Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования

«Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

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

#####

##### ***Медико-психолого-фармацевтический факультет***

Кафедра биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии

**Отчёт по лабораторной работе**

По дисциплине «Химия»

Тема: «**Определение жесткости воды и концентрации ионов кальция в биологических жидкостях методом комплексонометрии**»

 Выполнил(а): студент(ка)

 Группы \_\_\_ пед

 ФИО

 Проверила:

доцент Залога А.Н.

Красноярск 2021

 **Теоретическая часть**

Метод комплексонометрии – один из методов титриметрического анализа, основанный на образовании прочных и хорошо растворимых в воде внутрикомплексных соединений ионов металлов с титрантом (комплексонами). Комплексоны – это группа органических соединений, являющихся полидентатными лигандами. Комплексонами выступают аминополикарбоновые кислоты и их соли. На практике наиболее широкое применение нашел ***комплексон III*** – динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (Na2ЭДТА или Трилон-Б; М.М.дигидрата=372,24 г/моль), сокращенно ***Na2H2****Y (см. формулу справа)*.

В водном растворе трилон Б диссоциирует и имеет кислую реакцию:

Nа2Н2Y = 2 Nа+ + Н2Y 2-

ЭДТА образует со многими катионами металлов устойчивые малодиссоциированные растворимые в воде внутрикомплексные соли. В комплексах часть связей носит ионный характер, часть – донорно-акцепторный. Трилон Б с ионами металлов любого заряда образует четырех- пяти- или шестикоординационный комплекс с пятичленными циклами. Атом металла находится в окружении атомов кислорода и атомов азота, находящихся в цис-положении.

2-

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

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

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

 Ме2+ + Н2Y2- → МеY2- + 2Н+

 Ме3+ + Н2Y2- → МеY- + 2Н+

 Ме4+ + Н2Y2- → МеY + 2Н+

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

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

 Ме2+ + 2 НInd ↔ МеInd2 + 2 Н+

 Цвет 1 Цвет 2

 МеInd2 + Н2Y2− ↔ МеY2− + 2 НInd

 Цвет 2 Цвет 1

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

В зависимости от рН раствора *существуют три окрашенные формы этого красителя*. При рН < 6 раствор имеет винно-красный цвет, ***при рН = 7-11 – синий цвет,*** при рН > 11,5 – желто-оранжевый цвет. ***В слабо щелочном растворе*** *эриохром черный Т образует с ионами магния, цинка и некоторыми другими катионами* ***интенсивно окрашенные винно-красные комплексы***. Поэтому *при рН 8-10 переход окраски индикатора из винно-красной в синюю окраску проявляется наиболее отчетливо.*

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

H2Ind- + Mе2+ ⇄ MеInd- + 2H+

 *синий винно-красный*

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

MеInd- + Na2[H2Y] ⇄ Na2[MeY] 2- + H2Ind-

 *винно-красный синий*

 Чтобы химическое равновесие указанных реакций было сдвинуто вправо, для полноты протекания реакций комплексообразования требуется щелочная среда. Однако в сильнощелочных растворах (при рН>10) наблюдается образование оксикомплексных соединений металлов или выпадение осадков гидроксидов металлов. В связи с этим для создания щелочной среды к исследуемому раствору добавляют аммиачный буферный раствор (NH4Cl / NH3∙H2О), который поддерживает рН = 8-10.

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

Константы устойчивости комплексных соединений кальция и магния с трилоном Б различаются на два порядка (2∙1011 и 2∙109), поэтому эти ионы нельзя отттитровать раздельно, используя только различие в константах устойчивости комплексов. Титруя исследуемый раствор при рН =10 с эриохромовым черным Т определяют сумму кальция и магния.

***Создавая рН 12 с помощью NaOH***, можно осадить ионы магния в виде гидроксида, а затем определить ионы кальция *в присутствии мурексида*, который при рН12 дает сиреневую окраску. Мурексид представляет собой аммониевую [соль](http://www.xumuk.ru/encyklopedia/2/4124.html) 5,5'-нитрилодибарбитуровой кислоты, или пурпурат [аммония](http://www.xumuk.ru/bse/159.html). Ионы кальция мурексид комплексирует при рН 10,8÷13,2. При других значениях рН мурексид комплексирует другие ионы.

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

Согласно определению, ***жесткость воды*** – это количество миллимоль эквивалентов катионов Са2+ и Mg2+ , содержащихся в 1 литре воды.

Отсюда, формула для определения жесткости воды:

$Ж\_{Н\_{2}О}=\frac{n(\frac{1}{z}Ca^{2+}, Mg^{2+})∙10^{3}}{V\_{л}(H\_{2}O)}=\frac{n(\frac{1}{z}трилона Б)∙10^{3}}{V\_{л}(H\_{2}O)}=\frac{(С\_{э}∙V\_{л})\_{трилона Б}∙10^{3}}{V\_{л}(H\_{2}O)}$, ммоль/л

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

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

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

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

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

**Цель работы:**

Определить общую жесткость воды и концентрацию ионов кальция Ca2+ в биологической жидкости методом комплексонометрии.

**Реактивы и оборудование:**

1. Бюретка
2. Пипетка на 5 мл и 10 мл
3. Колбы для титрования на 100 мл
4. Мерный цилиндр на 50 мл
5. Мерные пробирки на 10 мл
6. Индикаторы: эриохром черный и мурексид
7. Титрованный 0,05 Э раствор Трилон Б
8. Биологическая жидкость
9. Раствор NaOH - 10% (или 2Э)
10. Шпатель
11. Аммиачный буферный раствор с рН10

**Практическая часть** 

**Опыт 1. Определение общей жесткости воды**

**Принцип метода:** Трилон Б в щелочной среде вытесняет индикатор эриохром черный Т из его комплекса с катионами Са2+ и Mg2+. Свободный эриохром в щелочной среде окрашивает раствор в синий цвет. Поэтому титрование проводят до появления синей ораски.

**Порядок выполнения работы**

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

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

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

Пониженный уровень кальция в крови может быть обусловлен дефицитом этого макроэлемента и витамина D. Пониженный уровень кальция в крови также может быть вызван нарушениями всасываемости веществ, заболеваниями почек и печени, эндокринными и другими расстройствами. Пониженный уровень кальция в крови может быть результатом приема некоторых лекарств противосудорожных препаратов, противоопухолевых средств, неомицина и пр.

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

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

Все физиологические эффекты кальция (участие в мышечном сокращении, в механизмах секреции гормонов, рецепторных процессах, в механизмах клеточного деления и др.) осуществляются его ионизированной формой (Ca2+). Свободный кальций составляет от 43% до 50% общего кальция. Его концентрация варьирует в течение суток: минимальная концентрация в 20 ч, максимальная в 2 - 4 часа ночи. Уровень ионизированного кальция поддерживается паратгормоном, кальцитонином, активной формой витамина Д3. Продукция этих гормонов, в свою очередь, зависит от уровня Ca2+. На его концентрацию в крови влияют многие факторы - белки, магний (необходимо обязательно исследовать концентрацию магния, если обнаруживается гипокальциемия!). Очень важным является кислотно-основное состояние (КОС): алкалоз увеличивает связывание и снижает концентрацию, а ацидоз, напротив, снижает связывание и увеличивает концентрацию ионизированного кальция в крови. Определение ионизированного кальция более информативно, по сравнению с исследованием общего кальция, для диагностики гиперкальциемических состояний, в частности при первичном гиперпаратиреоидизме (для которого характерно повышение в крови концентрации свободного кальция и неизмененный уровень общего кальция), у больных с онкопатологией, у пациентов, находящихся на диализе.

**Принцип метода определения кальция.**

В присутствии концентрированной щелочи ионы магния осаждаются, а ионы кальция в среде с рН 10,8÷13,2 дают с мурексидом комплекс, окрашенный в *розовый цвет* *(при рН12)* (цвет будет зависеть от создаваемой рН и может быть красным). При титровании Трилоном Б индикатор мурексид высвобождается из комплекса, что сопровождается изменением цвета раствора от розового *на сиреневый* вблизи точки эквивалентности (этот цвет тоже будет зависеть от рН и может быть лилово-фиолетовым).

**Порядок выполнения работы**

1. В колбу для титрования вносят 10 мл исследуемой биологической жидкости (мочи), добавляют 40 мл дистиллированной воды, 5 мл 10% (или 2Э) раствора NaOH (отмерить мерной пробиркой) и на кончике шпателя – индикатор мурексид. Раствор приобретает красно-оранжевую (розовую) окраску.
2. Содержимое колбы медленно титруют, добавляя по каплям из бюретки раствор трилона Б до перехода окраски в сиреневую.
3. Титрование проводят 3-5 раз, для расчета берут средний объем титранта. Масса ионов кальция, взятая на титрование mт (то есть, в 10 мл мочи):

mт($Ca^{2+})= M\left(\frac{1}{z}Ca^{2+}\right)∙C\_{э}(трил.Б)∙\overbar{V\_{мл}}(трил.Б)∙10^{-3}$, г

В пересчете на суточный объем мочи ≈1500 мл это будет:

m($Ca^{2+})\_{сутки}= \frac{m^{т}\left(Ca^{2+}\right) ∙ 1500}{10}=150∙m^{т}\left(Ca^{2+}\right) $, г/сутки

*Сравниваем с нормой и делаем вывод.*

**Вопросы для защиты работы**

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