лежит схема моста Уитстона, которая изображена на рис. 2.12. Два плеча этого моста – это термисторы с сопротивлениями  $R_L$  и  $R_R$ , находящиеся, соответственно, в левой и в правой калориметрических ячейках. Термисторы обладают высоким температурным коэффициентом сопротивления – 3-5%/°С. Другие два плеча моста – резисторы сравнения  $R_1$  и  $R_2$ , один из которых ( $R_2$ ) является переменным и используется для уравнивания моста. На вертикальную диагональ моста подается высокостабильное напряжение ( $U_{ст}$ ). Условием равновесия моста Уитстона является равенство нулю напряжения  $V$  на горизонтальной диагонали моста. При этом соблюдается соотношение:

$$\frac{R_L}{R_R} = \frac{R_1}{R_2}$$

Это означает, что при известных значениях  $R_R$ ,  $R_1$  и  $R_2$  можно рассчитать значение  $R_L$ .

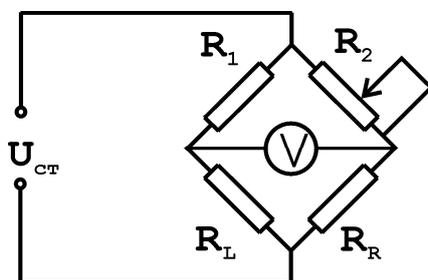


Рис. 2.12. Схема моста Уитстона

Реальная измерительная схема работает не в условиях равновесия, а в условиях небольшого разбаланса моста Уитстона, когда  $V \ll U_{ст}$ . Можно показать, что в этом случае при постоянстве электрического

сопротивления одного из термисторов изменение измеряемого напряжения  $V$  пропорционально изменению сопротивления второго термистора:

$$R_R = \text{const} \rightarrow \frac{\partial V}{\partial R_L} = c_L \quad \text{и} \quad R_L = \text{const} \rightarrow \frac{\partial V}{\partial R_R} = c_R$$

Если номиналы сопротивлений в левой части моста Уитстона точно равны номиналам сопротивлений правой части,  $R_1 = R_2$  и  $R_L = R_R$ , то коэффициенты пропорциональности  $c_L$  и  $c_R$  равны между собой по величине и противоположны по знаку. Если при этом равны и температурные коэффициенты обоих термисторов,  $\frac{\partial R_L}{\partial t_L} = \frac{\partial R_R}{\partial t_R}$ , то изменение измеряемого напряжения  $\Delta V$  будет пропорционально изменению разности температур в двух калориметрических ячейках:

$$\Delta V = c' \cdot \Delta(t_L - t_R)$$

В реальном измерительном приборе невозможно добиться идеального равенства соответствующих сопротивлений и, тем более, равенства температурных коэффициентов двух термисторов. Поэтому используются два равенства:

$$\Delta t_L = c'_L \cdot \Delta V \quad \text{и} \quad \Delta t_R = c'_R \cdot \Delta V \quad (2.2)$$

Целью калориметрических измерений является определение не скачков температуры, а соответствующих тепловых эффектов исследуемых процессов  $Q_L$  и  $Q_R$  в ячейках калориметра. Чтобы перейти к последним, следует объединить уравнения (2.2) и (2.1). Заметим, что в уравнении (2.1) значения коэффициента  $C$  для левой и правой ячеек, вообще говоря, могут быть различны. В результате получим:

$$Q_L = k'_L \cdot \Delta V \quad \text{и} \quad Q_R = k'_R \cdot \Delta V$$

Коэффициенты  $k'_L$  и  $k'_R$  так же, как и в уравнении (2.1) определяются с помощью процедуры калибровки. Эти величины называются калибровочными коэффициентами левой и правой калориметрических ячеек.

В применяемом калориметре процедура калибровки, а также последующий расчет тепловых эффектов выполняется присоединенным к калориметрическому блоку персональным компьютером с помощью программы Hsoln.

## **Работа 2.1 Определение энтальпии растворения дифенила в четыреххлористом углероде**

Порядок работы:

1. Включите компьютер. Внимание: если при включении компьютера окажется включенным калориметрический блок, то из-за самопроизвольного включения калибровочных нагревателей калориметр может выйти из строя. Запустите программу «ARNETT##.EXE».

2. Установите сосуды Дьюара в металлические стаканы – держатели. Последние вместе с сосудами Дьюара поместите в латунный корпус термостатирующей рубашки.

3. С помощью мерного цилиндра залейте в каждый сосуд Дьюара по 110 мл четыреххлористого углерода.

4. Закройте сосуды Дьюара тефлоновыми крышками. Обратите внимание: электрический кабель от правой крышки идет к правому разъему на передней панели калориметрического блока (от левой ячейки – к левому разъему)!

5. Передвижением блока с ячейками и небольшим вращением (до 30 градусов) сосудов Дьюара в стаканах – держателях добейтесь совмещения осей мешалок левой и правой ячеек с осями привода от электродвигателя.

6. Соедините мешалки с приводом с помощью муфт.

7. Включите калориметрический блок.

8. Включите электродвигатель мешалок.

9. Включите внешний термостат, нагнетающий в металлическую рубашку воду с температурой 25°C.

10. Включите прогрев растворителя в ячейках калориметра до 25°C. Для этого необходимо запустить термостатирующую программу, выбрав пункт меню на экране персонального компьютера «Установить 25 градусов». При этом по команде с компьютера включится термостат внутри ячеек и зажгутся красные светодиоды, показывающие, что ячейки нагреваются. Программу прогрева можно завершить нажатием клавиши <ENTER>, когда оба светодиода погаснут.

11. Подготовьте 4 контейнера для растворяемого вещества. Контейнеры имеют метки (например, I, II, III, IV). Желательно контейнеры с метками I, II использовать для левой калориметрической ячейки, а контейнеры III, IV – для правой.

12. Возьмите навески дифенила в каждый из 4-х контейнеров. Масса навески дифенила должна быть в пределах от 0.0400 до 0.0600 г. Масса пустых контейнеров и контейнеров с навесками измеряется и записывается в рабочий журнал с точностью до 4-х десятичных знаков.

13. Контейнер «I» навинтите на устройство ввода левой ячейки. Вставьте устройство ввода в левую ячейку. Контейнер «III» с правым устройством ввода помещается в правую ячейку.

14. Оставьте калориметрическую систему термостатироваться в течение 20 минут.

15. Включите калориметрическую программу, выбрав в меню компьютера пункт «КАЛОРИМЕТРИЯ». При запуске программа выполняет некоторые действия по проверке работоспособности калориметра. Так, например, если не подключен какой-либо из разъемов или не включен калориметрический блок, программа сообщит об этом. Программа также проверяет работу усилителя электрического сигнала с калориметра. Если соотношение сигнала на соседних диапазонах не соответствует нормальному значению (2.0), программа также сообщит об этом. В этом случае, чтобы продолжить работу с программой, необходимо два раза нажать клавишу <ENTER>. Иногда отклонение выходного сигнала от номинального значения происходит не из-за неисправности усилителя, а из-за стохастического характера калориметрического сигнала. Затем программа задает оператору ряд вопросов. В ответ необходимо вводить с клавиатуры соответствующие данные и нажимать клавишу <ENTER>:

– «НАЗВАНИЕ:»- нужно ввести название исследуемой системы (не более 30 символов). Обычно это «РАСТВОРЯЕМОЕ СОЕДИНЕНИЕ /РАСТВОРИТЕЛЬ». Лучше в качестве названия вводить общепринятые сокращения, причем латинскими буквами. В данном случае ответ должен быть: «DIPHENYL/CCl4».

– «ЛЕВАЯ НАВЕСКА :...пустой :» - вводится вес в граммах пустого контейнера в левой ячейке.

– «полный» - вес левого контейнера с навеской.

– «ПРАВАЯ НАВЕСКА :...пустой :» - вводится вес в граммах пустого контейнера в правой ячейке.

– «полный» - вес правого контейнера с навеской.

– «МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА :» - ввести молярную массу растворяемого соединения. Для уменьшения вероятности арифметической ошибки эту величину лучше не рассчитывать, исходя из формулы, а взять из справочника и ввести с точностью до второго знака после запятой.

– «ВРЕМЯ ПРАВОЙ КАЛИБРОВКИ, секунд :» - длительность всех правых калибровок. В данном случае необходимо вводить «50».

– «ВРЕМЯ ЛЕВОЙ КАЛИБРОВКИ, секунд :» - Ввести «70». Можно вводить и другое время калибровок, но из-за того, что чувствительности ячеек несколько различаются, желательно, чтобы соотношение времен было 5:7, чтобы при последовательных

калибровках калориметрический сигнал не уходил из оптимального диапазона.

– «ЛИНЕЙНЫЙ УЧАСТОК БАЗОВОЙ, секунд :» - длительность линейных участков базовой линии до и после растворения. Компьютер использует эту величину, как интервал между последовательными калибровками. В данном случае следует ввести величину «200».

– «ДЛИТЕЛЬНОСТЬ РАСТВОРЕНИЯ, секунд :» - дополнительное время задержки последующих действий (калибровок или растворов) при вводе растворенного вещества в растворитель. В случае очень медленно растворяющихся веществ можно вводить значение до «600». Более медленные растворения обычно обрабатывать бессмысленно из-за нестабильности базовой линии калориметра на таком длинном интервале времени. При определении энтальпии растворения дифенила в четыреххлористом углероде следует ввести «10». Это последний вопрос, который задает программа, и после нажатия клавиши <ENTER> она полностью возьмет на себя процесс управления калориметром.

16. Программа самостоятельно выполняет последовательно правые и левые калибровки. Рассчитываемые при этом калибровочные коэффициенты по мере готовности выводятся на экран. При этом оператору доступны следующие варианты воздействия на ход программы с клавиатуры компьютера:

– нажатие клавиши <ESC> - прекращение активного этапа программы, то есть прекращение выполнения калибровок, запоминание всех результатов и калориметрической кривой во временном файле и переход к этапу расчета тепловых эффектов с визуальным контролем точек отрыва на калориметрической кривой.

– нажатие клавиши <F3> - прекращение калибровок с потерей всех данных, загрузка результатов предыдущего эксперимента из временного файла и переход к этапу расчета.

– нажатие клавиши <F5> - доведение до конца предыдущего начатого действия (калибровки или растворения) и переход в режим ожидания ввода оператором растворенного вещества в растворитель в левой ячейке.

– нажатие клавиши <F6> - запрос на выполнение ввода оператором растворенного вещества в растворитель в правой ячейке.

17. Необходимо дождаться, пока на экране не появятся результаты (то есть калибровочные коэффициенты) калибровок для двух правых и одной левой ячеек и нажать клавишу <F5>. При этом программа продолжит выполнение уже начатой второй калибровки в

левой ячейке, о чем она сообщит оператору появлением соответствующей надписи в появившемся окне на экране.

18. Через некоторое время (по завершению калибровки) на экране появится надпись: «НАЖМИТЕ <ПРОБЕЛ>, ЗАТЕМ ВВЕДИТЕ ЛЕВУЮ НАВЕСКУ!». После этого необходимо нажать <ПРОБЕЛ> на клавиатуре компьютера, затем снять фиксатор со штока левого устройства ввода, опустить шток, а затем вращением против часовой стрелки прорезать сначала верхнюю, а потом нижнюю тефлоновые пленки в левом контейнере с растворяемым веществом. Шток вернуть в исходное положение и вновь надеть на него фиксатор.

19. Нажатием клавиши <F6> уведомите компьютер о своем желании ввести растворяемое вещество в растворитель в правой ячейке.

20. Когда компьютер закончит обработку растворения в левой ячейке и сообщит: «НАЖМИТЕ <ПРОБЕЛ>, ЗАТЕМ ВВЕДИТЕ ПРАВУЮ НАВЕСКУ!» - повторите пункт 18 в отношении правого устройства ввода.

21. После этого компьютер произведет обработку растворения в правой ячейке и затем продолжит калибровки. Дождитесь, пока на экране не появятся результаты еще двух правых и двух левых калибровок, и нажмите клавишу <ESC>.

22. Компьютер прекратит калибровки, и выдаст на экран таблицу, содержащую всю информацию о проделанных калибровках и растворениях. Игнорируя эту таблицу, можно нажать клавишу <ENTER>. Компьютер перейдет в графический режим, где он совместно с оператором вновь пересчитает все калибровки и эффекты растворения. Задача оператора при этом корректно указать на графиках всех последовательно появляющихся калибровок четыре точки:

- начала линейного участка «до процесса растворения»
- первую точку отрыва, то есть точку начала процесса выделения (поглощения) теплоты исследуемого процесса: точка ***b*** на рис. 2.13
- вторую точку отрыва: точка ***e*** на рис. 2.13
- конец линейного участка после процесса растворения.

Первая и четвертая точки могут быть выбраны произвольно, лишь бы они находились на прямолинейном участке базовой. Вторая и третья точки ***b*** и ***e*** должны быть указаны максимально точно. Однако, если есть сомнения в выборе положения точек отрыва, то следует предпочесть некоторое их смещение в сторону соответствующих линейных участков. Вследствие особенностей алгоритма расчета

теплового эффекта некоторое расширение интервала на калориметрической кривой, обозначенного как интервал процесса растворения, по сравнению с реальным приведет к существенно меньшим ошибкам, чем его сужение.

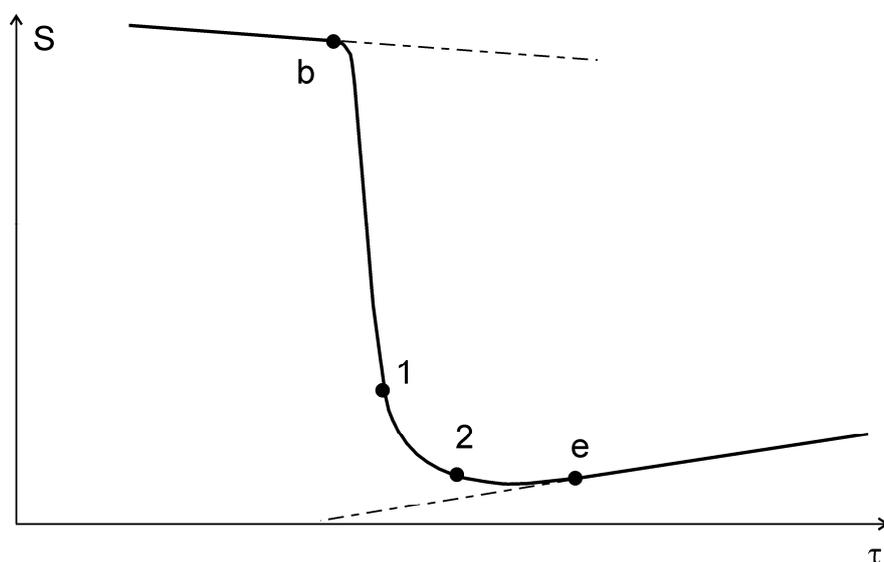


Рис. 2.13. Разметка калориметрической кривой для расчета теплового эффекта. Точки 1 и 2 используются при «ручной» обработке.

Для того, чтобы на появившемся графике с кривой калибровки (растворения) появился маркер для указания первой точки, следует нажать <ПРОБЕЛ>. Маркер появляется в виде вертикальной черты на графике и перемещается клавишами: <СТРЕЛКА ВЛЕВО>, <СТРЕЛКА ВПРАВО>. В режиме выбора положения маркера клавиша <ПРОБЕЛ> уменьшает шаг движения маркера при одиночном нажатии на клавишу стрелки. Когда маркер окажется в желаемом положении, следует нажать клавишу <ENTER>. После этого появится маркер для следующей точки, а если это последняя точка, то будет произведен расчет калибровочного коэффициента (или высоты растворения). После завершения расчета программа покажет значения всех коэффициентов растворения для левой (правой) ячейки. В этот момент можно исключить из расчета явно выпадающие значения. После указания точек на калориметрических кривых обоих эффектов растворения программа рассчитает и покажет на экране полученные величины энтальпии растворения (в кДж/моль). Данные могут быть переписаны в журнал.

23. Извлеките из крышек калориметрических ячеек устройства ввода. Замените контейнеры I и III на контейнеры II и IV.

24. Повторите пункты 14-22 настоящего перечня для воспроизведения измерений энтальпии растворения.

25. В результате мы получили четыре значения энтальпии растворения. Рассчитайте среднее значение этой величины. В качестве доверительного интервала рассчитывается среднее отклонение (по модулю) от среднего значения.

26. Запишите результаты в рабочий журнал. Запись в рабочем журнале должна содержать следующую информацию:

- Дата
- Растворяемое вещество / Растворитель
- Мольная масса растворяемого вещества
- Метка левого (правого) контейнера
- Вес пустого левого (правого) контейнера
- Вес левого (правого) контейнера с навеской
- Тепловой эффект
- После окончания всех измерений – результирующее (среднее) значение энтальпии растворения и доверительный интервал.

Калориметрическая программа ведет свой «журнал». Он находится в текстовом файле «CALORIM.JRN»

27. Извлеките из калориметра контейнеры. Все контейнеры по очереди следует развинтить, удалить пинцетом остатки тефлоновой пленки, промыть в стаканчике с ацетоном, неплотно свинтить все три части контейнера вместе и поставить на просушку. Внимание! Нельзя путать отдельные части разных контейнеров. Например, нельзя менять основания или средние части у разных контейнеров. Это может привести к негерметичности контейнеров.

28. Выключите двигатель мешалок, выключите калориметрический блок. Отсоедините мешалки. По-очереди снимите крышки ячеек, промойте их и установите для просушки в специальные подставки. Извлеките сосуды Дьюара, вылейте из них растворитель и промойте ацетоном.

## **Работа 2.2 Определение энтальпии растворения 1-пропанола в воде на калориметре ТАМ III**

Кроме повышенной точности особенностью калориметра ТАМ III является возможность использования двух различных устройств для ввода растворяемого вещества в растворитель. Первый – устройство для разбиения стеклянных ампул. Благодаря этому устройству предельно сокращено количество металлических деталей контактирующих с растворителем и растворяемым веществом. Это только мешалка – держатель ампулы, изготовленная из золота. Таким образом, имеется возможность работать с растворяемыми веществами

и растворителями агрессивными по отношению к металлам. Еще одно устройство – шприцевой дозатор, управляемый компьютером (рис. 2.9). В поршневом дозаторе используется шприц Hamilton, соединенный с калориметрической ячейкой тонким капилляром (канюлей), изготовленной из золота. По команде с компьютера система впрыскивает в калориметрическую ячейку точно заданные объемы жидкого растворимого вещества. Эта система позволяет проводить титрационный калориметрический эксперимент, то есть для определенного круга реакций определять не только тепловые эффекты, но и константы равновесия. Если калориметр используется для определения энтальпий растворения, эта система позволяет производить многократный ввод вещества без замены ампул и без связанных с этим потерь времени на термостатирование.

В настоящей работе мы определим энтальпию растворения пропанола-1 в воде. Особенность именно этого процесса в том, что энтальпия его определена с высокой точностью и часто используется для проверки точности работы калориметров.

Выполнение работы:

1. Залить в ячейку калориметра 100 мл дистиллированной воды. Поместить ячейку в термостат. Включить перемешивание в калориметрической ячейке. Для этого – запустить программу «SolCal» и в строке меню выбрать пункты: «Experiment» - «Experiment Control». В появившемся новом окне установить скорость вращения мешалки 500 rpm (см. скриншот на рис. 2.14).

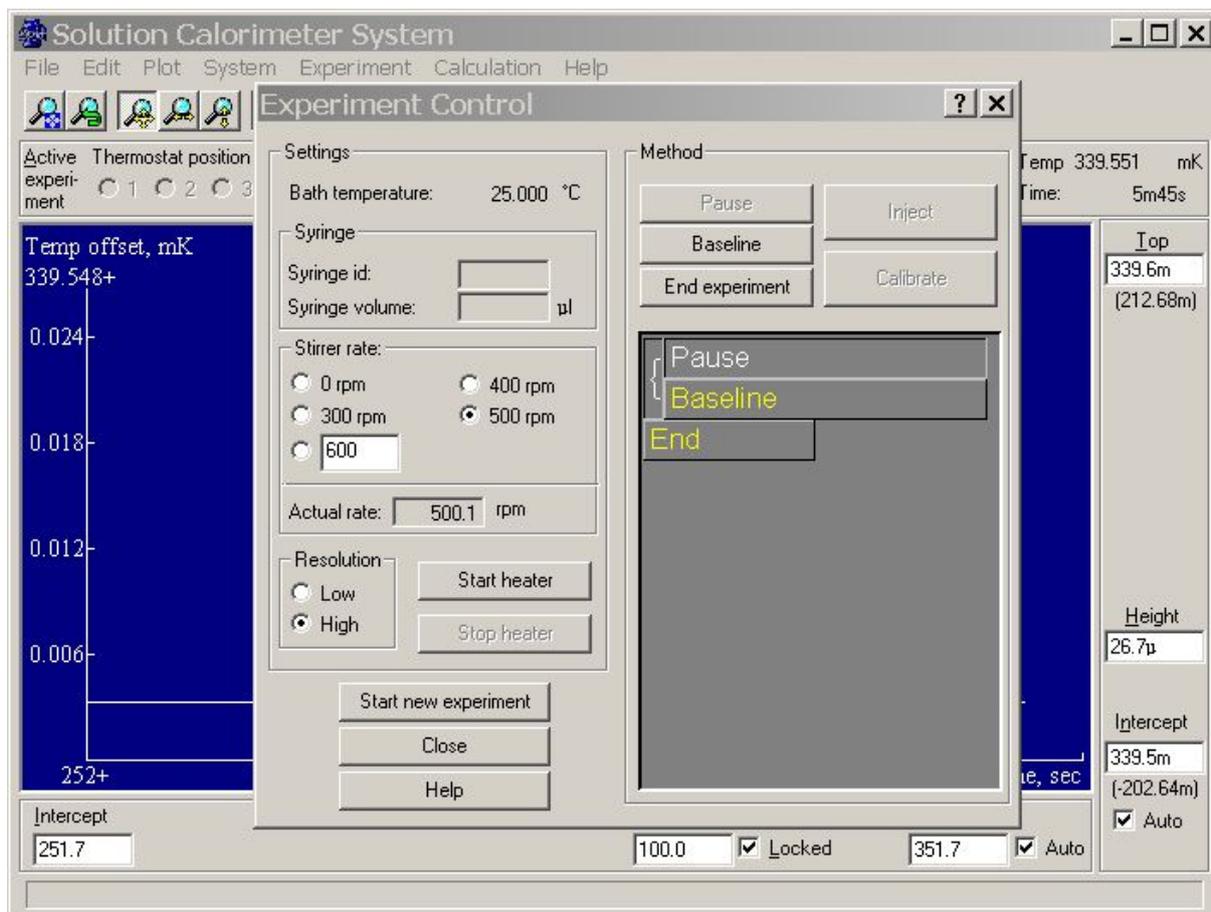


Рис. 2.14. Программа «SolCal», окно «Experiment Control».

2. После помещения ячейки в термостат и запуска мешалки оставить систему термостатироваться на 45-60 минут.

3. Полностью заполнить дозирующий шприц (100 мкл) 1-пропанолом, осушенным над молекулярными ситами.

4. Установить шприц в дозатор и нажатием клавиши «<» на дозаторе произвести инжектирование жидкости из шприца до тех пор, пока конец штока шприца не установится на 0 мкл. При этом жидкость из шприца вытеснит воздух из капилляра и на конце последнего появится капелька.

5. Вставить капилляр в калориметрическую ячейку.

6. Подождать еще 10 минут для термостатирования.

7. Запустить новый эксперимент: в окне «Experiment Control» нажать кнопку «Start new experiment» (см. рис 2.14); выбрать тип эксперимента «Titration experiment» и далее в последовательно появляющихся окнах (рис. 2.15 – 2.17) указать количество калибровок до инжектирования (а в конечном окне и после инжектирования); длительность калибровок, длительность базовой после калибровки. Далее – общий объем шприца (100мкл), количество инжектирований и объем одного инжектирования.

8. В последнем окне еще раз следует нажать кнопку «Start experiment». Именно к этому моменту должно пройти не менее 10 минут (термостатирование) после ввода капилляра в ячейку.

9. Весь дальнейший эксперимент (все калибровки и инъектирования) программа выполнит автоматически (во время эксперимента можно изменять параметры последующих калибровок и инъектирований; например, после первого инъектирования экспериментатор может принять решение, что для увеличения точности нужно увеличить объем последующих инъектирований).

10. По ходу эксперимента на экране все время будет изображаться получающаяся калориметрическая кривая, вертикальные линии на которой обозначают начало и конец калибровок и инъектирований. В момент окончания эксперимента на кривой появится вертикальная линия с надписью «End».

11. Для того, чтобы рассчитать полученные тепловые эффекты в меню программы выбрать «Calculation» - «Analyze experiment»

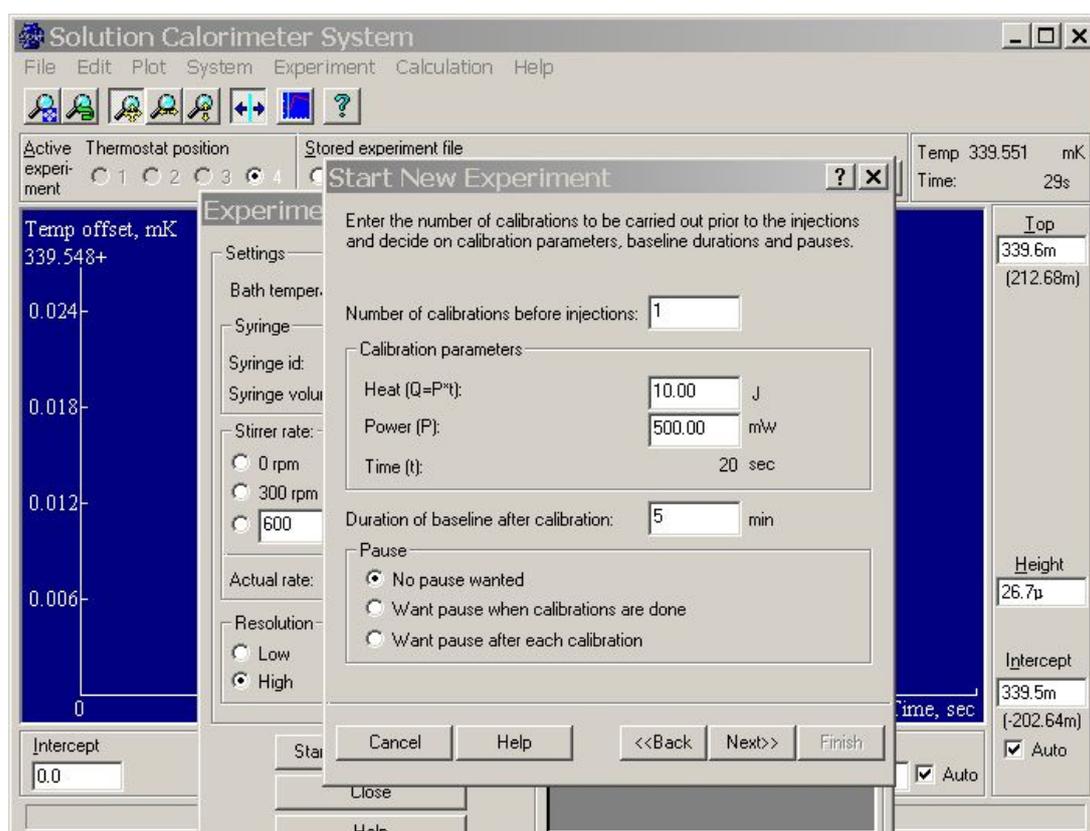


Рис. 2.15. Программа «SolCal»: параметры калибровок.

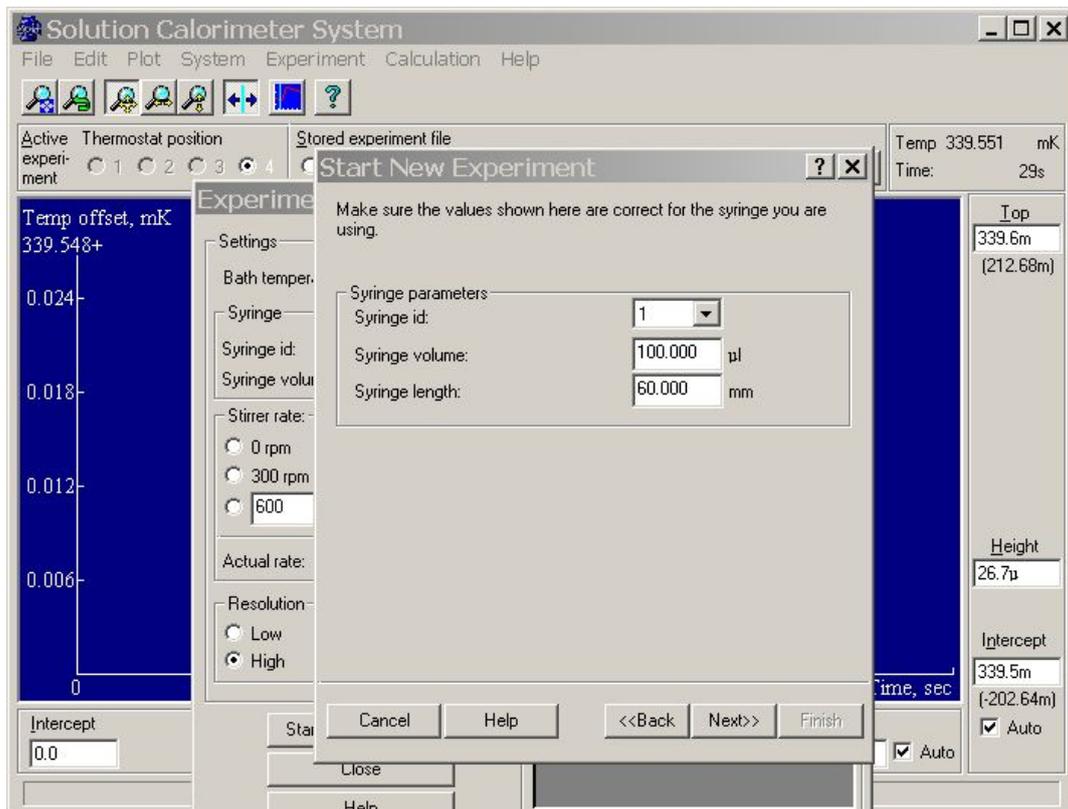


Рис. 2.16. Программа «SolCal»: параметры шприца

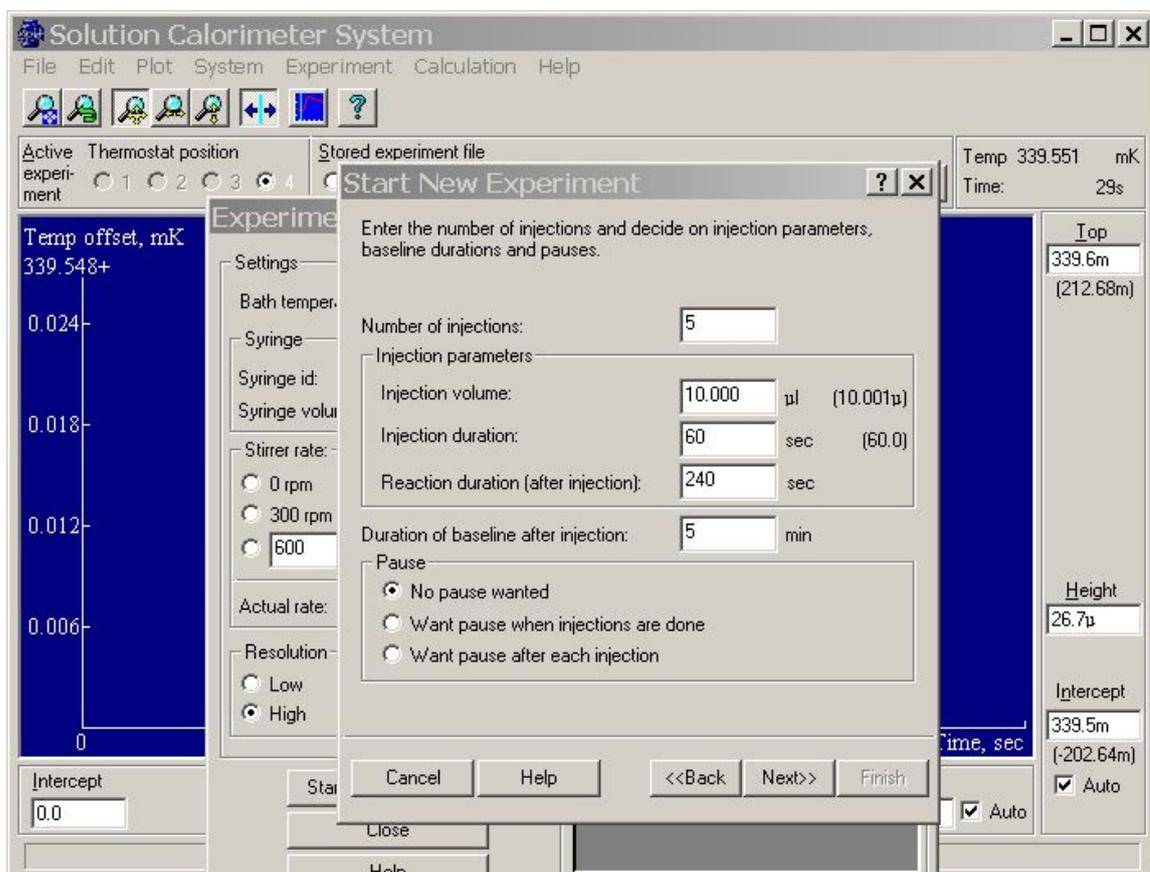


Рис. 2.17. Программа «SolCal»: параметры инъектирований

## 2.2. Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК)

**Калориметрия** – это группа методов физико-химического анализа, в которых измеряется теплота различных процессов: химических реакций, фазовых переходов, а также теплоемкость (теплота, необходимая для изменения температуры тела).

**Теплота** – функция, характеризующая процесс перераспределения внутренней энергии в пространстве; ее невозможно измерить при отсутствии процесса теплопереноса.

**Теплоперенос** может осуществляться различными по физической природе способами: за счет теплопроводности веществ, конвекции или теплового излучения.

**Теплопроводность** – это способ передачи энергии от более нагретых тел к менее нагретым телам посредством изменения колебательных состояний молекул или атомов. Теплопроводность не сопровождается массопереносом и в чистом виде возможна только в твердых телах.

**Конвекция** – это перенос энергии с потоком жидкости или газа. При вынужденной конвекции поток создается за счет внешнего воздействия на систему. При свободной конвекции поток образуется самопроизвольно за счет разницы плотности среды в точках с разной температурой.

**Тепловое излучение** – это передача энергии от одних тел к другим в виде электромагнитных волн за счёт тепловой энергии тел. Особенностью этого способа теплопереноса является то, что он может осуществляться между телами, находящимися не только в какой-либо среде, но и в вакууме.

Таким образом, теплоперенос между двумя телами может осуществляться только в том случае, когда температура этих тел различна. Величина теплового потока всегда пропорциональна разнице температур между телами. В случае теплового излучения величина теплового потока пропорциональна и их абсолютной температуре.

В методе ДСК теплоту определяют через *тепловой поток* – производную теплоты по времени (отсюда в названии термин «дифференциальный»). Тепловые потоки  $Q$  измеряются по разнице температур  $\Delta T$  в двух точках ( $x_1$  и  $x_2$ ) измерительной системы в один момент времени.

$$Q \sim \Delta T = T(x_2) - T(x_1) = f(x)$$

Измерения можно проводить как в изотермических условиях, так и в динамическом режиме при программируемом изменении температуры (калориметры такого типа называют «сканирующими»).

В современных приборах предусмотрена возможность задавать различные температурные программы.

*Линейное нагревание/охлаждение с заданной скоростью:*

$$T = T_0 + \beta \cdot t,$$

где  $T$  – температура нагревателя (печи калориметра),  $T_0$  – начальная температура измерительной системы,  $\beta$  – скорость изменения температуры нагревателя,  $t$  – время. Скорость изменения температуры может варьироваться в широких пределах.

*Режим температурной модуляции (TM-DSC).* На линейное изменение температуры накладываются периодические колебания, например, синусоида:

$$T = T_0 + \beta \cdot t + A \sin(\omega \cdot t),$$

где  $A$  – амплитуда температурной осцилляции,  $\omega$  – частота колебаний температуры. В этом режиме определяется *полный тепловой поток* – средний по периоду ДСК-сигнал, эквивалентный обычному ДСК сигналу, и, содержащий информацию о сумме всех процессов в образце. *Обратимый тепловой поток* – осциллирующая часть полного ДСК сигнала, содержащая информацию о теплоемкости образца и частично о зависимых от температуры процессах, при условии, что малые колебания температуры не влияют на скорость процесса. *Необратимый тепловой поток* – в режиме температурной модуляции часть полного ДСК сигнала, рассчитываемая как разность между полным тепловым потоком и обратимым тепловым потоком, содержит в себе информацию о процессах, зависимых от времени, но не от малых изменений температуры.

Температурная программа измерения также может быть *комбинацией различных температурных сегментов*: изотермические, динамические, модулированные.

Все дифференциальные сканирующие калориметры (рис. 2.18) имеют две измерительные ячейки: одна предназначена для исследуемого образца, а в другую – ячейку сравнения, помещают либо пустой тигель, либо тигель с образцом сравнения – эталоном (инертным в заданном диапазоне условий веществом, по теплофизическим свойствам близким к образцу). Ячейки конструируют максимально симметрично (одинаковые тигли, одинаковые сенсоры, одинаковое расстояние от нагревателя до сенсора и т.д.). Экспериментально измеряется временная зависимость разности температур между ячейкой с образцом и ячейкой сравнения.

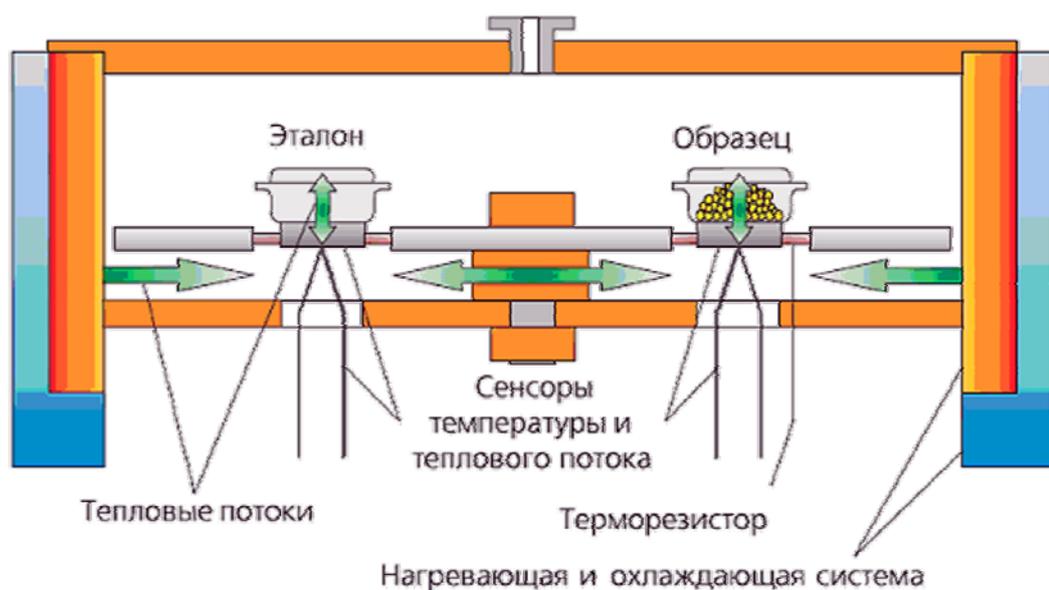


Рис. 2.18. Схематическое изображение ДСК.

Теория метода ДСК содержит несколько различных приближений. В нулевом приближении описываются системы, в которых не протекают химические реакции или фазовые переходы. На систему накладываются следующие ограничения:

- Стационарное состояние:  $Q \neq f(t)$ . Не рассматриваются системы, в которых протекают химические реакции или фазовые превращения, поскольку в этом случае величина теплового потока зависит от времени.

- Измерительная система абсолютно симметричная.

- Теплообмен между образцом и ячейкой сравнения отсутствует.

- Не учитывается прохождение теплового потока через границы раздела фаз: образец/тигель, тигель/сенсор, образец/нагреватель и т.д.

- Учитывается теплоемкость только образца и эталона (при его наличии). Теплоемкость элементов измерительной ячейки, разделяющих образец и нагреватель, не учитывается.

- Предполагается, что измеряемая температура равна температуре образца (не учитывается пространственное разделение образца и термопары).

В первом приближении условие стационарности теплового потока может нарушаться, т.е. рассматриваются объекты, в которых происходят фазовые переходы или химические реакции. Если в образце протекает реакция, он выделяет или поглощает теплоту. В результате образуется дополнительный тепловой поток  $Q_1$ . В случае эндотермических процессов  $Q_1 > 0$ , для экзотермических процессов  $Q_1 < 0$ . В этом случае тепловой поток от нагревателя к образцу

определяется двумя факторами: теплоемкостью образца и теплотой протекающего в нем процесса.

Во втором приближении снимаются ограничения на стационарное состояние системы, а также учитывается, что датчик термпары, измеряющей температуру, не расположен непосредственно в образце или эталоне. Он находится на некотором расстоянии и отделен границами раздела фаз: образец/тигель, тигель/сенсор. Таким образом, измеряемая температура запаздывает относительно реальной температуры образца.

### *Дифференциальный сканирующий калориметр DSC 204 F1 Phoenix*

Измерения проводят для твердых образцов помещенных внутрь алюминиевого (корундового, кварцевого, серебряного, платино-родиевого, золотого, титанового или стального и др.) тигля. Тигель с образцом и тигель сравнения (без образца) устанавливают на карусель автоматического сменщика образцов (рис. 2.19). Управление калориметром осуществляется через компьютер с помощью специализированного программного обеспечения.



Рис. 2.19. Внешний вид дифференциального сканирующего калориметра DSC 204 F1 Phoenix

В зависимости от требований экспериментатора образцы могут нагреваться или охлаждаться со скоростью от 0,001 до 200 К/мин, либо выдерживаться в изотермическом режиме. Возможно проведение измерений в режиме температурной модуляции. Температурный

диапазон измерений от -85 до 600°C. Возможно проведение измерений для жидких образцов с использованием тиглей среднего и высокого давления.

В обычном эксперименте нагрев происходит с линейной скоростью (например 10 К/мин). Очевидно, что при этом температура тигля с образцом, в отсутствие реакции или фазового перехода, будет ниже (при охлаждении – наоборот) температуры нагревательного элемента (печи). Разница в температурах является причиной возникновения теплового потока (перенос энергии в виде тепла от источника тепла – печь, к теплоприемнику – образец).

$$Q = \frac{S}{l} \lambda(T)(T_{нагр} - T_{изм})$$

где  $Q$  – тепловой поток,  $S$  – площадь сечения теплового потока,  $l$  – длина пути теплового потока,  $\lambda(T)$  – коэффициент теплопроводности.  $\Delta T = T_{нагр} - T_{изм}$ , где  $T_{нагр}$  и  $T_{изм}$  – температуры нагревателя и измеряемого образца, соответственно. Величина теплового потока регистрируется с помощью термопар сенсора (рис. 2.20).



Рис. 2.20. Сенсор дифференциального сканирующего калориметра DSC 204 F1 Phoenix

Различие в тепловых потоках к ячейке с образцом и к ячейке сравнения будет обусловлено природой анализируемого вещества:

$$Q_{сравн} - Q_{обр} = \frac{S}{l} \lambda(T)(T_{обр} - T_{сравн})$$

или

$$\Delta Q = f(T)\Delta T$$

Коэффициент пропорциональности  $f(T)$  называется коэффициентом чувствительности. Величина  $f(T)$  зависит от

температуры в широкой области температур. Вид зависимости  $f(T)$  определяют экспериментально во время калибровки прибора.

Зависимость измеренного свойства (мощность теплового потока) от температуры или времени выводится на экран компьютера и представляет собой кривую ДСК-сигнала, рис. 2.21. В результате химических или физических процессов, происходящих с исследуемым веществом при нагревании, тепловой поток изменяется. Это отражается в появлении пиков на сигнале ДСК, рис. 2.21.

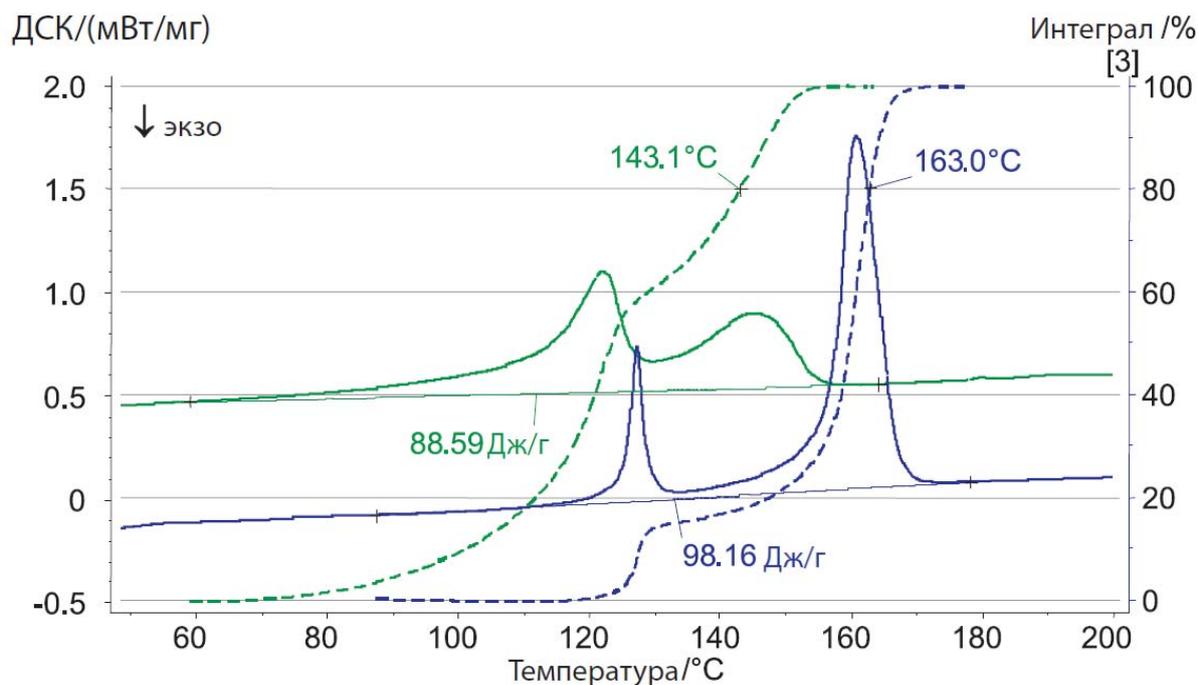


Рис. 2.21. Кривые ДСК-сигнала

*Порядок работы с дифференциальным сканирующим калориметром DSC 204 F1 Phoenix*

Схема измерительной части DSC 204 F1 Phoenix представлена на рисунке 2.22.

Следуя инструкциям изготовителя, прибор должен быть откалиброван с использованием стандартных образцов в требуемом температурном диапазоне с учетом планируемых условий эксперимента.

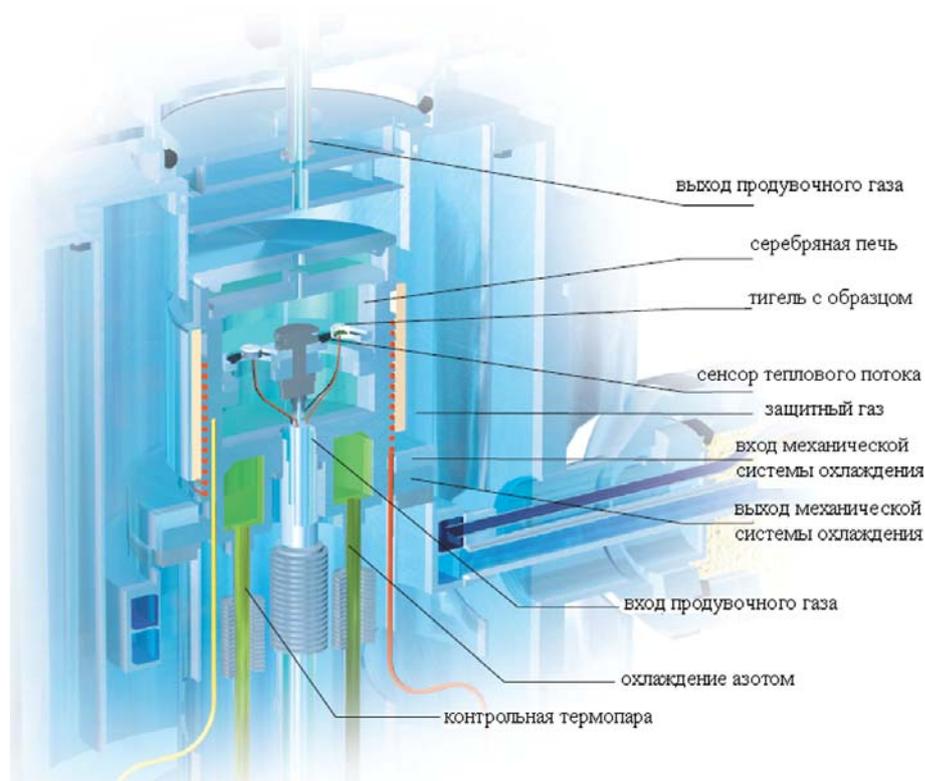


Рис. 2.22. Схема измерительной части DSC 204 F1 Phoenix

Непосредственно перед измерением необходимо включить основные блоки прибора: калориметр, устройство смены образцов и внешнее охлаждающее устройство. Установить подачу газа-носителя, запустить измерительную программу. В измерительной программе устанавливается расход защитного и продувочного газов (аргон) равный 100 мл/мин и 50 мл/мин, соответственно. Расход газов может варьироваться в соответствии с задачами исследования. В прободержатель ДСК с помощью устройства автоматической смены образцов устанавливают эталонный тигель, не содержащий образца, с опрессованной крышкой, при необходимости проводят автоматическую перфорацию крышки тигля. Образец для измерения массой 1-50 мг с помощью штопфера помещается в тигель и равномерно распределяется по дну. Крупные частицы образца должны быть предварительно измельчены до порошкообразного состояния или разрезаны на маленькие кусочки, помещающиеся в используемый тигель. Не допускается исследование образцов нестабильных при комнатной температуре или содержащих летучие жидкие компоненты в виде отдельной фазы, образцов, разлагающихся со взрывом, вспенивающихся с увеличением объема более, чем в 5 раз, а также радиоактивных образцов.

После загрузки образца в измерительный тигель крышка опрессовывается с помощью специализированного пресса для

холодной сварки. Установка тиглей в прободержатель производится с помощью устройства смены образцов, при необходимости проводят автоматическую перфорацию крышки тигля. Следуя инструкции изготовителя прибора и условиям измерения, задают программу измерения и запускают измерение.

Обработка результатов измерения производится в специализированной программе «NETZSCH Proteus – Термический анализ», поставляемой с прибором, в соответствии с Руководством пользователя.

### **Работа 2.3 Определение энтальпии плавления индия**

Возьмите навеску индия массой 10-15 мг и поместите ее в алюминиевый тигель. Установите тигель с образцом и эталонный тигель в прободержатель, как описано выше. Задайте температурную программу измерения: скорость нагрева 10 К/мин, диапазон температур 0 – 180°C. Измерения необходимо проводить не менее трех раз, для этого после каждого режима нагрева следует указать режим охлаждения до 0°C и режим ожидания (изотермический режим) не менее 15 минут при температуре 0°C. По окончании измерения перейдите в программу анализа данных. Определите температуру и энтальпию плавления по 2-ому и 3-ему измерениям. Полученные средние значения сравните со справочными данными.

### **Работа 2.4 Определение температуры стеклообразного перехода полимера**

Возьмите навеску полимера массой 5-10 мг и поместите ее в алюминиевый тигель. Установите тигель с образцом и эталонный тигель в прободержатель, как описано выше. Задайте температурную программу измерения: скорость нагрева 10 К/мин, диапазон температур – 60-100°C, режим температурной модуляции (амплитуда 0,5°C, период 60 секунд). Измерения необходимо проводить не менее трех раз, для этого после каждого режима нагрева следует указать режим охлаждения до –60°C и режим ожидания (изотермический режим) не менее 25 минут при температуре –60°C. По окончании измерения перейдите в программу анализа данных. Определите температуру стеклообразного перехода в полимере по 2-ому и 3-ему измерениям.

### **2.3. Совмещенный термический анализ (СТА)**

Исходной точкой появления самого принципа термического анализа можно считать 1887 г. Тогда этот метод был применен Ле-Шателье для испытания глинистых минералов. Небольшое количество глины с равномерной скоростью быстро нагревалось до температуры 1300 К, в то время как Ле-Шателье с помощью вложенной в пробу термопары и подключенного к ее клеммам гальванометра наблюдал за тем, в какой степени температура пробы следует темпу нагревания. Результаты измерения были зарегистрированы фотографированием через равномерные промежутки времени узкой световой полосы, отраженной на фотопластинку от зеркала гальванометра. Метод вначале был применен по предложению Уильяма Аустена для изучения диаграмм состояния металлов и сплавов, а затем применен Валлахом для испытания глинистых минералов и пород. С 1939 г. метод термического анализа применяется для исследования наравне с рентгеновскими исследованиями.

В настоящее время широкое распространение получил совмещенный термический анализ – одновременное применение двух или более методов анализа на одном образце. СТА сочетает в себе преимущества термогравиметрического анализа (ТГА) и высокотемпературной дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Комплекс приборов СТА может также дополняться системами анализа выделяющихся газообразных продуктов (масс-спектрометрия, ИК-спектроскопия и др.)

#### **Термогравиметрический анализ**

Термогравиметрическое изучение, наряду с калориметрическим исследованием, представляет собой эффективный метод решения множества научных и практических задач. В его основе лежит измерение убыли массы образца при сканировании температуры. При этом регистрируют интегральные и дифференциальные кривые потери массы образца как функции от температуры или времени, рис. 2.23.

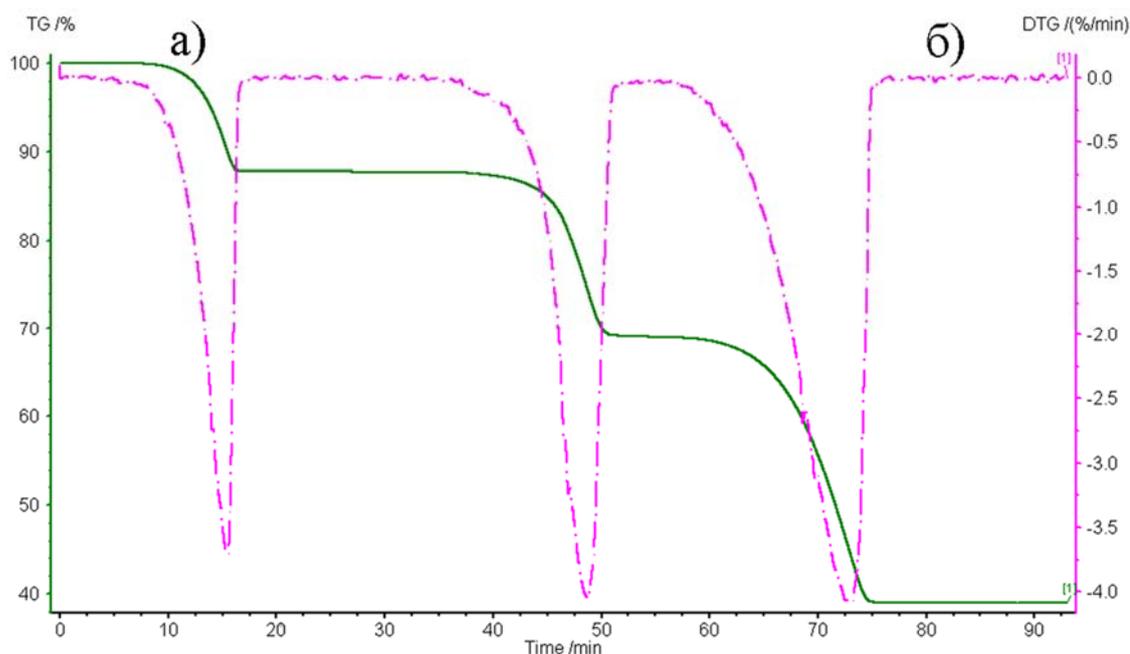


Рис. 2.23. Термогравиметрические кривые: а) интегральная зависимость  $\Delta m = f(T)$  (ТГ-кривая); б) дифференциальная зависимость  $dm/dt = f(T)$  (ДТГ-кривая)

Если процесс изменения массы идет поэтапно, с помощью интегральной кривой можно наблюдать соответствующие «ступени». Дифференциальная кривая, отражающая зависимость скорости изменения массы от времени, позволяет четче идентифицировать наличие перегибов, а также определять температуру, соответствующую максимальной скорости процесса.

Термогравиметрическое изучение позволяет выявить области термической стабильности химических соединений, различных комплексов и материалов или, наоборот, является источником сведений о температурах, при достижении которых начинаются процессы деструкции, окисления и испарения.

Исходя из анализа термогравиметрических кривых, иногда удается изучить термокинетику процессов, приводящих к потере массы, поскольку дифференциальная кривая – это зависимость скорости процесса от температуры, а интегральная – непосредственно отражает влияние температуры на степень конверсии.

## Совмещенный метод термогравиметрии и дифференциальной сканирующей калориметрии с масс-спектрометрическим определением газообразных продуктов разложения (ТГ/ДСК/МС)

Метод совмещенного ТГ/ДСК/МС анализа применяется для определения параметров термостабильности образцов: начальная и конечная температуры разложения, температура, соответствующая максимальной скорости разложения, энтальпия процесса разложения; для определения теплофизических свойств образцов: удельная теплоемкость, температура фазового перехода, энтальпии фазовых переходов. Сопряжение ТГ/ДСК анализатора с масс-спектрометром (МС) позволяет определять содержание в образце и идентифицировать летучие вещества, добавки и наполнители, испаряющихся или образующихся в условиях эксперимента (рис. 2.24).



Рис. 2.24 Фотография совмещенного ТГ/ДСК термоанализатора STA 449C Jupiter (слева), сопряженного с квадрупольным масс-спектрометром QMS 403C Aeolos (справа)

*Проведение измерений с помощью комплекса STA 449C Jupiter и QMS 403C Aeolos*

Термоанализатор должен быть откалиброван по массе, температуре и тепловым эффектам с использованием стандартных образцов согласно руководству пользователя.

Для количественного анализа газообразных продуктов разложения с помощью квадрупольного масс-спектрометра QMS 403C Aeolos требуется калибровка всей системы. Для этого через устройство PulseTA® (входит в состав прибора) подводится известное количество газа или через устройство для ввода жидких проб (инжектор) микрошприцем вводится известный объем жидкости. После введения образец газа или жидкости попадает в поток продувочного газа системы термоанализатора STA 449C Jupiter и вводится в квадрупольный масс-спектрометр QMS 403C Aeolos. Затем интегрируется регистрируемый сигнал результирующего импульса. По данным, полученным для нескольких проб различного объема, строится градуировочный график для анализируемого вещества или смеси веществ. Калибровку можно провести отдельно или во время анализа образца.

Измерения проводятся с использованием тиглей различного объема, выполненных из алюминия, корунда, платино-родиевого сплава, золота, в зависимости от температурного диапазона измерений, продуктов разложения и состава образцов. Выбор тигля осуществляется в соответствии с инструкцией производителя прибора о совместимости материала тигля с различными веществами.

Следуя инструкции изготовителя прибора, проводят измерение в режиме «Коррекция» с требуемыми условиями измерения, но в отсутствии образца, для получения базовой линии.

Для измерения используют образцы массой: 1-50 мг. Не допустимо использование образцов нестабильных при комнатной температуре или содержащих летучие жидкие компоненты в виде отдельной фазы, образцов, разлагающихся со взрывом, вспенивающихся с увеличением объема более, чем в 5 раз. Образец загружается в тигель и равномерно распределяется по дну. Тигель закрывается крышкой и, в случае алюминиевого тигля, опрессовывается. При использовании алюминиевых тиглей, в крышках предварительно должны быть проделаны три симметричных отверстия, диаметром 0,5 мм каждое. Устанавливается скорость подачи защитного (25 мл/мин) и продувочного газа (50 мл/мин), как правило, это аргон. Тигель без образца устанавливается в прободержатель и после уравнивания весов их показания обнуляются. При необходимости используют процедуру замены воздушной среды внутри печи прибора на инертную атмосферу (аргон). Взвешивание образца осуществляется с помощью внутренних весов прибора.

Следуя инструкции изготовителя прибора и условиям эксперимента, задают программу измерения. Указывают режим

работы масс-спектрометра: регистрация частиц с заданным соотношением массы к заряду ( $m/z$ ) или регистрация всех частиц в указанном диапазоне  $m/z$ , указывают скорость нагревания (как правило, 4 или 10°C/мин). При необходимости в программу может быть введен изотермический сегмент.

Измерение начинают после уравнивания термовесов и получения разрешения от программы подготовки измерения. После окончания выполнения программы измерения и остывания печи до комнатной температуры, тигель с образцом извлекают из держателя.

Обработка результатов измерения производится в специализированной программе «NETZSCH Proteus – Термический анализ», поставляемой с прибором, в соответствии с Руководством пользователя. Пример результата ТГ/ДСК/МС анализа приведен на рисунке 2.25.

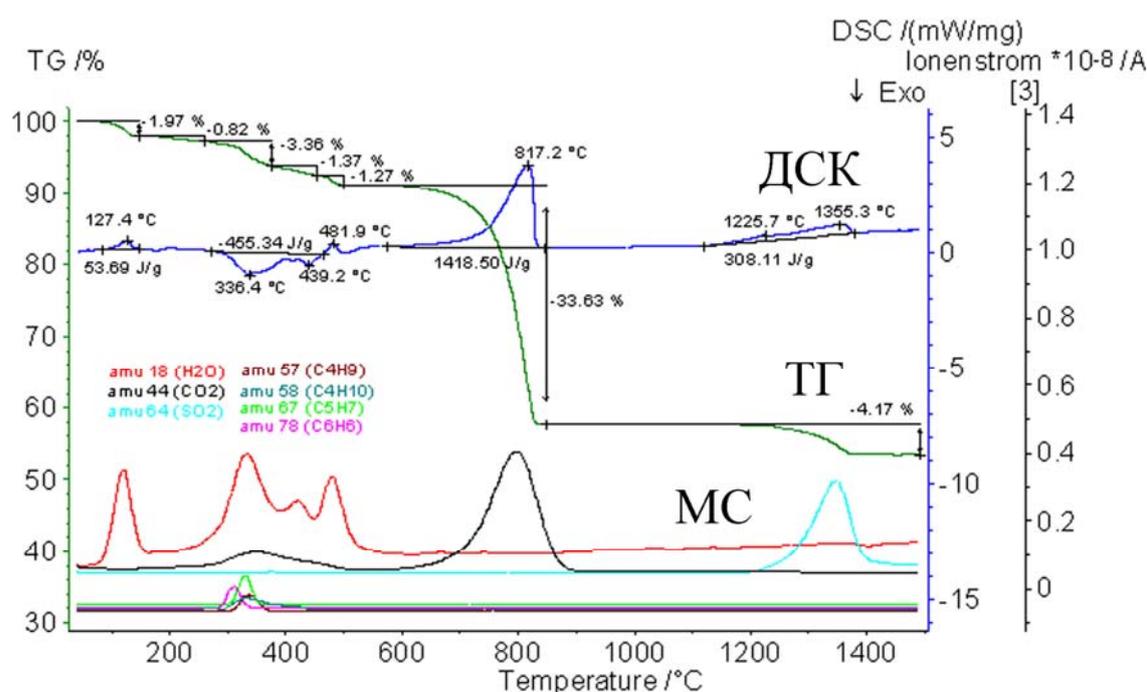


Рис. 2.25. Результаты ТГ/ДСК/МС анализа

## Работа 2.5 Изучение разложения кристаллогидрата сульфата меди

Возьмите навеску порошка кристаллогидрата сульфата меди массой 5-10 мг и поместите ее в алюминиевый тигель. С помощью пинцета установите тигель с образцом и эталонный тигель в прободержатель. Задайте температурную программу измерения: скорость нагрева 10 К/мин, диапазон температур 30 - 400°C. Укажите режим работы масс-спектрометра: регистрация частиц с соотношением массы к заряду равным 18. По окончании измерения перейдите в

программу анализа данных. Рассчитайте содержание воды в кристаллогидрате на моль сульфата меди, определите число ступеней разложения и количество воды уходящей из кристаллогидрата на каждой стадии.

### **РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА:**

1. Курс физической химии / Под ред. Герасимова Я.И. М.: Химия, 1969. Т.1.
2. Эткинс П. Физическая химия. М., Мир. 1980. Т.1.
3. Хеммингер В., Хене Г. Калориметрия Теория и практика. М.: Химия, 1989.
4. Кальве Э. Микрокалориметрия. Применение в физической химии и биологии. М.: Издатинлит. 1963.
5. Уэндландт У. Термические методы анализа. М.: Мир, 1978.
6. Скуратов С.М., Колесов В.П., Воробьев А.Ф. Термохимия. Часть 1, 2. М., Изд-во МГУ, 1964, 1966.

### 3. ГРАВИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

#### Пьезоэлектрические сенсоры типа кварцевых микровесов (QCM)

##### *Принцип работы кварцевых микровесов*

Основным элементом применяемого в настоящей лабораторной работе массочувствительного сенсора является пьезоэлектрический резонатор, рис. 3.3. Он представляет собой практически круглую кварцевую пластинку ( $d = 13,6$  мм). С двух сторон на ее поверхности находятся электроды, выполненные из инертного металла (хром), покрытые сверху тонким слоем золота.

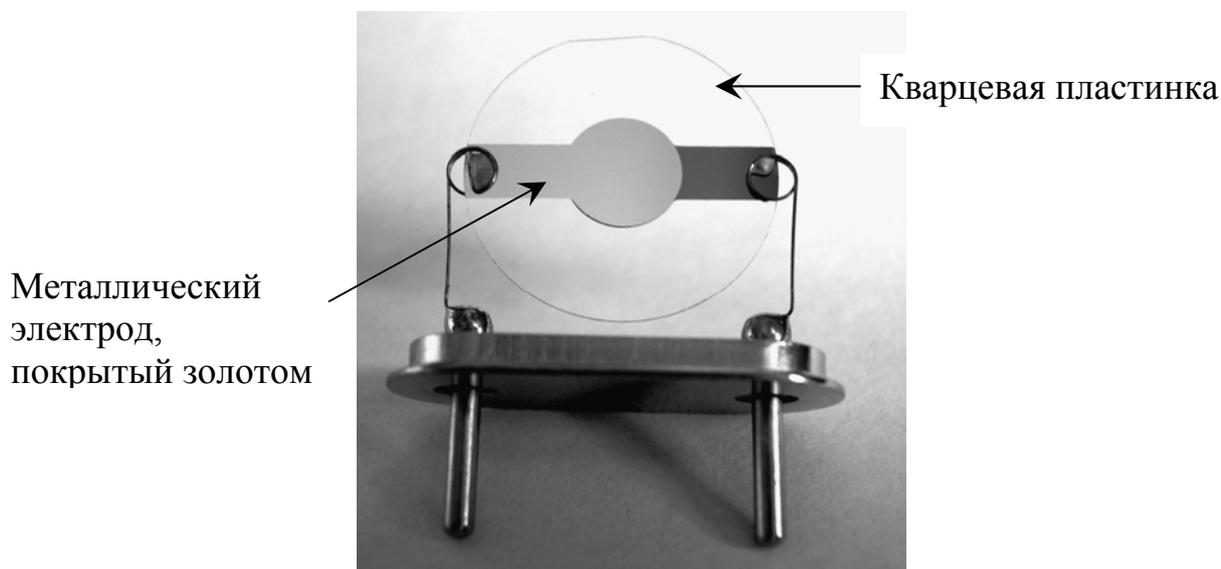


Рис. 3.3. Пьезоэлектрический кварцевый резонатор

При наложении разности потенциалов на электроды генератора, кварцевая пластинка попадает под воздействие электрического поля. В результате этого в ней возникает обратный пьезоэлектрический эффект, заключающийся в механической деформации самой пластинки: происходит смещение поверхностей пластинки друг относительно друга (деформация сдвига).

Частота колебаний кварцевого резонатора связана с массой нанесенного на его поверхность покрытия. Эту зависимость описывает уравнение Зауэрбрея (Sauerbrey):

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2}{A\sqrt{\mu \cdot \rho_q}} \Delta m$$

здесь  $\Delta f$  – изменение частоты колебания пьезоэлектрического резонатора (Гц),  $f_0$  – его собственная частота колебаний,  $A$  – площадь

поверхности электродов,  $\rho_q$  – плотность кварца ( $2.65 \text{ г/см}^3$ ),  $\mu$  – модуль сдвига кварца ( $2.95 \cdot 10^{11} \text{ дин/см}^2$ ) и  $\Delta m$  – изменение массы резонатора при нанесении покрытия или при связывании субстрата. Радиус электрода резонаторов применяемых в настоящем практикуме составляет  $\sim 0.2553 \text{ см}$ , собственная частота колебаний –  $f_0 = 10 \text{ МГц}$ . Если рецептор нанесен на центр золотых электродов, то для кварцевых резонаторов с частотой  $f_0 = 10 \text{ МГц}$  выполняется соотношение  $\Delta f / \Delta m \approx 1 \text{ Гц/нг}$ .

Уравнение Зауэрбрея корректно описывает зависимость изменения частоты резонатора от изменения его массы при нанесении покрытий с толщиной до  $150 \text{ нм}$  для кристаллических веществ или до  $80\text{-}100 \text{ нм}$  для эластичных полимеров.

### *Порядок работы с QCM-сенсором*

**Первый этап** – подготовка к работе измерительной ячейки. Необходимо (1) промыть поверхность кварцевых резонаторов органическим растворителем, (2) высушить резонаторы в токе теплого воздуха, (3) установить их в крышку измерительной части сенсора, рис. 3.4, (4) закрыть этой крышкой стеклянную цилиндрическую ячейку прибора объемом  $53 \text{ мл}$ , (5) включить блок питания сенсоров, (6) включить жидкостный термостат и компьютер, (7) запустить программу обработки сигналов QCM-сенсоров (*Timer*), (8) определить разность частот рабочего и опорного резонаторов  $\Delta F$  для каждого рабочего канала.

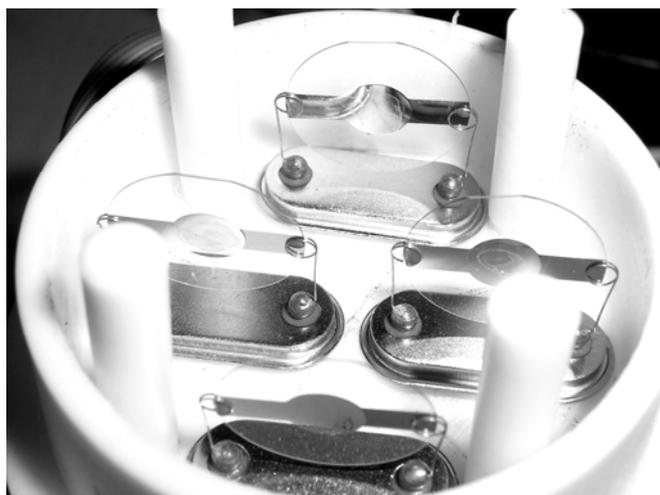


Рис. 3.4. Измерительная часть четырехканального QCM-сенсора

Величины  $\Delta F$  отображаются разными цветами в правом верхнем углу окна диаграммы на мониторе компьютера.

**Второй этап** работы заключается в нанесении слоя рецептора на поверхность кварцевого резонатора. Рецептор наносится с помощью микрошприца в виде разбавленного раствора в летучем растворителе на центральную часть золотых электродов. При этом игла микрошприца не должна касаться поверхности электрода. Концентрацию раствора и его объем рассчитывают так, чтобы убыль  $\Delta f$  частоты резонатора составляла примерно по 1000 Гц на покрытие, нанесенное на один электрод, после сушки в токе теплого воздуха до постоянной частоты. Объем раствора обычно составляет 1 мкл, но может быть больше для малорастворимых веществ. Фотография пьезоэлектрического резонатора с покрытием представлена на рис. 3.5.

Затем определяют величину  $\Delta f$  для каждого резонатора, соответствующую массе нанесенного рецептора, по разности величин  $\Delta F$ , измеренных до и после приготовления покрытия.

Третий этап состоит в изучении связывания парообразного органического вещества слоем рецептора, определение стехиометрии комплекса субстрат-рецептор (гость-хозяин) при единичной активности субстрата, или определении отклика сенсора при заданной концентрации паров субстрата. С этой целью устанавливают крышку (2) (рис. 3.6) с резонаторами (3), на которые нанесены слои рецепторов, в пустую стеклянную ячейку прибора, рис. 3.6, включают его, как описано выше, и дожидаются установки равновесия при заданной температуре.



Рис. 3.5. Слева: пьезоэлектрический резонатор, справа: увеличенное изображение поверхности золотого электрода, с нанесенной на поверхность пленкой каликсарена

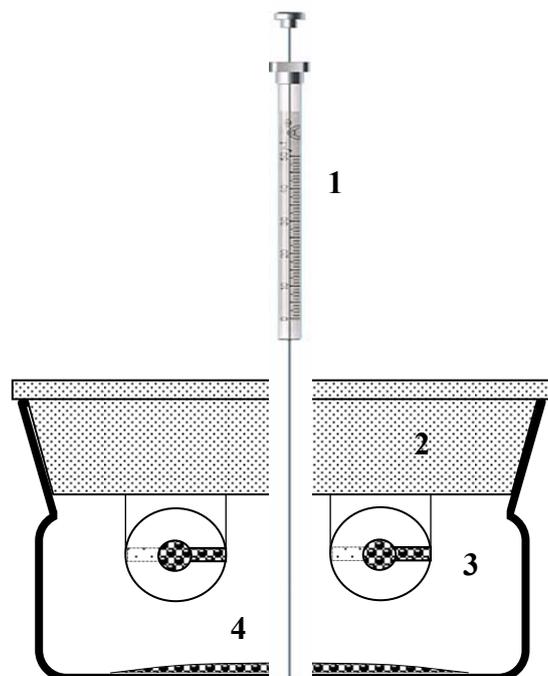


Рис. 3.6. Схематическое изображение ячейки массочувствительного сенсора

Для того чтобы можно было наблюдать этот процесс, а также процесс связывания субстрата рецептором в графическом виде, пользуются средствами программы *Timer*, описанными ниже. Задайте подходящие параметры графического отображения зависимости частоты резонаторов от времени.

После достижения равновесия установите в нуль базовую линию каждого из рабочих сенсоров и переведите программу *Timer* в режим записи результатов измерений. Примерно через 30 сек введите жидкий гость (4) или исследуемый раствор на дно стеклянной ячейки прибора с помощью микрошприца (1), рис. 3.6. Количество жидкого гостя, необходимого для создания в ячейке его насыщенного пара, рассчитывают на основе данных о парциальном давлении насыщенного пара гостя при температуре эксперимента и объеме ячейки.

Когда заданное время измерения истечет, программа автоматически удалит с экрана график с полученной зависимостью частоты резонаторов от времени, запишет его в файл и продолжит отображать текущую частоту в цифровом и графическом виде в режиме монитора – без последующей записи в файл. Выключите блок питания генераторов тока переменной частоты. Откройте прибор, сняв крышку с резонаторами. Удалите связанный «гость» продувкой теплым воздухом (40°C).

В отдельных случаях для более полного удаления связанного «гостя» необходимо выдержать резонаторы в насыщенном паре этанола в течение 1 минуты и затем высушите их как описано выше.

По окончании эксперимента результаты измерений можно импортировать в MS Excel и обработать. По отношению величин убыли частот резонатора, обусловленных массой связанного субстрата и массой рецептора, можно рассчитать чувствительность рецептора к субстрату при заданной активности (относительном давлении) последнего или стехиометрию комплекса, если эксперимент проводился при единичной активности субстрата.

### *Описание программы Timer*

Программа *Timer* предназначена для отображения на экране компьютера и записи сигналов рабочих сенсоров в текстовый файл в виде таблицы с зависимостью разности частот рабочих и опорного резонаторов  $\Delta f$  (Гц) от времени в секундах.

Данная программа работает в среде DOS. После запуска компьютера кратковременно нажмите несколько раз клавишу F8 для выхода в режим особых способов загрузки компьютера. В этом списке выберите вариант Command Prompt Only. Когда на экране появится надпись «C:\>\_», наберите с помощью клавиатуры команду `vc\vc` для запуска программы Volkov Commander. Затем, используя клавиатуру, войдите в директорию TIMER. Запустите программу `mouse.com` (драйвер манипулятора «мышь»). Далее, используя «мышь», запустите программу `tmr.exe`.

В окне программы с правой стороны находится панель для выбора параметров отображения на экране монитора сигналов сенсоров. С помощью программных кнопок **RES0**, **RES1**, **RES2**, **RES3** можно установить в нуль базовую линию соответствующего сенсорного канала. Изменение диапазона отображения сигнала производится с помощью кнопок **min.X** и **min.Y** (минимальные значения абсциссы и ординаты); **max.X** и **max.Y** (максимальные значения абсциссы и ординаты). Шаг координатной оси устанавливается с помощью кнопок **Stp.X** и **Stp.Y**. Частота опроса сенсоров программой устанавливается в поле **F, Hz**. По умолчанию здесь стоит значение 1 Гц.

Для записи в файл результатов измерения необходимо указать имя файла в окне **Save data:** и нажать на кнопку **Mon.** (Monitor). При этом надпись **Mon.** заменится на надпись **Rec.** Выводимая на экран информация будет записана в файл с указанным названием в директории **Timer** по истечении времени, заданном параметром **max.X**. Имя файла должно содержать только латинские буквы и

цифры общим числом не более восьми. Если во время эксперимента останется активной надпись **Mon.**, то результаты измерения будут отображены только на экране монитора, без сохранения в файл. Если имя файла не изменено при повторном эксперименте, то программа будет записывать результаты каждый раз в новый файл с измененным расширением имени до перезагрузки компьютера.

Для удаления графика зависимости частоты резонаторов от времени с экрана монитора нажмите кнопку **Clear**.

### **Работа 3.1 Определение средней толщины тонкой пленки**

Приготовьте тонкий слой каликсарена на поверхности пьезоэлектрического резонатора и рассчитайте его массу, исходя из концентрации, объема нанесенного раствора. Полученное значение массы слоя каликсарена сравните с теоретическим значением, вычисленным на основе уравнения Зауэрбрея. Рассчитайте среднюю толщину покрытия, считая, что пленка равномерно покрывает поверхность электрода.

### **Работа 3.2 Определение состава соединения включения**

Определите стехиометрию клатратов каликсарена, нанесенного на резонаторы QCM-сенсора, с 3 различными парообразными органическими соединениями («гостями»). Повторите измерения по 3 раза для каждого «гостя». Рассчитайте среднее значение стехиометрии.

## 4. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

### *Основные понятия и определения*

Хроматография – экспериментальный метод, основанный на использовании равновесного распределения вещества между **неподвижной** и **подвижной фазами**, имеющими общую границу (поверхность) раздела. Газовая хроматография – хроматографический метод, в котором подвижной фазой является газ, или **газ-носитель**, а неподвижной – жидкость или твердая фаза. В связи с этим газовую хроматографию иногда делят на газо-жидкостную и газо-адсорбционную.

Газовая хроматография применяется для разделения смесей летучих веществ, определения их концентрации, а также для определения различных физико-химических параметров, характеризующих процесс распределения компонентов между двумя фазами: коэффициента распределения, предельных коэффициентов активности, тепловых эффектов сольватации, парообразования и адсорбции, а также удельной поверхности адсорбента.

Основными элементами газового хроматографа, рис. 4.1, являются **хроматографическая колонка**, источник газ-носителя, устройство ввода анализируемого образца в хроматографическую колонку (в стандартной конфигурации – **испаритель** жидких проб), **детектор**, **термостат** для хроматографической колонки, микропроцессорный контроллер для управления температурными режимами и расходом газов. Данные с детектора обрабатываются на компьютере с помощью специальной программы. В результате эксперимента пользователь получает зависимость сигнала детектора от времени (**хроматограмму**).

Хроматографическая колонка газового хроматографа обычно представляет собой кварцевую, стеклянную или металлическую капиллярную трубку, на внутреннюю поверхность которой нанесена неподвижная жидкая фаза (**капиллярная колонка**, рис. 4.2), либо стеклянную или металлическую трубку, заполненную **твердым носителем**, на поверхность которого нанесена неподвижная жидкая фаза (**насадочная колонка**, рис. 4.3).

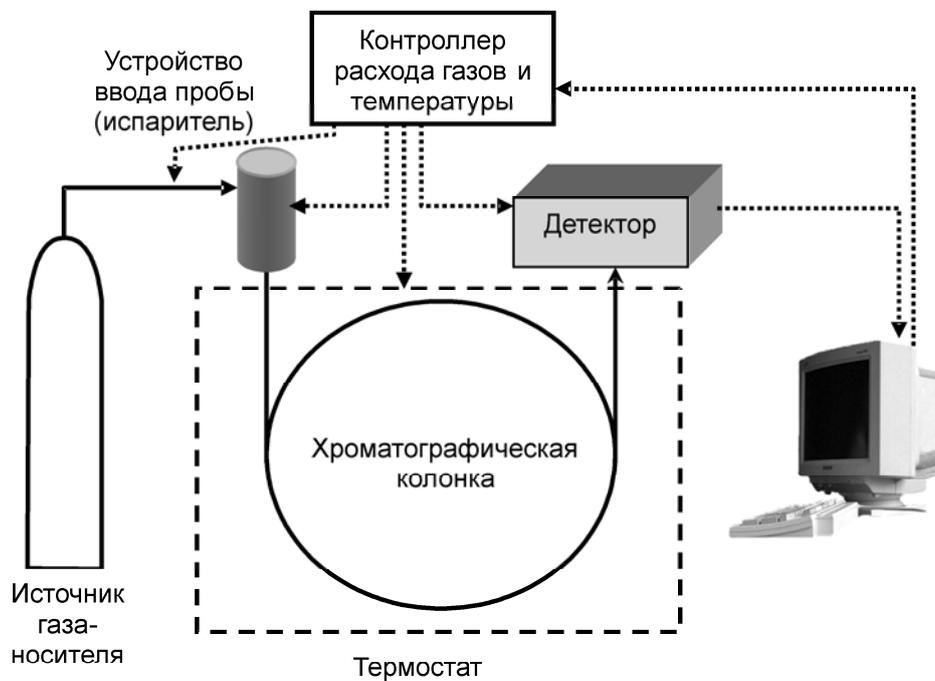


Рис. 4.1. Схема газового хроматографа.

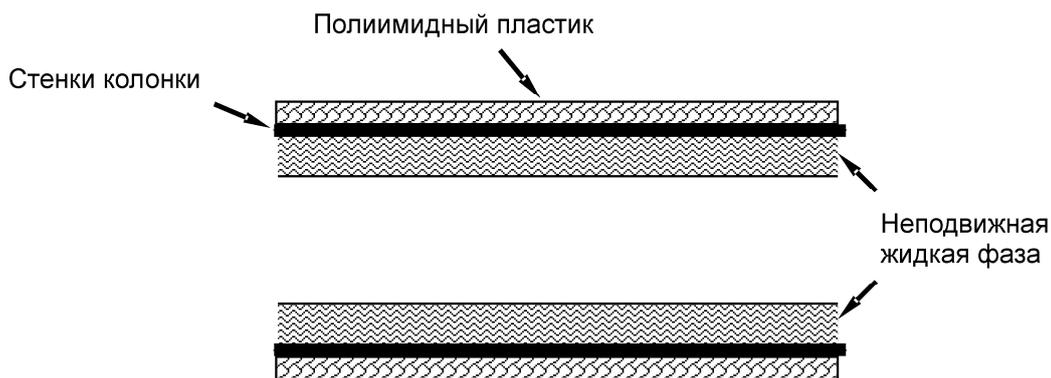


Рис. 4.2. Кварцевая капиллярная хроматографическая колонка.

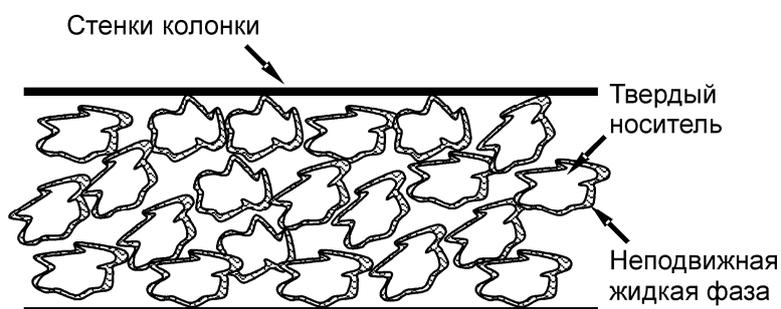


Рис. 4.3. Насадочная колонка для газовой (газо-жидкостной) хроматографии

Газ-носитель, обычно гелий или азот, подается из баллона с давлением до 150 атм через баллонный редуктор, понижающий давление до уровня менее 5-7 атм, на вход в хроматограф. В хроматографе имеется система пневмоавтоматики, регулирующая расход газа-носителя на входе в хроматографическую колонку, и испаритель под управлением встроенного микропроцессорного контроллера и/или программы на компьютере.

Испаритель доступен через отверстие в верхней крышке хроматографа. Жидкая проба вводится в испаритель через мембрану с помощью микрошприца. Конструкция испарителя для капиллярных колонок схематично изображена на рис. 4.4. Он представляет собой цилиндрическую камеру, нагреваемую до заданной с компьютера и/или контроллера температуры, соединенную с колонкой, линиями подачи газа-носителя, сброса пробы, и сброса газа с мембраны. **Деление потока** в испарителе обеспечивает достаточную скорость газа-носителя в испарителе, чтобы предотвратить размывание пробы, и одновременно предотвращает перегрузку колонки анализируемой пробой. Стекловата в камере испарения служит для предотвращения образования аэрозоля из капелек малолетучих компонентов пробы и равномерного ее испарения. Испаритель для насадочной колонки отличается от изображенного на рис. 4.4 тем, что в нем нет сброса пробы делителя потока и сброса с мембраны.

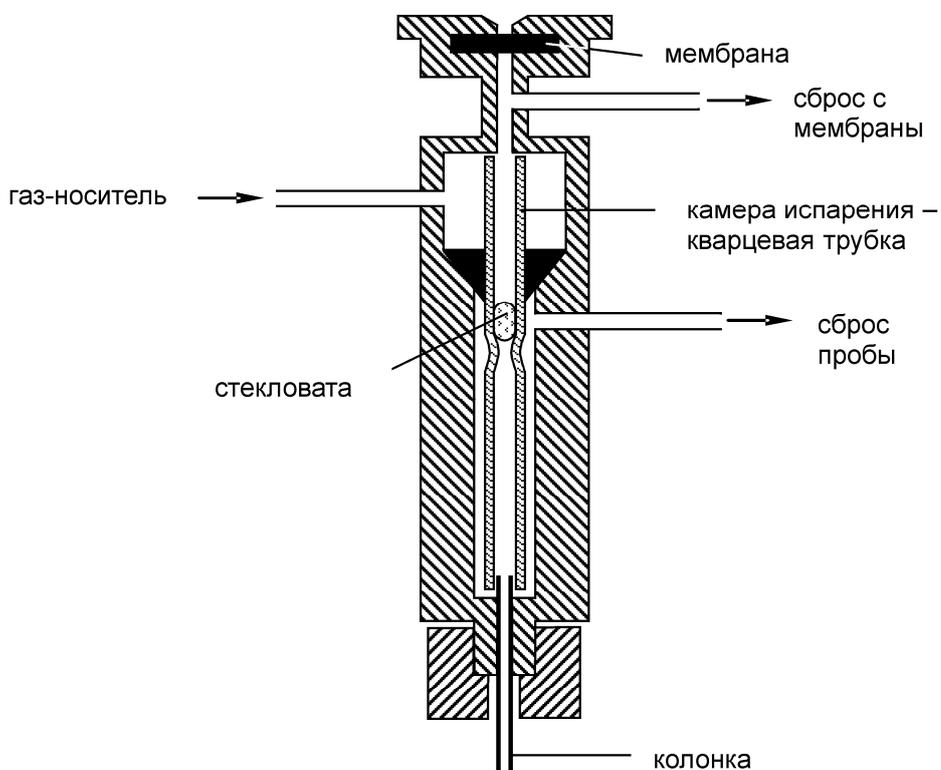


Рис. 4.4. Схема испарителя для капиллярной колонки.

В газовых хроматографах применяют различные типы детекторов: детектор по теплопроводности (катарометр), пламенно-ионизационный детектор, электрозахватный детектор, масс-спектрометрический, пламенно-фотометрический, фото-ионизационный детекторы. Чаще всего применяется **пламенно-ионизационный детектор**, принцип действия которого основан на измерении тока пиролиза компонентов пробы в пламени водорода, рис. 4.5. Предел обнаружения с помощью этого детектора – 100 пикограмм.

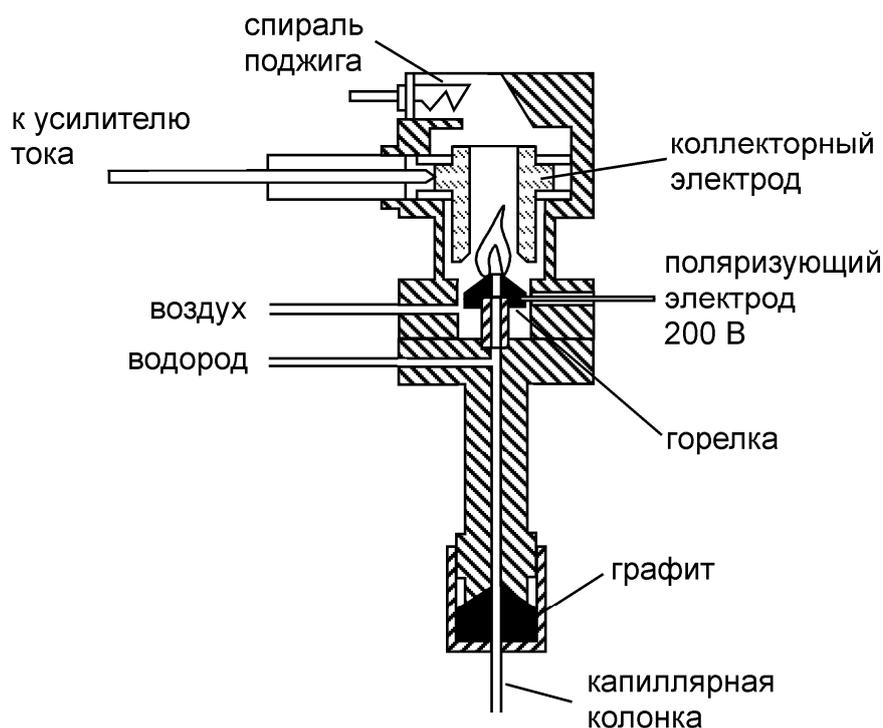


Рис. 4.5. Пламенно-ионизационный детектор

Непосредственным результатом измерений на газовом хроматографе является хроматограмма, рис. 4.6. На хроматограмме можно выделить точку ввода пробы, относительно которой отсчитывается время, время выхода несорбируемого вещества – мертвое время ( $t_A$ ), время выхода анализируемого компонента пробы – время удерживания ( $t_R$ ), высоту пика этого компонента ( $h$ ), ширину пика на базовой линии ( $4\sigma$ ), величину переднего ( $F$ ) и заднего ( $B$ ) фронта пика. Ширина пика на базовой линии связана с уширением пика  $\sigma^2$  и **высотой эффективной теоретической тарелки**,  $H = \sigma^2/L$ , где  $L$  – длина колонки.

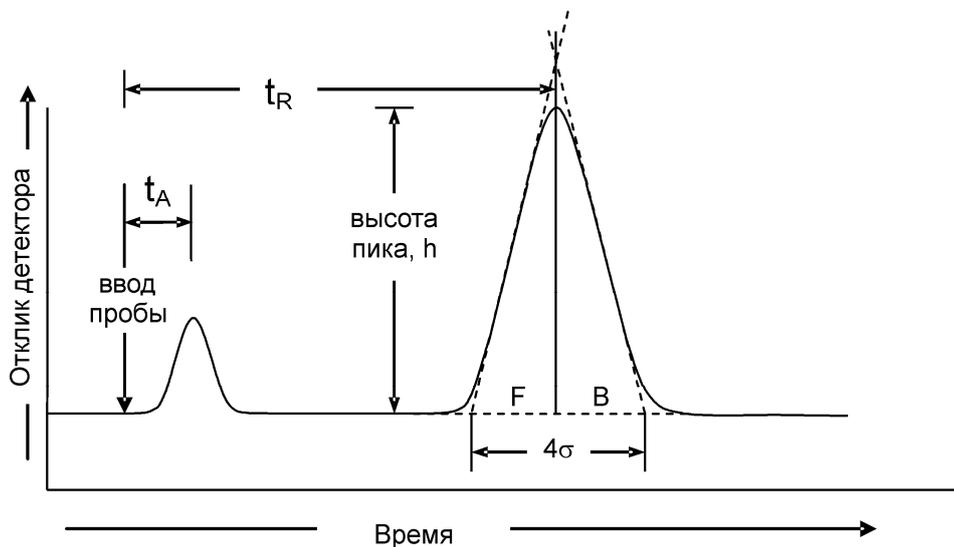


Рис. 4.6. Хроматограмма

Величина  $N$  характеризует эффективность хроматографической колонки – ее разделяющую способность, которая тем выше, чем выше число эффективных теоретических тарелок в колонке. Площадь пика компонента пропорциональна его концентрации в пробе, если эта величина находится в пределах линейного диапазона детектора, а состав пробы не меняется при ее прохождении через испаритель и колонку из-за протекания химических реакций или на входе в колонку в испарителе из-за преимущественного уноса в атмосферу тех или иных компонентов. Последний эффект полностью отсутствует при вводе пробы в насадочную колонку или при вводе в капиллярную колонку без деления потока газа-носителя (сброса большей части испарившейся пробы в атмосферу).

Время удерживания,  $t_R$ , прямо пропорционально объему удерживания, или объему газа-носителя,  $V_R = t_R F$ , который выходит из хроматографической колонки с момента ввода до момента выхода компонента из колонки, где  $F$  – объемная скорость газа носителя на выходе из колонки. Для компонента, не сорбирующегося в неподвижной фазе колонки, объем удерживания равен мертвому объему  $V_A = t_A F$ .

Если компонент проходит по колонке, образуя в неподвижной жидкой фазе предельно разбавленный раствор, перемещение компонента по колонке происходит только в паровой фазе, а равновесие неподвижная жидкая фаза – газовая фаза устанавливается мгновенно, то объем удерживания  $V_R^0$ , пересчитанный с учетом фактора сжатия газа носителя в колонке  $j$ , связан с коэффициентом распределения анализируемого компонента между неподвижной и

подвижной фазы колонки  $K_R = C_L/C_M$  ( $C_L$  и  $C_M$  – концентрации компонента в неподвижной и подвижной фазах соответственно) и объемами этих фаз ( $V_L$  и  $V_M$  соответственно) соотношением:

$$V_R^0 = jV_R = V_M + K_R V_L.$$

Мертвый объем  $V_A$  связан с объемом подвижной фазы  $V_M$  выражением:  $V_M = jV_A$ . Фактор сжатия равен  $j = \frac{p_o}{p} = \frac{3(p_i/p_o)^2 - 1}{2(p_i/p_o)^3 - 1}$ , где  $\bar{p}$ ,  $p_i$ ,  $p_o$  – среднее давление в колонке, давление на ее входе и на выходе, соответственно.

Очень простым является выражение для исправленного объема удерживания:

$$V_N = V_R^0 - V_M = K_R V_L.$$

Также иногда используют удельный объем удерживания  $V_g^T$  при температуре колонки  $T$  и абсолютный удельный объем удерживания  $V_g^0$ :

$$V_g^T = \frac{V_N}{w_L} = \frac{K_R}{\rho_L}, \quad V_g^0 = V_g^T \cdot \frac{273}{T} = \frac{K_R}{\rho_L} \cdot \frac{273}{T}$$

где  $w_L$  и  $\rho_L$  – масса и плотность неподвижной жидкой фазы, соответственно. Для коэффициента распределения  $K_R$  можно вывести выражение:

$$K_R = \frac{RT}{\gamma^\infty p_{sat} \bar{V}_L} = \frac{\rho_L RT}{\gamma^\infty p_{sat} MW_L},$$

где  $\gamma^\infty$  – предельный коэффициент активности анализируемого компонента в неподвижной жидкой фазе,  $p_{sat}$  – его давление насыщенного пара,  $\bar{V}_L$  и  $MW_L$  – мольный объем и молярная масса неподвижной жидкой фазы. Пользуясь этим выражением, при известных величинах  $\gamma^\infty$  и  $p_{sat}$  и знании параметров колонки можно предсказать время выхода вещества из колонки.

Типичная хроматограмма, полученная на газовом хроматографе с капиллярной колонкой для тестовой смеси органических соединений, приведена на рис. 4.7. Время выхода пика метана (1) примерно соответствует мертвому времени. Остальные вещества выходят позже.

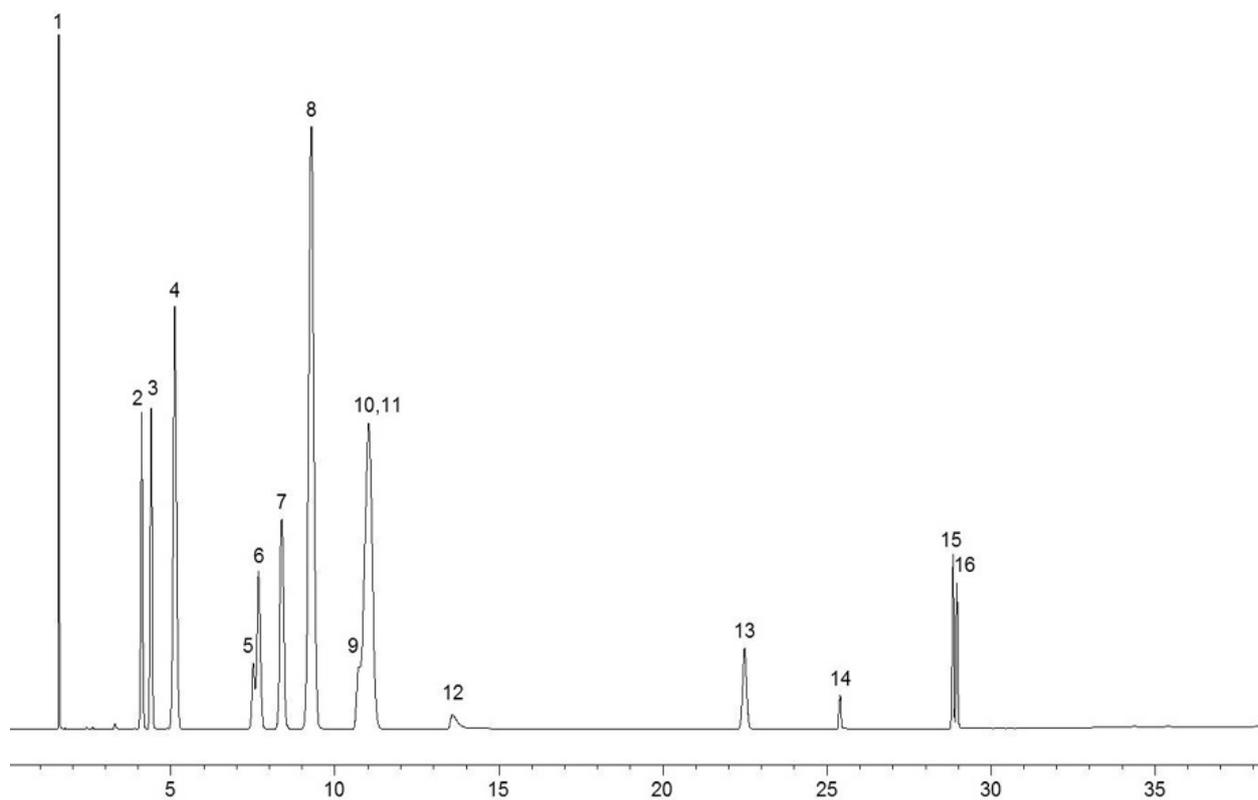


Рис. 4.7. Хроматограмма смеси органических соединений, полученная на газовом хроматографе с капиллярной колонкой

## Особенности работы с отдельными типами хроматографов

*Порядок работы с газовым хроматографом PerkinElmer Clarus 580 с использованием кварцевой капиллярной хроматографической колонки и пламенно-ионизационного детектора*

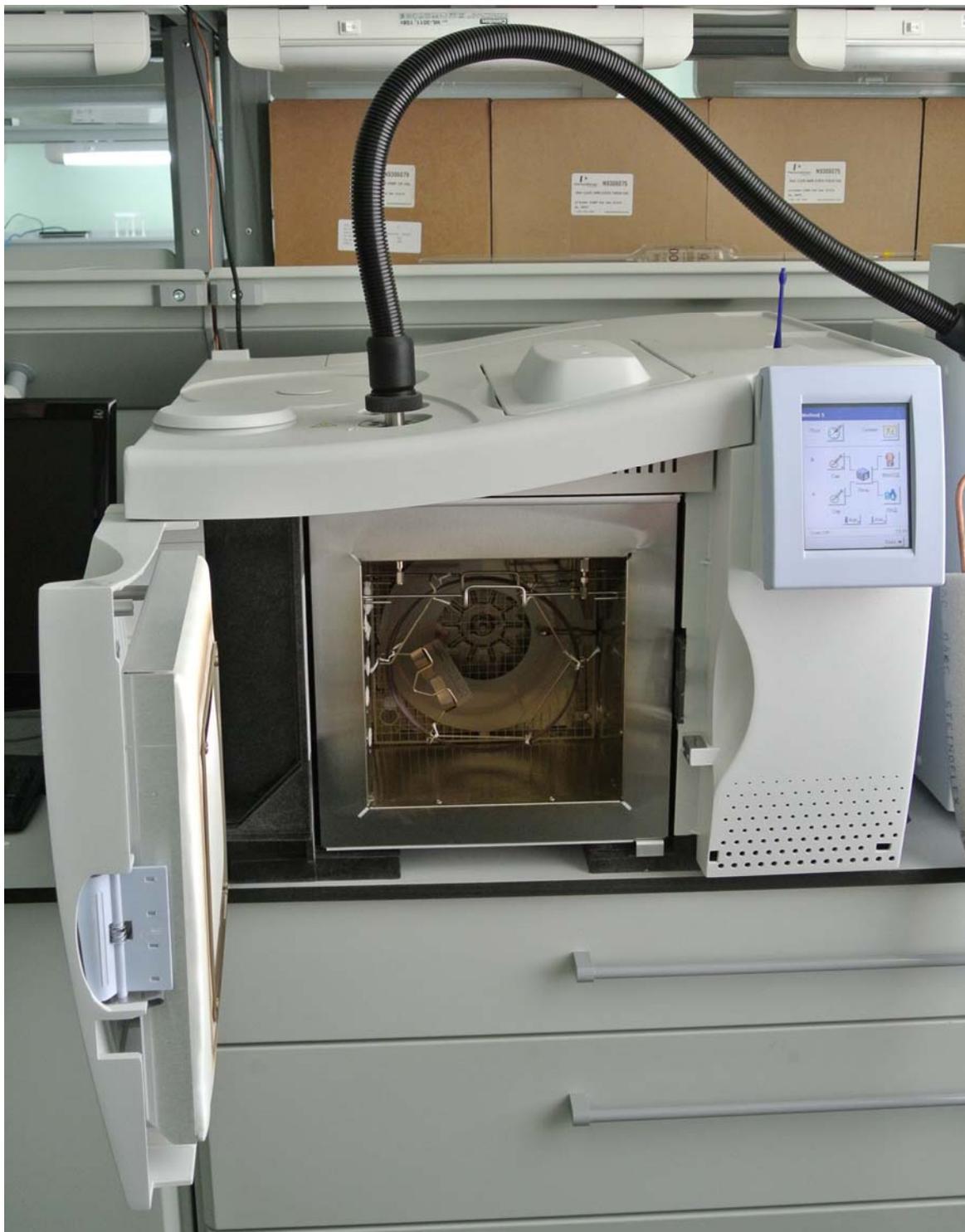


Рис. 4.8. Газовый хроматограф PerkinElmer Clarus 580.

Откройте кран источника газа-носителя. Включите хроматограф, генератор водорода и компрессор воздуха, компьютер и запустите программу TotalChrom Navigator (рис. 4.9).

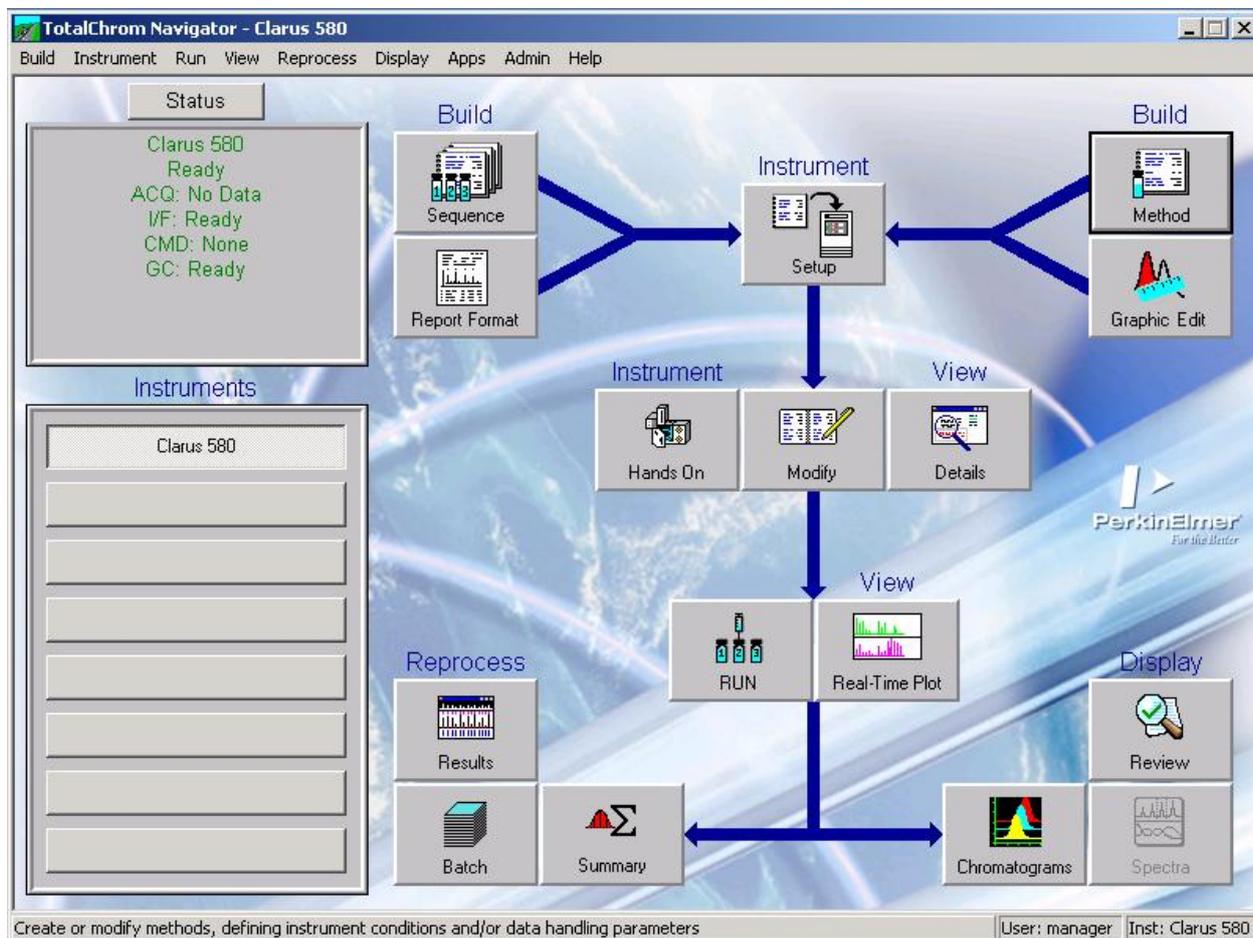


Рис. 4.9. Окно программы TotalChrom Navigator

Сначала необходимо создать файл метода работы. Нажмите на кнопку Method. Создайте новый метод или выберите один из существующих и задайте все параметры эксперимента: параметры колонки, температуры испарителя, детектора и колонки, расход водорода, воздуха и газа-носителя, коэффициент деления потока, предел чувствительности детектора, а также при необходимости программируемые события и некоторые другие опции.

Величина температуры испарителя и колонки задается, исходя из величины температуры кипения наиболее высококипящего компонента пробы, а также температуры начала разложения веществ, составляющих пробу. Критерием правильного выбора температуры колонки является удовлетворительное качество разделения пиков хроматограммы, которая будет получена в последующем эксперименте. Если пики интересующих вас компонентов разделяются

плохо или не разделяются, необходимо понизить температуру колонки. Если время анализа или уширение пиков слишком велико, необходимо повысить эту температуру. Повышение температуры испарителя требуется, если передний фронт пика анализируемого компонента заметно больше заднего. Обычно температура испарителя на 50-80 градусов выше температуры колонки. Также можно задать режим с переменной программируемой температурой колонки. Это необходимо, если смесь содержит как низко-, так и высококипящие компоненты. Время анализа должно быть больше времени выхода последнего из компонентов.

На данной модели хроматографа можно также вместо режима постоянного потока выбрать режим постоянного давления газа-носителя на входе колонки, либо запрограммировать изменение скорости потока или давления газа-носителя в ходе эксперимента. Предел чувствительности детектора выбирается так, чтобы пики интересующих нас компонентов не зашкаливали и не были слишком маленькими.

Затем нажмите на кнопку Setup. В появившемся окне выберите опцию Method, выберите файл с методом и укажите рабочую папку, а также начало имен рабочих файлов (Base file name). Нажмите ОК, после чего данные метода будут переданы на хроматограф.

На сенсорном экране хроматографа перейдите на вкладку A-FID и нажмите кнопку “Зажечь”.

После того, как хроматограф будет готов (индикация Ready в окне программы и на экране), нажмите на сенсорном экране кнопку Старт и быстро введите пробу в хроматограф так, чтобы момент ввода пробы совпадал с окончанием обратного отсчета и звуковым сигналом.

Ввод жидкой пробы в количестве 1-10 мкл осуществляют с помощью микрошприца, рис. 4.10. При вводе шприц держат в правой руке, а левой придерживают его иглу за середину, чтобы она не погнулась при прокалывании мембраны испарителя (рис. 4.4).



Рис. 4.10. Микрошприц

Хроматограмма автоматически записывается на компьютере. Ее вид можно просматривать в процессе записи (кнопка Real-Time Plot). После окончания записи можно просмотреть хроматограмму, нажав на

кнопку Results. В диалоговом окне выберите файл с нужной хроматограммой. Чтобы получить данные о максимумах пиков, их площадях и высотах, выберите пункт меню Display → Peak Report или File → Print Preview Report. При необходимости указать границы пиков можно вручную, выбрав в меню Process → Manual Integration.

*Порядок работы с газовым хроматографом Хроматэк Кристалл 2000 с использованием кварцевой капиллярной хроматографической колонки и пламенно-ионизационного детектора.*



Рис. 4.11. Газовый хроматограф Хроматэк Кристалл 2000

Откройте кран источника газа-носителя. Включите хроматограф, генератор водорода и компрессор воздуха, компьютер и запустите панель управления программы Хроматэк Аналитик. Многие настройки уже заданы, и изменять их не нужно. Для задания температуры испарителя, детектора и колонки, а также расхода водорода, воздуха и газа-носителя в меню Режим выберите команду Хроматограф. Для газа-носителя задаются два параметра «Газ 1» и «Газ 2» - представляющие собой величины скорости его потока на входе в капиллярную колонку и в делителе потока (сброс пробы, см. рис. 4.4).

Если хроматограф не включали длительное время, может потребоваться настройка режима поджига в соответствующем окне.

Хроматограф готов к проведению анализа, когда зажигается сигнал «ГОТОВ» на панели встроенного контроллера, рис. 4.12. С помощью микрошприца вводят пробу в испаритель. Микрошприц удаляют из испарителя через 0.5 сек после того, как введена проба, и сразу же нажимают кнопку «СТАРТ» на панели контроллера или запускают сеанс из панели управления. Хроматограмма автоматически записывается на компьютере. Необходимо заполнить ее паспорт перед выходом из сеанса программы.



Рис. 4.12. Панель контроллера хроматографа «Кристалл 2000»

Чтобы обработать хроматограмму, выберите команду «Интегрирование» в меню «Обработка» и нажмите кнопку «ОК». Если качество обработки хроматограммы вас не устраивает, повторите эту операцию, изменив параметры интегрирования в предложенном меню. Чтобы получить количественные характеристики хроматограммы, в меню «Количественный расчет» раздела «Обработка» выберите подходящий вариант и нажмите кнопку «ОК». Результатом будет таблица со значениями времен выхода компонентов – максимумов пиков, их площадей и высот.

#### **Работа 4.1**

Используя данные о параметрах колонки и метода, рассчитайте значение мертвого времени с помощью газового калькулятора. Затем измерьте мертвое время экспериментально, введя в хроматограф с помощью микрошприца газообразный метан. Сравните полученные значения.

#### **Работа 4.2**

Введите в хроматограф какое-либо летучее индивидуальное жидкое вещество, измерьте его время удерживания и, используя данные о параметрах колонки и метода, определите значения объема удерживания, исправленного объема удерживания, константы

межфазного распределения и предельного коэффициента активности в неподвижной фазе.

### **Работа 4.3**

Растворитель 646 популярен среди широкого круга людей. Он применяется для разбавления красок, выведения пятен и других целей. Растворитель 646 содержит компоненты с различной полярностью: толуол, этанол или изопропанол, бутанол, этилцеллозольв, ацетон и бутил- или амилацетат.

Методом хроматографического анализа установите качественный и количественный состав растворителя 646.

Для этого сначала запишите хроматограммы точно измеренных количеств чистых компонентов растворителя. Произведите идентификацию пиков на хроматограмме растворителя на основе значений времен удерживания. По соотношению площади пика и количества введенного чистого вещества определите чувствительность детектора по каждому компоненту. Используя полученные значения чувствительности детектора, определите содержание каждого компонента в растворителе.

## Статический парофазный газохроматографический анализ

В парофазном газохроматографическом анализе определяется состав пара над образцом. Этот метод позволяет исследовать свойства твердых или жидких образцов, которые невозможно ввести в испаритель хроматографа по тем или иным причинам, путем анализа их пара, а также изучать равновесия жидкость – пар. В статическом варианте парофазного метода анализируется проба пара, который был предварительно уравновешен с конденсированной фазой в замкнутом пространстве. В динамическом варианте анализ проводится для пара, который получен продувкой газа через изучаемый твердый или жидкий образец, непосредственно в ходе этой продувки. Статический парофазный анализ имеет преимущество перед динамическим по простоте применяемых аппаратных решений и физико-химической интерпретации полученных результатов. Недостатком статического метода является его более низкая чувствительность по сравнению с динамическим вариантом.

Существует несколько вариантов статического парофазного анализа, которые различаются способом отбора пробы пара из замкнутой исследуемой системы. Один из таких вариантов реализуется в устройстве, изображенном на рис. 4.13. Устройство работает на основе принципа электропневматического дозирования за счет остановки на короткое время подачи газа-носителя на вход хроматографической колонки и делителя потока. Управление подачей гелия осуществляется компьютером при помощи электропневматического клапана. Все линии на пути пробы пара сорбата от стеклянной ампулы с изучаемой системой до капиллярной колонки, включая полую иглу ввода, нагреваются до температуры 100°C и выше. Такой нагрев исключает искажение результатов анализа, обусловленное сорбцией паров малолетучих веществ на внутренних частях дозирующего устройства. Для того чтобы можно было ввести в хроматографическую колонку достаточно большую пробу пара за короткое время, в ампуле с образцом создается избыточное давление газа-носителя, обычно 2.4 атм. При времени дозирования не более 1-2 с объем отбираемой пробы пара гостя составляет малую часть от общего объема паровой фазы в исследуемой системе.

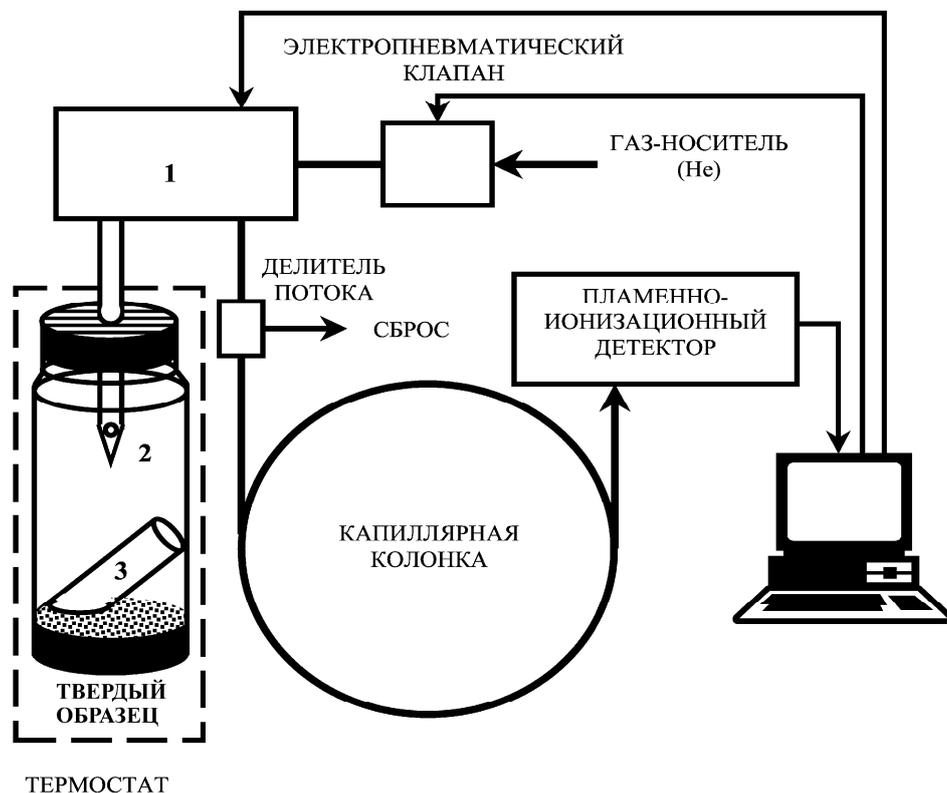


Рис. 4.13. Принципиальная схема хроматографа с устройством статического паровозного анализа: 1 – нагреваемая линия переноса пробы от дозатора к колонке, 2 – нагреваемая полая игла дозатора, 3 – стеклянный контейнер для жидкого сорбата, используемый при изучении сорбционных равновесий

### Подготовка образцов

Навески твердых образцов или заданные объемы исследуемых жидкостей, помещенные в стеклянные ампулы, герметично запечатывают с помощью специального обжимного устройства. Затем ампулы помещают в барабан. При работе с паровозной приставкой TurboMatrix к хроматографу PerkinElmer Clarus 580 на сенсорном экране приставки задаются все параметры эксперимента: температура печи, иглы и линии переноса пробы, времена термостатирования, нагнетания и отбора пробы, число отборов пробы из каждой ампулы, давление газа-носителя и другие. Перед началом анализа необходимо задать метод для хроматографа и дождаться его выхода в режим готовности. Для установления равновесия между паром и раствором обычно достаточно 10 минут термостатирования. Для сорбции на твердых образцах это время намного больше, на скорость установки равновесия влияет летучесть определяемых компонентов, величина навески сорбента, степень его измельчения, насыпная плотность и

вид сорбции. Равновесие устанавливается быстрее при сорбции на границе раздела фаз и медленнее при образовании клатратов или набухании полимеров в процессе сорбции.

В тех случаях, когда необходимо определить предельный коэффициент активности летучего вещества, его дозируют в нужном количестве с помощью микрошприца, опустив кончик иглы непосредственно в растворитель. При определении параметров сорбции летучих соединений твердыми веществами берут 10-15 одинаковых навесок твердого сорбента в стеклянных ампулах. Затем в каждую ампулу помещают открытые стеклянные контейнеры, рис. 4.13, куда дозируют разные количества жидкого сорбата с помощью микрошприца.

### Определение коэффициентов активности

Чтобы определить коэффициент активности растворенного вещества необходимо провести парофазный анализ соответствующего раствора, а также растворенного вещества в чистом виде.

Если суммарное давление пара всех компонентов раствора меньше 30-40 кПа (0.3-0.4 атм), то неидеальностью паровой фазы в системе можно пренебречь. В этом случае площадь пика  $S$  компонента на хроматограмме будет пропорциональна парциальному давлению пара  $P$  этого компонента в системе. Соответственно, термодинамическая активность компонента в системе может быть вычислена по уравнению:

$$a = \frac{P}{P_0} = \frac{S}{S_0},$$

где  $S_0$  – площадь пика на хроматограмме пробы пара над чистым компонентом.

Для расчета коэффициента активности  $\gamma$  растворенного вещества необходимо знать его концентрацию в растворе  $X$ , выраженную в мольных долях. Эта величина вычисляется на основе данных о числе молей растворенного вещества  $n_1$  и растворителя  $n_2$  в системе, объема паровой фазы в системе  $V$ , температуры  $T$ , измеряемой величины термодинамической активности растворяемого соединения  $a = P/P_0$ , и его давления насыщенного пара  $P_0$ :

$$X = \frac{n_1 - \frac{aP_0V}{RT}}{n_1 + n_2}$$

Величина коэффициента активности  $\gamma$  рассчитывается по уравнению:

$$\gamma = \frac{P}{P_0 X} = \frac{S}{S_0 X}$$

Для малолетучих растворенных веществ с небольшими значениями  $\gamma$  величина  $aP_0V/RT$  мала, и их концентрация в растворе примерно равна величине, рассчитанной по данным о количестве компонентов в системе,  $X \approx n_1/(n_1+n_2)$ .

#### **Работа 4.4**

Определите значения коэффициентов активности этанола в воде в предельно разбавленном растворе и растворе с мольной долей этанола 0,163 в диапазоне температур 25 – 50 °С с шагом 5 °С. Оцените энтальпию растворения этанола в воде при предельном разбавлении. Сравните полученные результаты с литературными данными.

#### **Работа 4.5**

Методом парофазного анализа определите содержание н-пропанола в коньяке. Для этого запишите хроматограммы чистого коньяка и коньяка с добавлением известного количества н-пропанола.

### **РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА:**

1. Б.В. Столяров и др. Практическая газовая и жидкостная хроматография. СПб: Изд-во СПбГУ, 2002.
2. В.А. Винарский. Хроматография. Минск: БГУ, 2003.
3. Гишон Ж., Гийемен К. Количественная газовая хроматография для лабораторных анализов и промышленного контроля. М.: Мир, 1991.
4. Руководство по газовой хроматографии. Под ред. Э. Лейбница, Х. Г. Штруппе в 2-х т., М.:Мир, 1988.

## 5. ДЕНСИМЕТРИЯ

### *Основные понятия и определения*

Термодинамические свойства раствора, как и любой другой термодинамической системы, подразделяются на **ЭКСТЕНСИВНЫЕ** и **ИНТЕНСИВНЫЕ**. Экстенсивные свойства зависят от количества вещества, а интенсивные свойства не зависят.

Экстенсивные термодинамические свойства  $V$ ,  $U$ ,  $H$ ,  $G$ ,  $A$ ,  $S$  обычно относят ко всему раствору как единому целому, а не к отдельным его компонентам. Для характеристики вклада в экстенсивное свойство раствора того или иного компонента используются парциальные молярные величины.

Парциальной молярной величиной данного компонента ( $\bar{Z}_i$ ) называют частную производную от экстенсивного свойства раствора ( $Z$ ) по числу молей этого компонента ( $n_i$ ) при постоянстве температуры, давления и числа молей всех остальных компонентов (уравнение 5.1):

$$\bar{Z}_i = \left[ \frac{dZ}{dn_i} \right]_{P,T,n_j} \quad (5.1)$$

Парциальная молярная величина ( $\bar{Z}_i$ )  $i$ -того компонента характеризует изменение данного экстенсивного свойства раствора ( $Z$ ) при добавлении 1 моль  $i$ -того компонента к столь большому количеству раствора, что добавление этого количества компонента практически не изменяет состава раствора.

Символом парциальной молярной величины является горизонтальная черта над буквенным обозначением свойства. Нижний индекс означает номер компонента раствора. Индексом «1» обычно обозначают растворитель, а индексом «2» - растворенное вещество.

Согласно уравнению 5.1

$$\left[ \frac{dV}{dn_i} \right]_{P,T,n_j} = \bar{V}_i \quad \left[ \frac{dH}{dn_i} \right]_{P,T,n_j} = \bar{H}_i \quad \left[ \frac{dS}{dn_i} \right]_{P,T,n_j} = \bar{S}_i \quad (5.2)$$

Сравнение уравнений 5.1 и 5.2 показывает, что

$$\mu_i = \left[ \frac{dG}{dn_i} \right]_{P,T,n_j} = \bar{G}_i \quad (5.3)$$

Т.е. химический потенциал компонента раствора ( $\mu_i$ ) является парциальной молярной величиной или, конкретнее, парциальной молярной энергией Гиббса.

Парциальные молярные величины, характеризующие изменение экстенсивных свойств раствора, могут быть, в отличие от самих свойств, как положительными, так и отрицательными. Они имеют то же значение в термодинамических расчетах процессов в растворах, что и соответствующие функции ( $V$ ,  $U$ ,  $H$ ,  $G$ ,  $S$ ) при расчетах реакций, протекающих с участием простых веществ.

Например, для чистого вещества известны соотношения:

$$\left[ \frac{dG}{dT} \right]_P = -S \quad \left[ \frac{dG}{dP} \right]_T = V \quad G=H-TS \quad (5.4)$$

Для парциальных молярных величин компонентов раствора справедливы аналогичные термодинамические соотношения:

$$\left[ \frac{d\bar{G}}{dT} \right]_{P,n_j} = -\bar{S}_i \quad \left[ \frac{d\bar{G}}{dP} \right]_{T,n_j} = \bar{V}_i \quad \bar{G}_i = \bar{H}_i - T\bar{S}_i \quad (5.5)$$

Если раствор находится при постоянных  $T$  и  $P$ , то его экстенсивное свойство будет зависеть только от состава раствора:

$$Z = f(n_1, n_2, \dots, n_k)$$

тогда

$$dZ = \left[ \frac{dZ}{dn_1} \right]_{P,T,n_2 \dots n_k} dn_1 + \left[ \frac{dZ}{dn_2} \right]_{P,T,n_1 \dots n_k} dn_2 + \dots + \left[ \frac{dZ}{dn_k} \right]_{P,T,n_1, n_2 \dots n_{k-1}} dn_k$$

или

$$dZ = \bar{Z}_1 dn_1 + \bar{Z}_2 dn_2 + \dots + \bar{Z}_k dn_k \quad (5.6)$$

где  $dZ$  - изменение экстенсивного свойства раствора при добавлении к нему  $dn_1$  молей 1-го компонента,  $dn_2$  молей 2-го компонента и т.д. небольшими порциями и в таком соотношении, чтобы состав раствора

не изменялся. При таком добавлении изменится масса раствора, а парциальные молярные величины останутся неизменными.

Величину экстенсивного свойства раствора находим, проинтегрировав уравнение 5.7:

$$Z = \bar{Z}_1 n_1 + \bar{Z}_2 n_2 + \dots + \bar{Z}_k n_k \quad (5.7)$$

Постоянная интегрирования в уравнении 5.7 равна нулю, так как при всех  $n_i=0$   $Z=0$ . Уравнение (5.7) называется **первым уравнением Гиббса-Дюгема**.

Если в качестве экстенсивного свойства раствора взять, например, объем, то уравнение 5.7 преобразуется к виду

$$V = \bar{V}_1 n_1 + \bar{V}_2 n_2 + \dots + \bar{V}_k n_k \quad (5.8)$$

где  $V$  – общий объем раствора. Аналогично, при постоянстве состава раствора можно через парциальные молярные величины выразить и другие экстенсивные свойства раствора.

Если одновременно изменяются и состав, и его количество, то при дифференцировании уравнения 5.7 получаем общее изменение экстенсивного свойства:

$$dV = \bar{V}_1 dn_1 + \bar{V}_2 dn_2 + \dots + \bar{V}_k dn_k + n_1 d\bar{V}_1 + n_2 d\bar{V}_2 + \dots + n_k d\bar{V}_k \quad (5.9)$$

Приравняв уравнения 5.6 и 5.9, получаем **второе уравнение Гиббса-Дюгема**:

$$n_1 d\bar{V}_1 + n_2 d\bar{V}_2 + \dots + n_k d\bar{V}_k = 0 \quad (5.10)$$

Для бинарных растворов уравнение 5.7 принимает вид:

$$V = \bar{V}_1 n_1 + \bar{V}_2 n_2 \quad (5.11)$$

Кроме парциальных молярных величин в термодинамике растворов получили распространение и успешно используются для решения различных задач так называемые кажущиеся молярные величины. Если  $Z$  – экстенсивное свойство раствора, содержащего  $n_1$  моль растворителя и  $n_2$  моль растворенного вещества, а  $Z_1^0$  – молярное свойство чистого растворителя, то кажущееся молярное свойство растворенного вещества  $Z_{каж}$  будет определяться уравнением 5.12:

$$Z_{\text{каж}} = \frac{Z - n_1 Z_1^0}{n_2} \quad (5.12)$$

При  $n_2 \rightarrow 0$  кажущееся молярное свойство  $Z_{\text{каж}} \rightarrow \bar{Z}_2$  и в бесконечно разбавленном растворе кажущееся и парциальное свойства совпадают.

В случае макромолекул для удобства расчетов применяют парциальные удельные величины – частные производные от экстенсивного свойства по массе компонента. Соответственно, уравнение 5.12 преобразуется в уравнение 5.13.

$$Z_{\text{каж}} = \frac{Z - m_1 Z_1^0}{m_2} \quad (5.13)$$

где  $m_1$  и  $m_2$  – массы компонентов 1 и 2.

### *Объекты исследования*

Белки́ (протеи́ны) — высокомолекулярные вещества, состоящие из соединённых в цепочку пептидной связью альфа-аминокислот. Белки – это основные и необходимые составные части всех организмов. В живых организмах аминокислотный состав белков определяется генетическим кодом. В ходе белкового синтеза в большинстве случаев используется 20 стандартных аминокислот.

Белки участвуют в большинстве жизненных процессов клетки. Они осуществляют обмен веществ и энергетические превращения. Белки входят в состав клеточных структур — органелл, секретируются во внеклеточное пространство для обмена сигналами между клетками, гидролиза пищи и образования межклеточного вещества. Многие функции белки выполняют благодаря своей ферментативной активности.

**Химотрипсин**, фермент класса гидролаз, расщепляющий белки и пептиды, содержится в секрете поджелудочной железы животных и человека. Вместе с трипсином участвует в расщеплении белков пищи в тонком кишечнике.

**Химотрипсин** синтезируется в клетках поджелудочной железы в виде профермента химотрипсиногена. **Химотрипсиноген** представляет собой полипептидную цепь из 245 аминокислотных остатков, содержащую пять дисульфидных связей, образованных пятью остатками цистина. Он активируется в тонком кишечнике под действием другого фермента - трипсина. Трипсин гидролизует четыре

пептидные связи и удаляет из молекулы химотрипсиногена два дипептида в положении 14-15 и 147-148. В результате образуется активный химотрипсин, состоящий из трех полипептидных цепей, ковалентно связанных двумя дисульфидными мостиками.

**Лактоглобулин** – один из белков коровьего молока. Все молочные белки делятся на две основные группы: казеин (чуть более 80%) и сывороточные белки (около 17%). К сывороточным белкам относятся  $\alpha$ -лактальбумин,  $\beta$ -лактоглобулин, а также иммуноглобулины и сывороточный альбумин.

**Сывороточный альбумин** синтезируется в печени и составляет большую часть среди всех сывороточных белков. Альбумин, содержащийся в крови человека, называется человеческий сывороточный альбумин, он составляет около 60 % от всех белков, содержащихся в плазме крови.

**Сывороточный альбумин** особенно хорошо подходит для выполнения функции переносчиков многих транспортируемых кровью и плохо растворимых в воде веществ. К веществам, связываемым сывороточным альбумином, относятся билирубин, уробилин, жирные кислоты, соли желчных кислот. Среди экзогенных веществ можно выделить такие лекарства, как аспирин, пенициллин, сульфамиды, варфарин, фенобутозон. Одна молекула альбумина может одновременно связать 25—50 молекул билирубина (молекулярная масса 500 Да). По этой причине сывороточный альбумин иногда называют «молекула-такси».

**Лизоцим** катализирует гидролиз полисахаридов, являющихся основным компонентом клеточных стенок бактерий. **Лизоцим** - относительно небольшой глобулярный белок. Лизоцим, выделенный из белка куриных яиц, где он содержится в большом количестве, представляет собой одну полипептидную цепь из 129 аминокислотных остатков и массой 14,6 кДа. В молекуле лизоцима имеется 4 дисульфидных мостика.

### *Ход работы на плотномере DMA 5000 M*

Общий вид управляющей части плотномера DMA 5000 M фирмы Anton Paar представлен на рис. 5.1.



Рис. 5.1. Блок управления денсиметра DMA 5000 M.

### Работа 5.1

А) Первый шаг – приготовление по заданию преподавателя серии растворов модельного белка пяти различных концентраций,

Б) Второй шаг – определение плотности растворов. Для этого отберите 1.0 мл раствора белка в шприц и введите пробу в прибор как указано на рис. 5.1.

Подождите несколько минут, пока прибор не выйдет на заданную температуру. По достижении заданной температуры на экране появляется слово **VALID** (Рис. 5.2).

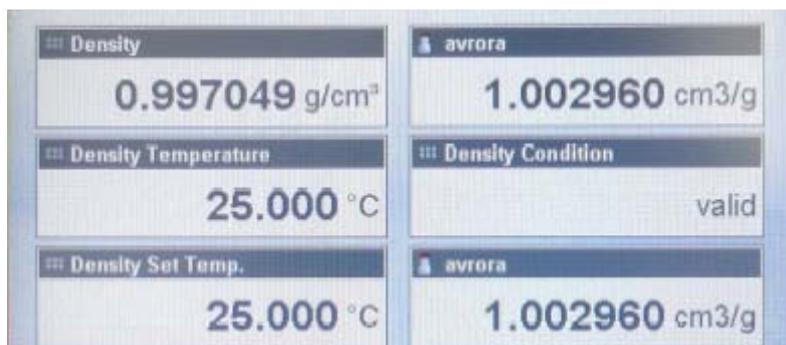


Рис. 5.2. Показания сенсорного экрана, указывающего на достижение заданной температуры.

Нажмите на сенсорном экране кнопку **START** (рис. 5.3).

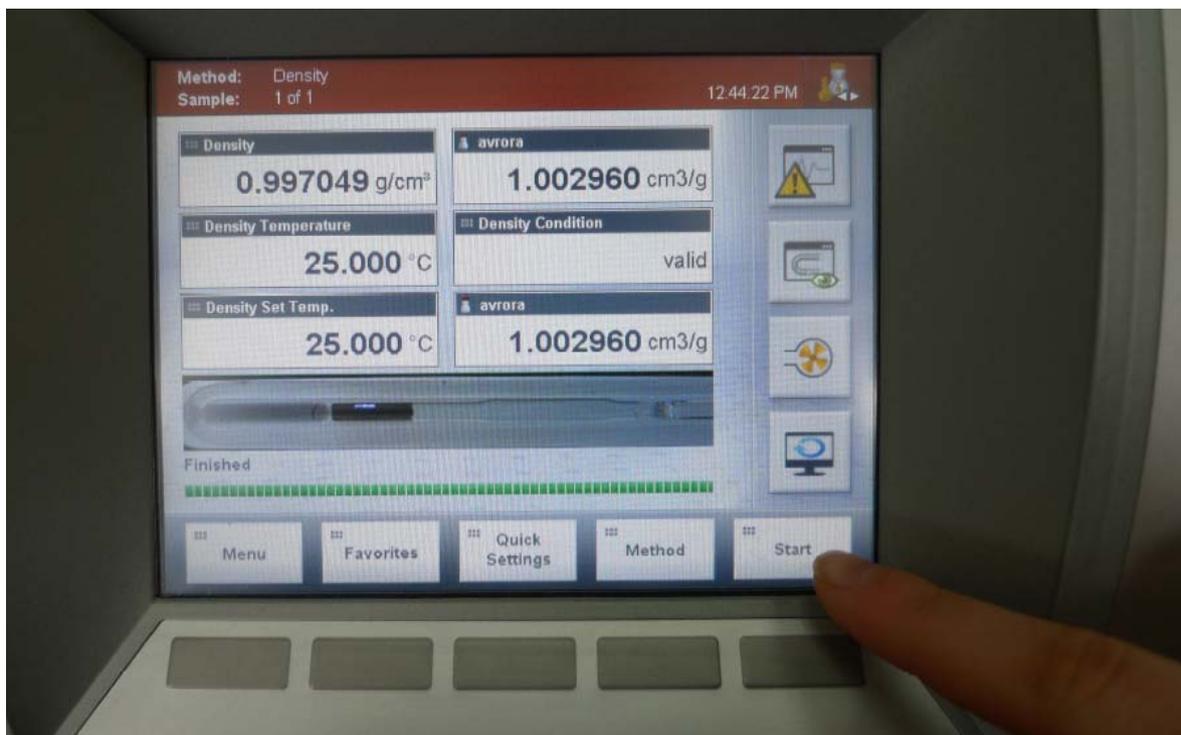


Рис. 5.3. Показания сенсорного экрана, свидетельствующие, что можно начинать эксперимент.

На экране появится слово **MEASURING** (рис. 5.4). Это свидетельствует о том, что идет процесс измерения.

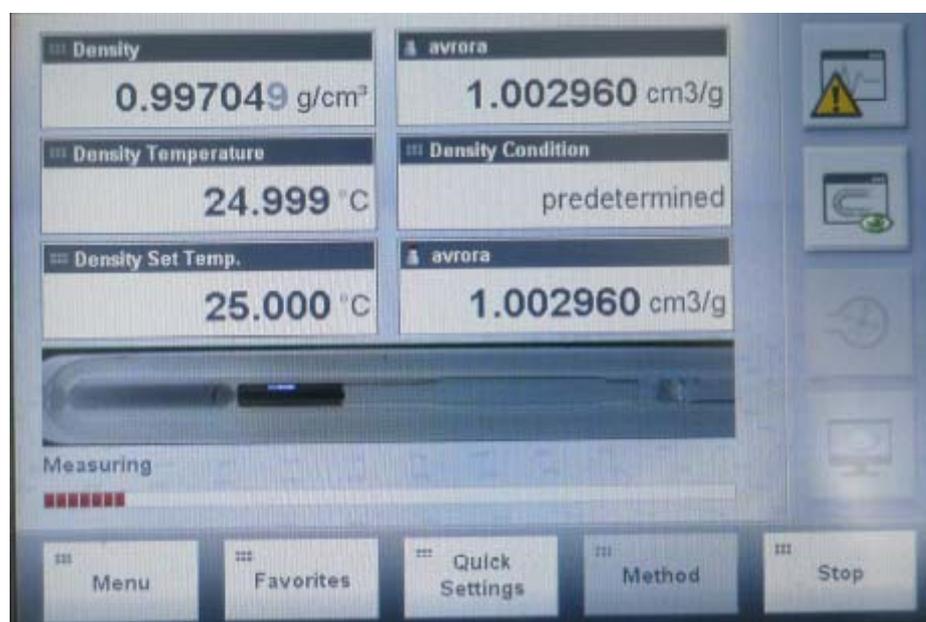


Рис. 5.4. Сенсорный экран показывает, что идет процесс измерения.

Когда измерение закончится, на экране появится слово **FINISHED** (рис. 5.2). Запишите полученное значение плотности раствора (Окошко **DENSITY** на сенсорном экране).

В) Третий шаг – измерение плотности растворов пяти концентраций белка и построение калибровочной линейной зависимости.

### **Работа 5.2**

На основании полученной калибровочной кривой для модельного белка определите неизвестную концентрацию раствора модельного белка. Дайте статистическую характеристику полученной калибровочной кривой (угловой коэффициент, свободный член, коэффициент корреляции, стандартное отклонение).

Раствор белка выдается преподавателем.

### **Работа 5.3**

На основании полученных данных в задании №1 рассчитайте кажущийся удельный объем модельного белка в области низких концентраций по представленной формуле:

$$V_{2,\text{каж}} = \frac{V - m_1 V_1^0}{m_2}$$

где  $V_{2,\text{каж}}$  - кажущийся удельный объем белка ( $\text{см}^3/\text{г}$ ),  $V$  - объем раствора,  $V_1^0$  - объем чистого растворителя.

На основании проведенных расчетов дайте характеристику полученных зависимостей кажущихся удельных объемов в области низких концентраций, рассчитайте парциальный удельный объем белка и сравните с литературными данными.

### **РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА:**

1. Курс физической химии / Под ред. Герасимова Я.И. М.: Химия, 1969. Т.1.
2. Эткинс П. Физическая химия. М.: Мир. 1980. Т.1.
3. Северин Е.С. Биохимия: Учеб. для вузов. М.: Мед. 2004. 779 с.
4. Березов Т.Т. Биологическая химия. М.: Медицина. 2006. 704с.