

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Южно-Уральский государственный университет
(национальный исследовательский университет)»
Институт естественных и точных наук
Факультет «Химический»
Кафедра «Теоретическая и прикладная химия»

РАБОТА ПРОВЕРЕНА

Рецензент, к.х.н., доцент
доцент кафедры аналитической
химии ЧелГУ

_____ С.Е. Працкова
«__» _____ 2020 г.

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой, д.х.н.,
профессор

_____ О.К. Шарутина
«__» _____ 2020 г.

Кинетико-фотометрическое определение оксалата по
каталитическому действию на окисление иодида

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ЮУрГУ – 04.03.01. 2020. 306-546-2019. ВКР

Руководитель, к.х.н., доцент

_____ Е.И. Данилина
«__» _____ 2020г.

Автор

студент группы ЕТ-431

_____ О.А. Хайбуллина
«__» _____ 2020г.

Нормоконтролер, к.х.н., доцент

_____ О.Н. Груба
«__» _____ 2020 г.

Челябинск 2020

РЕФЕРАТ

Хайбуллина О.А. Кинетико-фотометрическое определение оксалата по каталитическому действию на окисление иодида. – Челябинск: ЮУрГУ, ЕТ-431, 65 с., 14 ил., 11 табл., библиогр. список – 52 наим., 1 прил.

Кинетический анализ, фотометрическое определение, оксалат, иод, крахмал, метод тангенсов, кинетическая кривая.

Цель работы – разработка пригодного для массового анализа метода определения оксалата с оптимизацией условий проведения реакции.

Для достижения цели исследования решены следующие задачи:

- проведен литературный обзор по проблеме исследования;
- изучена возможность определения в видимой области по комплексу иода с крахмалом вместо УФ-области;
- доказаны каталитические свойства оксалат-иона;
- исследовано влияния условий реакции на ход ее протекания;
- найдены метрологические характеристики определения оксалата;
- проведен анализ пищевых продуктов.

Область применения – полученные в ходе работы данные могут применяться для определения содержания в продуктах питания оксалат-ионов, влияющих на правильное функционирование обменных процессов в животных организмах.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	7
1.1 Общая характеристика кинетических методов анализа	7
1.1.1 Теоретическая основа кинетических методов	8
1.1.2 Основные приемы кинетических методов.....	8
1.1.3 Преимущества и недостатки кинетических методов.....	10
1.1.4 Применение кинетических методов анализа.....	10
1.2 Методы определения оксалат-ионов.....	11
1.2.1 Титриметрические методы.....	11
1.2.2 Колориметрические методы.....	12
1.2.3 Хроматографические методы.....	13
1.2.4 Люминесцентные методы.....	16
1.2.5 Спектрофотометрический метод.....	17
1.2.6 Кинетическое определение с фотометрическим детектированием.....	18
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	20
2.1 Приборы и реактивы.....	20
2.2 Методика определения оксалат-иона	21
2.3 Методика определения оксалата в пищевых продуктах.....	21
3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	22
3.1 Спектр поглощения.....	22
3.2 Кинетические кривые.....	23
3.3 Влияние концентрации крахмала	27
3.4 Влияние изменения рН на скорость реакции.....	29
3.5 Влияние концентрации оксалат-иона на скорость реакции.....	33
3.6 Метрологические характеристики.....	34
3.7 Определение содержания оксалата в пищевых продуктах.....	36
ВЫВОДЫ.....	42
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	43
ABSTRACT.....	47
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	48
Кинетические кривые.....	48

ВВЕДЕНИЕ

Щавелевая кислота – самая распространенная низкомолекулярная органическая кислота, производимая живыми организмами. В основном находится в виде кристаллогидрата с двумя молекулами воды. В природе она может встречаться в свободном состоянии, но чаще – в виде её растворимых солей, называемых оксалатами.

Щавелевая кислота находит широкое применение при производстве красителей, чернил, пластмасс, в химической металлургии – в качестве специального состава для очистки металлов от ржавчины и оксидов, в текстильной промышленности – при окрашивании шелка и шерсти. В косметологии она используется как отбеливающий компонент кремов. Используется для уменьшения жесткости воды и для ее очистки от примесей [1].

Оксалат-ионы, как правило, синтезируются в результате неполного окисления углеводов, а также во время некоторых биологических и промышленных процессов. Оксалаты содержатся во многих растениях, таких как шпинат, грибы, сельдерей, ревень, свекла и другие. Знание концентрации оксалата в биологических жидкостях, таких как кровь и моча, может быть полезно в исследовании, при постановке диагноза и медицинской помощи в лечении различных заболеваний, включая хроническую почечную недостаточность, первичную гипероксалурию, кишечная мальабсорбцию, нефролитиаз, стеаторрею и другие [2 – 5]. С другой стороны, вследствие низкой растворимости оксалатов (например, оксалата кальция) и последующего их осаждения на поверхности испарительных установок реакторы, трубопроводы, насосы – все это может привести к серьезным эксплуатационным проблемам [6]. В связи с этим большой интерес представляет точное определение оксалата в различных пищевых, биологических и экологических матрицах.

Среди методов, применяющихся для аналитического определения оксалат-иона, выделяются кинетические методы, в которых возможно использование самых разнообразных химических реакций, в том числе и медленных. Эти методы характеризуются сравнительно малым влиянием матрицы по сравнению с измерением самой оптической плотности, а также в целом малым влиянием побочных процессов. Еще одним преимуществом выступает высокая чувствительность, позволяющая определять следовые количества анализируемого вещества. Однако их недостатком является необходимость точного воспроизведения условий эксперимента каждый раз при проведении анализа, и иногда аналитический сигнал основан на поглощении в УФ области, что требует более дорогого оборудования и более тщательного соблюдения условий определения.

В данной работе предложен и исследован метод определения оксалат-иона в некоторых пищевых продуктах кинетическим методом с фотометрическим определением в видимой области по его каталитическому действию на окисление иодид-иона.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Общая характеристика кинетических методов анализа

Современная аналитическая химия использует множество методов, основанных на регистрации изменения химических, физико-химических или физических свойств веществ в ходе химических реакций (с предварительным отделением определяемого компонента или без этого). В действительности любой химический процесс, независимо от его природы, протекает с конечной скоростью и стремится к установлению равновесия, так что можно выделить две характерные области – кинетическую (динамическую) и равновесную (статическую); последняя реализуется, когда все протекающие в системе реакции достигли состояния равновесия, как изображено на рисунке 1.1. Обе области можно использовать для получения разнообразной аналитической информации.

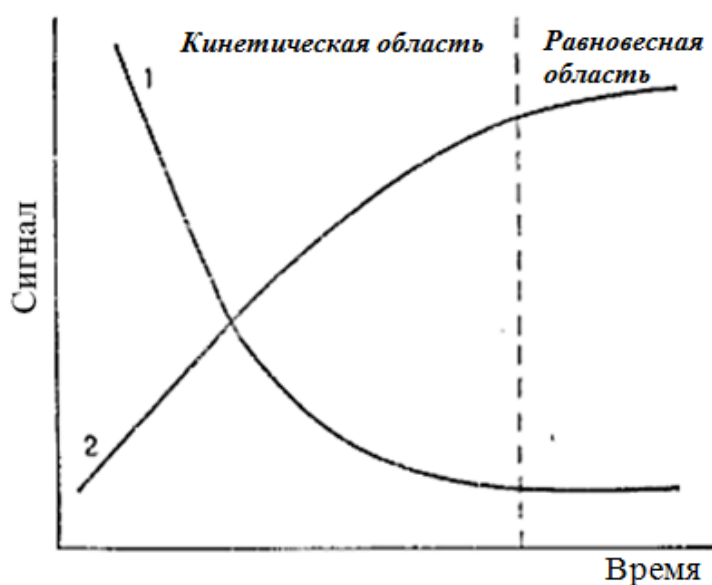


Рисунок 1.1 – Кинетическая и равновесная области протекания химической реакции

На рисунке 1.1 аналитический сигнал представлен как функция времени для случая исчезновения реагента (1) и образования продукта (2).

Кинетические методы стали интенсивно развиваться в 60-е годы, когда возникла потребность в высокочувствительных методах для анализа на примеси особо чистых веществ, полупроводниковых соединений, объектов окружающей среды. И хотя для обнаружения элементов кинетические методы использовали еще в начале XX века, лишь через полвека эти методы стали широко применять в количественном анализе.

Кинетические методы основаны на использовании зависимости скорости химической реакции от концентрации реагирующих веществ, а в случае каталитических реакций и от концентрации катализатора [7].

1.1.1 Теоретическая основа кинетических методов

В качестве аналитического сигнала в кинетическом методе выступает скорость процессов, которые лежат в основе определения или обнаружения компонентов. При этом реакцию с измеряемой скоростью называют индикаторной реакцией, а индикаторным веществом принято называть вещество, по изменению концентрации которого можно сделать вывод о скорости процесса. В роли индикаторных наиболее часто используются окислительно-восстановительные реакции, а за изменением индикаторного вещества во времени чаще всего следят при помощи люминесцентного или спектрофотометрического методов.

Если определяемым компонентом является катализатор или связанные с ним соединения – это каталитический вариант кинетического метода (каталитический метод). Вещества, которые взаимодействуют с катализатором, называют эффекторами. Они могут увеличивать каталитическую активность, соответственно, и скорость реакции, – активаторы, или уменьшать ее – ингибиторы.

Если определяемое вещество – реагент или продукт реакции, тогда говорят о некаталитическом варианте кинетического метода. Отличительной чертой каталитических методов от других методов химического анализа является высокая чувствительность, тогда как некаталитического варианта кинетического метода характерна очень высокая селективность [7].

Кинетические методы по порядку индикаторной реакции можно классифицировать на дифференциальные (методы псевдонулевого порядка) и интегральные методы (псевдопервого или первого и второго порядков).

Дифференциальные методы относят к реакциям псевдонулевого порядка, так как они основаны на измерениях, сделанных в начальный момент процесса, когда изменения концентрации реагентов (продуктов) или катализатора ничтожны, то есть концентрация индикаторного вещества имеет линейную зависимость от времени в начальном периоде реакции. Кинетической кривой является зависимость концентрации индикаторного вещества от времени.

Если изменяется концентрация исходного вещества или продукта, то концентрация индикаторного вещества зависит от времени нелинейно, то применяют интегральный вариант. В интегральном методе стремятся к построению кривой в таких координатах (полулогарифмических, обратных и т.д.), чтобы получить линейную зависимость. Дифференциальное уравнение для скорости интегрируют по ограниченному промежутку времени [8].

1.1.2 Основные приемы кинетических методов

На данный момент наибольшее распространение нашли три способа определения неизвестной концентрации по данным проведенных кинетических измерений. К ним относятся методы тангенсов, фиксированного времени, фиксированной концентрации. Проведем их рассмотрение относительно дифференциального варианта кинетического метода.

Метод тангенсов основывается на нахождении тангенса угла наклона кинетических кривых tga при известных концентрациях анализируемого вещества. Тангенс угла наклона, зависящий от концентрации определяемого вещества, описывает скорость индикаторной реакции. Градуировочный график строится в координатах: концентрация анализируемого вещества – tga , как на рисунке 1.2, *а*.

Метод фиксированного времени. При жесткофиксированном временном интервале протекания реакции, проводят измерение концентрации индикаторного вещества в пробах с уже известными концентрациями искомого компонента. Градуировочный график строится в координатах: концентрация определяемого вещества – концентрация индикаторного вещества при фиксированном времени $t_{\text{фикс.}}$, в соответствии с рисунком 1.2, *б*. Часто при использовании этого способа индикаторную реакцию останавливают при $t_{\text{фикс.}}$, за счет резкого охлаждения, изменения рН раствора или внесения какого-либо ингибитора.

Метод фиксированной концентрации. В отдельно взятых пробах с уже известными концентрациями определяемого вещества проводится индикаторная реакция до жестко фиксированной концентрации индикатора $x_{\text{фикс.}}$ и измеряется время, за которое достигается эта концентрация. Градуировочный график строится в координатах: концентрация определяемого вещества – величина, обратная времени достижения $x_{\text{фикс.}}$, как представлено на рисунке 1.2, *в* [7].

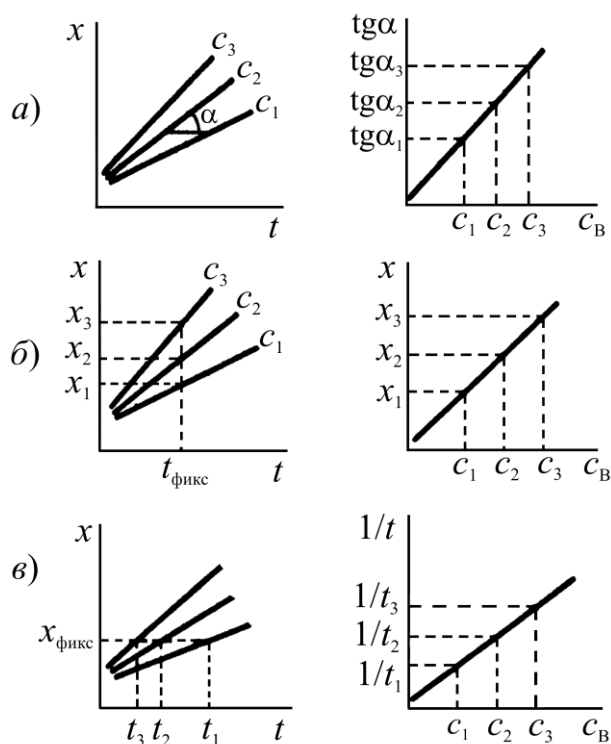


Рисунок 1.2 – Способы определения неизвестной концентрации по данным кинетических измерений:

а – тангенсов; *б* – фиксированного времени; *в* – фиксированной концентрации
 (x – концентрации индикаторного вещества, t – время,
 $c_3 > c_2 > c_1$ – концентрации определяемого соединения В)

Способы определения неизвестной концентрации в интегральном варианте схожи, однако, между концентрацией индикаторного вещества и временем протекания данной реакции имеется достаточно сложная функциональная зависимость. В таком случае для индикаторного вещества ищут функции концентрации, которые во времени меняются линейно (обратная, логарифмическая и другие).

1.1.3 Преимущества и недостатки кинетических методов

Кинетические методы, несмотря на некоторую имеющуюся сложность проведения анализа в динамических условиях, имеют определенные преимущества перед равновесными [7]:

- 1) возможность использования самых разнообразных химических реакций, даже непригодных для измерения в статическом режиме (медленные реакции);
- 2) малое влияние побочных процессов, так как для других методов в системах с медленно протекающими реакциями, по мере их приближения к завершению, может наблюдаться увеличение роли побочных процессов;
- 3) возможность использовать реакции, протекающие не количественно и непригодные для равновесных вариантов;
- 4) большие возможности в случае анализа следов за счет высокой чувствительности (особенно характерно для каталитического варианта);
- 5) возможность определения близкородственных соединений по различию в скорости их взаимодействия с одним реагентом (дифференциальные методы).

В то же время весьма серьезный недостаток кинетических методов состоит в необходимости каждый раз при проведении анализа тщательно воспроизводить условия эксперимента. Воспроизведение условий реакции для кинетических методов значит гораздо больше, чем для равновесных методов (поскольку время в них всегда является важнейшей переменной).

1.1.4 Применение кинетических методов анализа

Для кинетических методов анализа характерна высокая чувствительность, и поэтому они часто используются при определении малых и ультрамалых содержаний (до 10^{-8} – 10^{-6} мкг). Особенно эффективным оказалось применение кинетических методов для определения микропримесей в чистых и сверхчистых веществах и материалах.

В настоящее время известны десятки каталитических реакций, с помощью которых могут быть определены свыше 45 элементов таблицы Менделеева. Например, реакция иодида с пероксидом водорода без катализатора, представленная на схеме 1.1, идет очень медленно:



Схема 1.1 – Взаимодействие иодид-иона с перекисью водорода

В основе кинетических методов анализа могут лежать как некаталитические, так и каталитические реакции. Каталитические реакции применяют, например, для определения следовых количеств ионов металлов, в которых они служат катализаторами [8].

При наличии следов вольфрама, ниобия, циркония, тантала, гафния и других элементов она проходит за несколько минут. Скорость реакции легко определяется по возрастанию оптической плотности иодкрахмального раствора в единицу времени [9]. Индикаторная реакция характеризуется достаточно высокой чувствительностью. Например, с её помощью можно определить 0,01 мкг/л W, 0,02 мкг/л Mo, 0,1 мкг/л Zr и Hf [10].

С помощью кинетических методов анализа в чаще всего определяют не общую, а равновесную концентрацию взаимодействующих веществ. Именно поэтому они успешно применяются при изучении различных равновесий в растворах (например, комплексообразование) [9].

1.2 Методы определения оксалат-ионов

В данный момент для определения щавелевой кислоты и ее солей в различных объектах применяются, фактически, все основные методы определения: химические, физико-химические, физические и биохимические. Среди них можно особо выделить титриметрию [11 – 14], колориметрию [15 – 20], газовую [21 – 25], ионную [26 – 28] и высокоэффективную жидкостную [29 – 31] хроматографию, капиллярный электрофорез [32 – 34], флуоресценцию [35 – 37], хемилюминесценцию [38 – 40], ферментный анализ [41, 42], спектрофотометрию [43 – 46] и кинетические методы с фотометрическим детектированием [47 – 50].

Для метода газовой хроматографии требуется достаточно сложная и длительная пробоподготовка с предварительной дериватизацией. Высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим детектированием совершенно не подходит для определения щавелевой кислоты из-за отсутствия четкого максимума поглощения и схожестью ее спектра со спектром воды. В связи с тем, что щавелевая кислота относится к сильным органическим кислотам, наиболее эффективно ее определение ионной хроматографией с кондуктометрическим детектированием, в литературе известна лишь одна подобная статья [26].

1.2.1 Титриметрические методы

В настоящее время имеется достаточно большое количество научных статей, которые так же легли и в основу различных методических пособий, освещающих титриметрическое определение оксалат-ионов в различных аналитических объектах окружающей среды.

Определение щавелевой кислоты и ее солей основывается на титровании их растворов стандартным раствором перманганата калия в кислой среде. По количеству перманганата, израсходованного на титрование известной навески или известного объема исследуемого вещества, вычисляют количество оксалата.

Определение оксалат-ионов применяют при анализах технической щавелевой кислоты, ее солей и при перманганатометрическом определении кальция.

Во многих методических пособиях по аналитической химии перманганатометрическое титрование рассматривается как раз на примере титрования солей щавелевой кислоты. А.П. Крешков в одном из своих учебников по аналитической химии упоминает возможность их определения в растворе с помощью реакции окисления оксалат-ионов перманганатом калия в сернокислой среде при нагревании до 70 – 80 °С. Окончание титрования определяется по появлению не исчезающей слабо-розовой окраски [11]. Аналогичная методика предлагается и филиппинским аналитиком Элиорой Медрано, причем этот эксперимент имеет относительно низкое стандартное отклонение, которое составляет 134,6 тысячных долей. А источниками погрешностей могут служить воздействие раствора перманганата на солнечный свет или присутствие органических соединений [12].

В обоих случаях соответствующее уравнение химической реакции отвечает схеме 1.2:

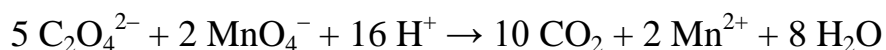


Схема 1.2

В целом, все титриметрические методы определения оксалатов сводятся к классической перманганатометрии, однако, возможны отличия на этапе пробоподготовки. Указанные выше авторы описывают работу с оксалатсодержащими растворами, а вот в работе нигерийского ученого Сандэй Адении подробно описан этап пробоподготовки. В своей работе по определению оксалат-ионов в пищевых продуктах он использует метод, предложенный О.Л. Оке в 1966 году. Твердый образец растворяют в соляной кислоте, при этом контроль рН регулируется с помощью концентрированного гидроксида аммония. После этого фильтрат обрабатывается раствором хлорида кальция, центрифугируется, декантируется и затем уже растворяется в растворе серной кислоты [13].

1.2.2 Колориметрические методы

Большинство известных способов являются косвенными и включают превращение щавелевой кислоты в другое вещество, которое впоследствии определяется. Например, в 1938 году Пейджетом и Бергером была описана методика, в которой щавелевая кислота сначала восстанавливается порошкообразным цинком в кислом растворе, а полученный продукт определяют колориметрически с фенилгидразином. Ими было отмечено, что мочевиная кислота и аллантиин также восстанавливаются цинком до веществ, дающих окрашивание с фенилгидразином.

Колкинс в 1943 году описал косвенный метод определения оксалатов, в котором щавелевая кислота первой восстанавливается до гликолевой кислоты порошкообразным магнием и серной кислотой. Затем гликолевая кислота определяется колориметрически с 2,7-нафталиндиолом. Данный метод чувствителен даже при

очень низких концентрациях, от 0 до 20 мкг, а закон Бера выполняется в диапазоне 0 – 200 мкг щавелевой кислоты [14].

Точные и воспроизводимые результаты достаточно трудно получить с помощью этих косвенных методов. Поэтому в своей статье Джулио Бергерман и Джеймс Эллиот описали осуществленный ими метод прямого колориметрического определения щавелевой кислоты на основе ее реакции с индолом, которая была описана еще в 1899 г. Джулиусом Гнезда. Фотометрическое сравнение со стандартами позволяет определить щавелевую кислоту в концентрации 0,050 мг/мл. Данный метод прост и обладает высокой степенью чувствительности, среднее значение которой находится в пределах $\pm 2\%$ [15].

Тем не менее, определение оксалатов в биологических материалах обычно производится косвенной колориметрией путем осаждения оксалата кальция с последующим взвешиванием или титрованием. В свободном доступе находится огромное количество статей связанных с определением именно оксалата кальция, например, его определение в моче [16], плазме крови [17], грибном компосте [18]. Погрешность его определения в основном не превышает 2,0 ммоль/л, что составляет 7,2 %, а нижний предел количественного определения оксалата кальция составляет 0,6 ммоль/л.

Помимо вышеуказанных методов несколько лет назад появился новый колориметрический метод определения оксалата с использованием наночастиц куркумина (CURNs) в присутствии Fe(III). Метод основан на ингибирующем действии оксалат-иона в реакциях (CURNs) с Fe(III) в кислых средах. Эту реакцию контролируют путем измерения увеличения поглощения комплекса CURNs–Fe³⁺ в присутствии оксалат-иона при 427 нм. В оптимальных экспериментальных условиях интенсивность поглощения линейна с концентрацией оксалата в диапазоне от 0,15 до 1,70 мкг/мл. Предел обнаружения составляет 0,077 мкг/мл, а относительные стандартные отклонения для 8 повторных измерений 0,40 и 1,05 мкг/мл оксалата составляют 4,20 % и 2,74 % соответственно. Данный метод успешно применяется для определения оксалата в образцах воды, пищи и мочи с удовлетворительными результатами [19].

1.2.3 Хроматографические методы

Метод газовой хроматографии является одним из самых современных методов многокомпонентного анализа, к его отличительным чертам можно отнести экспрессность, высокую точность, чувствительность, автоматизацию. Метод позволяет решить многие аналитические проблемы.

Во второй половине XX века, когда происходило интенсивное развитие в области аналитической химии, многие известные методы определения щавелевой кислоты стали не подходящими для надежного, быстрого и экономичного рутинного анализа. Поэтому в 1979 году Вернером Дошем был разработан экспрессный газохроматографический метод, который позволил отказаться от операций разделения и измерить щавелевую кислоту в качестве диэтилэфира с помощью обратной промывки и использования малоновой кислоты в качестве внутреннего стан-

дарта. Среднее стандартное отклонение данного метода составило $\pm 1,97\%$, а коэффициент вариабельности – $1,6\%$. Данный метод удовлетворяет критериям надежной рутинной процедуры [20].

После этого, в 1980 году, были описаны еще два простых, быстрых метода для определения оксалата в биологических жидкостях. В своей статье Парк и Грегори предлагают сначала произвести отделение осадка хлоридом кальция, затем конверсию в диметилноксалат, который далее измеряется с помощью газовой хроматографии [21]. Группой французских исследователей была описана несколько более сложная методика анализа щавелевой кислоты, включающая в себя последовательную экстракцию щавелевой кислоты подкисленным диэтиловым эфиром, этерификация изопропанолом и, в конечном итоге, анализ методом газовой хроматографии. В ней нижний предел обнаружения щавелевой составляет 20 нмоль, а верхний – вплоть до 800 нмоль [22].

В 1985 году для определения щавелевой кислоты в пищевых продуктах был разработан новый количественный газохроматографический метод, в котором твердый образец экстрагируется водой или соляной кислотой, выпаривается до сухости, а щавелевая кислота в остатке метилируется смесью соляная кислота–метанол. Реакционную смесь экстрагируют хлороформом, а диметилноксалат количественно определяют по ГХ. Данный метод прост, быстр и точен, и обладает достаточно высокой чувствительностью. Предел определения – 20 мкг [23].

Помимо этого щавелевая кислота была количественно определена методом капиллярной газовой хроматографии в растительных тканях. Оксалат был обнаружен и количественно определен в листьях огурца, ревеня и других растительных объектах. Именно этой методикой впервые было установлено присутствие оксалата в листе огурца. Предел обнаружения для этого метода количественного определения оксалата составляет приблизительно 500 пг с использованием пламенно-ионизационного детектора [24].

В свою очередь, группе исследователей из Сибирского Федерального университета удалось разработать селективную методику количественного определения щавелевой кислоты методом ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием с использованием поверхностно-привитого ионита. Данная методика также позволяет одновременно с оксалат-ионами количественно определять хлорид-, нитрат-, фосфат-, сульфат-ионы. Поэтому она может быть использована для анализа объектов сложного состава – пищевых продуктов. Предел обнаружения составляет 0,03 мг/л [25].

В 2011 году был представлен первый мультисиринговый метод ионной хроматографии низкого давления на основе ионов. Он основан на использовании коротких поверхностно-активных веществ, покрытых октадецил-кремнеземными монолитными колоннами. В качестве первого применения определялся оксалат в пиве и моче человека с помощью постколоночной хемилюминесцентной детекции. Метод имеет пределы обнаружения и количественного определения 0,025 и 0,035 мг/л соответственно, относительное стандартное отклонение составляет 3,1% (для 10 последовательных измерений без повторного покрытия колонки) и пропускную способность 48 ч^{-1} . Результаты, полученные на реальных образцах,

были подтверждены с помощью ферментативного спектрофотометрического анализа. [26].

Помимо этого ионная хроматография использовалась исследователями для определения оксалатов в спиртосодержащих напитках: текиле [27], пиве [26].

А вот в клиническом анализе наиболее часто используется метод ВЭЖХ. Известен способ определения оксалат-ионов в моче, основанный на сочетании методов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. При этом отсутствуют какие-либо помехи со стороны других органических кислот. Предел обнаружения для данного метода составляет 3,0 мкмоль/л, нижний предел количественного определения 100,0 мкмоль/л, а линейность наблюдается до 2212 мкмоль/л [28].

Однако известный способ имеет ряд недостатков, среди которых сложность определения, соблюдение строгих мер обращения с используемым метанолом, а так же использование сочетания двух физико-химических способов определения. Поэтому авторы патента «Способ определения ионов оксалата в моче» предлагают высокоэффективный способ, позволяющий быстро и точно определять качественные и количественные характеристики ионов оксалата в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Техническим результатом заявляемого способа является повышение точности определения концентрации ионов оксалата в моче и упрощение способа за счет снижения его трудоемкости и сокращения времени определения. Это достигается за счет подщелачивания анализируемой пробы сильнощелочной среды с $pH = 10 - 11$. Элюентом выступает 0,1 % раствор серной кислоты и 80 % раствор ацетонитрила, концентрации которого варьируются от 0 до 100 %. Скорость подачи элюента – 100 мкл/мин, объем элюирования – 1000 мкл, температура хроматографической колонки 35 °С, а длина волны составляет 211 нм. В таких условиях оксалат-ионы становятся более ионизированными, очень гидрофильными и в процессе хроматографирования меньше задерживаются на силикагеле, выступающем сорбентом. Это дает возможность уменьшения времени удерживания оксалат-ионов, и они выходят из хроматографической колонки раньше остальных компонентов мочи. В результате чего нивелируются помехи, которые свойственны аналогичному определению без подщелачивания [29].

В 2007 был разработан простой метод определения оксалата в кормовых травах с использованием ВЭЖХ с колонкой для анализа анионов и гидрокарбонатом натрия в качестве элюента. Определение происходит после экстракции водой или соляной кислотой. Нерастворимый оксалат определяли как разницу между общим количеством оксалат-ионов и растворимой формой. Восстановление оксалата после ВЭЖХ было свыше 97 %. Метод имеет свои преимущества, связанные с простотой, экспрессностью и дешевизной [30].

В 1999 году впервые был предложен способ определения оксалат-ионов с помощью электрофореза. Для определения щавелевой кислоты в моче использовался электроосмотический капиллярный электрофорез с амперометрическим определением на модифицированном кобальтом фталоцианиновом угольном электроде. Рабочий буфер состоял из фосфата и цетилтриметиламмония бромид. В опти-

мальных условиях для щавелевой кислоты был достигнут предел обнаружения 0,12 мкМ. Ответ имел линейный характер между 0,5 и 1000 мкМ с коэффициентом корреляции 0,9995. Также было описано применение данного метода к реальным образцам мочи [31].

Исследовано использование полиметилметакрилатного капиллярного электрофореза, снабженного системой разделения с высокой нагрузочной способностью образца и парой детекторов проводимости на кристалле, для зонного электрофореза определения оксалата в пиве. Предел обнаружения оксалата данным методом составляет 0,5 мкмоль/л [32].

Достаточно новый метод быстрого определения метаболитов оксалата и цитрата в образцах мочи, предложенный в 2018 году, основан на капиллярном электрофорезе и емкостно связанном бесконтактном определении проводимости в сочетании с твердофазной экстракцией. Детекторная ячейка для бесконтактного обнаружения проводимости с емкостной связью была улучшена за счет меньшего внутреннего объема, снижения шума и лучшей воспроизводимости и долговечности. При оптимальных условиях оксалат может достичь исходного разделения в течение 4 мин, а предел обнаружения составляет около 44 нг/мл. Этот метод предлагает лучший выбор для количественного анализа сильных анионов, таких как оксалат и цитрат, в диагностическом тестировании, связанном с заболеваниями человека [33].

1.2.4 Люминесцентные методы

Селективное определение анионов является важной областью исследований в супрамолекулярной химии из-за фундаментальной роли, которую анионы играют в химических, биологических, медицинских и экологических приложениях. В частности, оптическое определение с помощью метода флуоресценции является быстрым, экономичным и эффективным способом обнаружения анионов на микромолярном уровне в растворе. Поэтому были предприняты значительные усилия по созданию хромогенных и флуорогенных сенсоров, способных избирательно распознавать анионы.

В 2014 году в одной из научных публикаций был представлен новый тип динуклеарного никелевого комплекса на основе макроцикла, который избирательно связывает оксалат в широком диапазоне анионов в воде при физиологическом pH. Для идентификации оксалатного аниона в очень разбавленных условиях был успешно применен метод индикаторного смещения, обеспечивающий заметное красное смещение полосы флуоресценции при связывании оксалата. Кроме того, оксалат может быть обнаружен по резкому изменению цвета как при видимом, так и при ультрафиолетовом освещении в воде при физиологическом pH. Этот новый подход дает представление о конструкции селективных датчиков для других анионов, которые являются биологически и химически важными. Предел обнаружения оксалат-иона данным методом составляет порядка 5 мкМ [34].

Авторами более ранних работ предлагалось использование медных [35] или цинковых [36] макроциклических комплексов.

Электрогенерированная хемилюминесценция (ЭХЛ) оксалата с трис(бипиридин)рутений(II) хлоридом в растворах ацетонитрила была впервые описана в 1977 году. Более свежие отчеты из этой лаборатории предоставили дополнительную информацию об условиях реакции, а механизм продемонстрировал, что реакция может быть успешно проведена и в чисто водных растворах. Определение оксалата возможно на линейном участке получаемого графика, который лежит в области концентраций от 10^{-6} до 10^{-4} М [37].

В 1993 году описан чувствительный и специфический метод определения оксалата в сыворотке крови человека. С помощью хемилюминесцентного распада монопероксиоксалиевой кислоты можно определить очень низкие концентрации оксалата (200 нмоль/л) [38].

Также известно применение хемилюминесцентной системы щавелевая кислота-люминофор-пероксисоединение-карбодиимид для анализа проточных вод. Путем измерения интегрального излучения хемилюминесценции, генерируемого вышеуказанной реакцией, можно определить концентрации оксалата до 10 нмоль/л [39].

1.2.5 Спектрофотометрический метод

Спектрофотометрическое определение оксалатов было известно и активно развивалось уже в середине прошлого века, так, в 1973 году был представлен достаточно точный и экспрессный метод определения оксалата [40] в пиве и пивном сусле, основанный на измерении снижения уровня поглощения, за счет его действия на окрашенную соль четырехвалентного урана и (2-пиридилазо)резорцина. Сущность определения представлена на схеме 1.3.

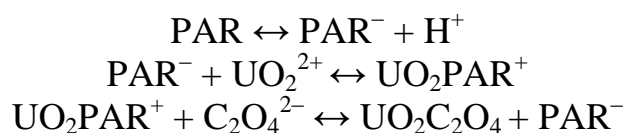


Схема 1.3 – Определение оксалата по его действию на ПАР урановую соль

Применение ПАР было предложено в качестве аналитического средства для количественного определения урана еще в 1959 году [41]. Но в дальнейшем было установлено сильное действие на реакцию со стороны оксалат-иона, повлекшее за собой предложение о дальнейшем использовании этого метода в качестве основы для спектрофотометрического определения оксалатов. В 1972 году Нияс и Гийон на основе данной реакции разработали очень чувствительный метод определения оксалата в воде. Их работа показала, уменьшение поглощения при 515 нм происходит линейно с оксалатом в диапазоне от 0 до 3 мд в конечном растворе [42].

Следом, в 1986 году, группой аргентинских исследователей был предложен простой, быстрый и надежный спектрофотометрический метод определения оксалата в водном растворе. Он основан на разложении кварцетин-циркониевого комплекса при добавлении оксалата, которое позволяет определять оксалат косвен-

ным методом при 430 нм или прямым методом при 370 нм. Уменьшение или увеличение поглощения происходит линейно в диапазоне 0 – 50 мкг оксалата, с пределом обнаружения 2,5 мкг для конечного объема в 10 мл [43].

В настоящее время существует очень большое количество методик по спектрофотометрическому определению оксалатов, однако, наибольшей популярностью стали пользоваться кинетические методы со спектрофотометрическим детектированием.

1.2.6 Кинетическое определение с фотометрическим детектированием

Огромное разнообразие характерно для данного метода, поскольку в основе кинетического спектрофотометрического метода определения щавелевой кислоты и ее солей лежит их каталитическое действие на окислительно-восстановительные реакции.

В 2001 году группой иранских исследователей был описан каталитический кинетический спектрофотометрический метод определения щавелевой кислоты по ее действию на реакцию сафранина и дихромата в разбавленном сернокислем растворе. Реакция контролировалась фотометрически путем измерения снижения поглощения сафранина при максимальной длине волны 530 нм. В оптимальных условиях был получен калибровочный график от 0,10 до 10,00 мкг/мл щавелевой кислоты с пределом обнаружения 0,08 мкг/мл. Относительное стандартное отклонение для десяти повторных измерений 1,0 и 5,0 мкг/мл составило 2,7 и 2,5 % соответственно. Предложенный ими метод достаточно прост, чувствителен, селективен и дешев. Объектами исследования выступили экстракт шпината и образцы сточных вод [44].

Исследователи из Китая предложили каталитический кинетический спектрофотометрический метод определения следовых количеств щавелевой кислоты на основе каталитического эффекта оксалата в реакции между дихроматом калия и родамином в разбавленной серной кислоте. Метод был использован для определения микроэлементов щавелевой кислоты в образцах чая, шпината и мочи. Хорошая линейность наблюдалась в диапазоне концентраций щавелевой кислоты от 0,40 до 6,0 мкг/мл [45].

Несколькими годами позже был предложен метод для определения следовых количеств оксалата в растительных и водных пробах. Он основывается на каталитическом действии оксалата на окисление кристаллического фиолетового (кристаллвиолет) бихроматом в сернокислей среде. Производится измерение уменьшения поглощения кристаллвиолет при 630 нм. Расчетный предел обнаружения составил 0,050 г/мл. Предложенный метод был успешно применен для определения оксалата в растительных образцах и водопроводной воде [46].

В данной работе нами также был выбран кинетический метод определения следовых количеств оксалата с фотометрическим детектированием. В основу выбранной методики легла статья, опубликованная в 2006 году иранскими авторами. Предложенный ими метод заключается в активирующем влиянии оксалат-иона при окислении иодида броматом. Детектирование осуществляется измерением

поглощения трийодид-иона при $\lambda_{\text{max}} = 352$ нм. Калибровочный график был получен в диапазоне концентраций оксалата от 0,10 до 7,0 мкг/мл с пределом обнаружения 0,080 мкг/мл. Стандартные отклонения для десяти повторных определений 0,50, 1,0 и 5,0 мкг/мл оксалата составили 4,0, 2,6 и 1,8% соответственно. Применимость метода была продемонстрирована определением оксалат-иона на реальных образцах: грибах и шпинате [47].

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Приборы и реактивы

Для построения спектральной кривой оптической плотности измерения проводились с помощью спектрофотометра ESOVIEW B-1100. Дальнейшие измерения проводились с помощью колориметра КФК-2. Для подбора оптимального уровня кислотности и приготовления соответствующих буферных растворов использовался мультивольтметр «Эксперт-рН».

Стандартный раствор оксалата с концентрацией 1000 мкг/мл приготовлен растворением 0,1422 г моногидрата оксалата аммония (ч.д.а.) в дистиллированной воде с дальнейшим доведением до метки 100 мл дистиллированной водой.

Рабочие растворы оксалата готовились путем разбавления стандартного раствора оксалата дистиллированной водой в мерной колбе на 200 мл. Каждый из них готовится непосредственно перед проведением опыта во избежание окисления оксалат-иона.

Раствор иодида калия 0,120 М приготовлен растворением 2,0021 г иодида калия (ч.д.а.) в дистиллированной воде и переводом в мерную колбу объемом 100 мл.

Раствор железа(II) концентрацией 1000 мкг/мл приготовлен растворением 0,7021 г соли Мора в 0,10 М растворе серной кислоты в мерной колбе на 100 мл.

Рабочий раствор Fe^{2+} , отвечающий концентрации 7 мкг/мл, готовится путем разбавления 1,0 мл стандартного раствора железа(II) 142 мл дистиллированной воды, которую отмеряют при помощи цилиндра. Данный раствор очень неустойчив, поэтому используют свежеприготовленный раствор.

Раствор бромата с концентрацией 0,100 М приготовлен растворением навески бромата калия массой 1,6700 г дистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл.

Раствор растворимого крахмала с массовой долей 1,0 % приготовлен следующим образом: 0,5 г растворимого крахмала растирается в ступке с 10 мл воды, затем выливается в 40 мл кипящей дистиллированной воды и кипятится до полного исчезновения помутнения. Отсутствие помутнения проверялось визуально и путем измерения на КФК-2 оптической плотности приготовленного раствора крахмала по отношению к воде. Так как данный раствор не устойчив к кислороду воздуха, его необходимо готовить каждые 4 – 5 дней.

Раствор серной кислоты 1,0 М приготовлен разбавлением концентрированной серной кислоты ($\rho = 1,835 \text{ г/см}^3$) водой в соотношении 1 : 17, соответственно.

Раствор серной кислоты 0,5 М приготовлен разбавлением 1,0 М раствора серной кислоты водой в соотношении 1 : 9 соответственно.

Раствор ацетата натрия 0,5 М приготовлен растворением 6,8047 г тригидрата ацетата натрия (ос.ч.) в 100 мл воды.

Раствор уксусной кислоты 0,5 М приготовлен разбавлением 2,86 мл ледяной уксусной кислоты ($\rho = 1,05 \text{ г/см}^3$) водой в мерной колбе на 100 мл до метки.

Ацетатный буферный раствор ($\text{pH} = 5,0$) приготовлен смешиванием 70,5 мл 0,5 М ацетата натрия с 29,5 мл 0,5 М раствора уксусной кислоты.

Рабочие буферные растворы готовятся смешиванием различных объемов 0,5 М ацетата натрия и 0,5 М уксусной кислоты в соответствии с данными, указанными в ГОСТ 4919.2-2016 [48].

2.2 Методика определения оксалат-иона

Для получения кинетических кривых реакций в присутствии оксалат-иона в градуированную пробирку на 10 мл вносят 1,0 мл рабочего раствора оксалата с концентрацией 1 – 100 мкг/мл, затем добавляют 2,0 мл ацетатной буферной смеси ($\text{pH} = 5,05$), 1,0 мл рабочего раствора Fe^{2+} , добавляют 1,0 мл 0,120 М раствора иодида калия. После этого доводят полученный раствор до метки 8 мл дистиллированной водой, вносят 1,0 мл раствора крахмала с концентрацией $3,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл и перемешивают. Последним вносят 1,0 мл раствора бромата калия с концентрацией 0,100 М, по окончании добавления которого включают секундомер. Раствор переносят в кювету на 1 см, оптическую плотность измеряют на фотоколориметре КФК-2 при длине волны 590 нм в течение 5 минут. Раствором сравнения выступает дистиллированная вода.

Для холостого измерения исключается добавление рабочего раствора оксалата, в остальном методика соответствует вышеописанной.

Кинетическое измерение ведется методом тангенсов, выбирая в качестве аналитического сигнала угловой коэффициент прямолинейного участка.

2.3 Методика определения оксалата в пищевых продуктах

Для определения содержания оксалат-иона в продуктах питания были выбраны пищевые продукты, диапазон содержания оксалата в которых заведомо велик. Таким продуктом выступила свекла обыкновенная.

Для начала выбранный корнеплод достаточной спелости, среднего размера и без механических повреждений тщательно промывают, очищают от кожуры и хорошо измельчают. Это можно сделать при помощи ножа, терки или механического измельчителя. После этого к 2,5 г полученной пробы добавляют примерно 100 мл дистиллированной воды и в течение 1 часа интенсивно перемешивают (возможно использование центрифугирования). Далее полученный раствор отфильтровывают в мерную колбу на 250,0 мл, тщательно промывая остатки пробы на фильтре дистиллированной водой, и доводят фильтрат до метки. Полученный раствор должен иметь насыщенный бордовый цвет.

Из-за насыщенной окраски раствора для дальнейшей возможности измерения меняют раствор сравнения. Для этого 1,0 мл полученного раствора разбавляют дистиллированной водой в 10 раз. Таким образом, в градуированную пробирку на 10 мл вносят 1,0 мл полученного раствора, содержащего в себе оксалат-ионы, а далее методика соответствовала методике, приведенной в пункте 2.2.

3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1 Спектр поглощения

Одним из свойств крахмала является его способность давать интенсивное темно-синее окрашивание в реакции с иодом. В ходе реакции образуется комплексное соединение, схема строения которого изображена на рисунке 3.1 [49]. В нем молекулы иода внедряются в кристаллическую структуру молекул амилозы крахмала. Попав в спираль, молекулы иода испытывают сильное влияние со стороны своего окружения, гидроксильных групп, происходит увеличение длины связей, сопровождающееся появлением соответствующей окраски.

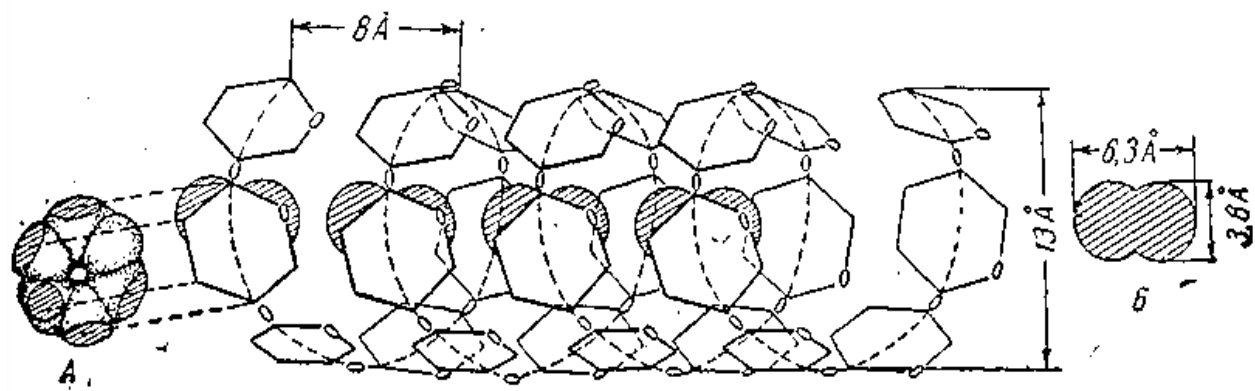


Рисунок 3.1 – Схема строения комплекса крахмала с иодом:
А – модель пиранового кольца остатка глюкозы,
Б – модель молекулы иода

Именно на этой реакции и основывается использование крахмала в роли индикатора, обладающего очень большой чувствительностью.

Для получения спектра поглощения в градуированную пробирку на 10 мл поместили 2,0 мл ацетатного буферного раствора с рН 5,0, к нему прилили 1,0 мл рабочего раствора железа(II) и 1,0 мл раствора иодида калия. Дистиллированной водой довели до метки в 8 мл, прилили 1,0 мл 1 % раствора растворимого крахмала и 1,0 мл раствора бромата калия, перемешали и переместили в кювету на 1 см. Измерения оптической плотности проводились на спектрофотометре ECOVIEW В-1100 в интервале длин волн 400 – 750 нм.

Полученный спектр представлен на рисунке 3.2.

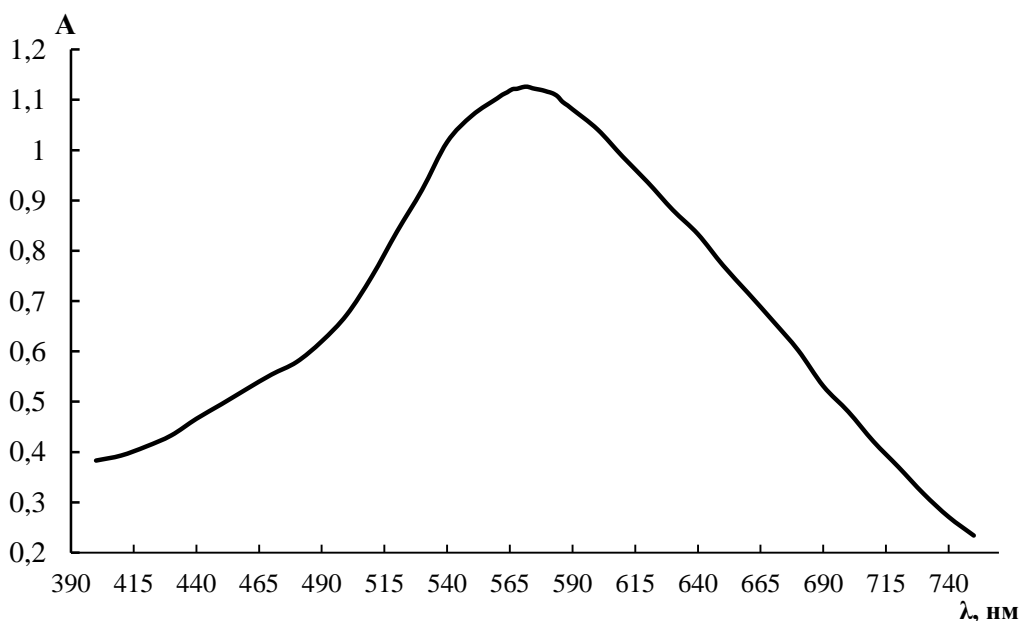


Рисунок 3.2 – Спектр поглощения продукта иод-крахмальной реакции в нейтральной среде в области видимого света

В соответствии с измерениями длина волны максимального поглощения (λ_{\max}) составила 572 нм. Дальнейшие измерения проводились на фотоэлектроколориметре КФК-2 со светофильтром, соответствующим длине волны 590 нм, так как максимум на спектре пологий и потеря чувствительности достаточно невелика и составляет порядка 4 %.

3.2 Кинетические кривые

Для того, чтобы получить аналитический сигнал, была изучена форма кинетической кривой, получаемой в ходе реакции окисления иодида броматом калия, регистрируемой по образованию окрашенного комплекса с крахмалом, как в отсутствие, так и в присутствие иона $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, оказывающего активирующее влияние на катион железа(II).

В градуированную пробирку на 10 мл внесли 1,0 мл рабочего раствора оксалата с концентрацией 10 мкг/мл, добавили 2 мл буферной смеси с $\text{pH} = 5,0$, далее прилили 1,0 мл рабочего раствора железа(II) и 1,0 мл 0,120 М раствора иодида калия. Раствор перемешали и довели до метки 8 мл дистиллированной водой. Затем добавили 1,0 мл раствора крахмала с концентрацией $1,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл и в последнюю очередь 1,0 мл 0,100 М раствора бромата калия, по окончании добавления которого включили секундомер. Раствор перенесли в кювету на 1 см и измеряли оптическую плотность на фотоколориметре КФК-2 при длине волны 590 нм относительно дистиллированной воды.

Во втором случае внесли раствор крахмала с концентрацией $1,0 \cdot 10^{-2}$ г/мл. Для получения аналитического сигнала в отсутствие оксалат-ионов исключили добавление раствора оксалата, далее методика соответствует вышеописанной.

Результаты измерения оптической плотности приведены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Зависимости оптической плотности от времени в условиях различной концентрации крахмала

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,00					
1,0	0,134	10,5	0,616	20,0	0,668
1,5	0,194	11,0	0,620	20,5	0,670
2,0	0,260	11,5	0,622	21,0	0,672
2,5	0,317	12,0	0,625	21,5	0,676
3,0	0,366	12,5	0,629	22,0	0,678
3,5	0,407	13,0	0,635	22,5	0,678
4,0	0,449	13,5	0,638	23,0	0,680
4,5	0,467	14,0	0,640	23,5	0,680
5,0	0,489	14,5	0,642	24,0	0,680
5,5	0,511	15,0	0,644	24,5	0,682
6,0	0,530	15,5	0,648	25,0	0,682
6,5	0,545	16,0	0,654	25,5	0,682
7,0	0,558	16,5	0,658	26,0	0,682
7,5	0,569	17,0	0,658	26,5	0,682
8,0	0,582	17,5	0,658	27,0	0,684
8,5	0,588	18,0	0,660	27,5	0,684
9,0	0,597	18,5	0,662	28,0	0,686
9,5	0,602	19,0	0,664	28,5	0,686
10,0	0,607	19,5	0,666	29,0	0,686
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,00					
1,0	0,028	10,5	0,456	20,0	0,544
1,5	0,061	11,0	0,465	20,5	0,547
2,0	0,097	11,5	0,470	21,0	0,550
2,5	0,131	12,0	0,479	21,5	0,553
3,0	0,166	12,5	0,484	22,0	0,554
3,5	0,196	13,0	0,492	22,5	0,556
4,0	0,229	13,5	0,496	23,0	0,558
4,5	0,256	14,0	0,502	23,5	0,559
5,0	0,287	14,5	0,506	24,0	0,561
5,5	0,312	15,0	0,510	24,5	0,562
6,0	0,332	15,5	0,514	25,0	0,562
6,5	0,354	16,0	0,520	25,5	0,564
7,0	0,373	16,5	0,524	26,0	0,565
7,5	0,388	17,0	0,527	26,5	0,567
8,0	0,402	17,5	0,530	27,0	0,569
8,5	0,417	18,0	0,535	27,5	0,571
9,0	0,429	18,5	0,538	28,0	0,572
9,5	0,439	19,0	0,539	28,5	0,574
10,0	0,446	19,5	0,541	29,0	0,575

Окончание таблицы 3.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл, pH = 5,00					
1,0	0,011	10,5	0,498	20,0	0,767
1,5	0,026	11,0	0,520	20,5	0,772
2,0	0,056	11,5	0,538	21,0	0,775
2,5	0,086	12,0	0,554	21,5	0,783
3,0	0,116	12,5	0,570	22,0	0,793
3,5	0,147	13,0	0,585	22,5	0,799
4,0	0,175	13,5	0,600	23,0	0,801
4,5	0,205	14,0	0,614	23,5	0,810
5,0	0,235	14,5	0,631	24,0	0,818
5,5	0,261	15,0	0,644	24,5	0,824
6,0	0,292	15,5	0,656	25,0	0,827
6,5	0,321	16,0	0,670	25,5	0,833
7,0	0,346	16,5	0,682	26,0	0,836
7,5	0,368	17,0	0,701	26,5	0,842
8,0	0,398	17,5	0,712	27,0	0,848
8,5	0,419	18,0	0,726	27,5	0,854
9,0	0,441	18,5	0,733	28,0	0,860
9,5	0,460	19,0	0,742	28,5	0,863
10,0	0,480	19,5	0,752	29,0	0,870
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл, pH = 5,00					
1,0	0,013	10,5	0,467	20,0	0,757
1,5	0,020	11,0	0,487	20,5	0,770
2,0	0,041	11,5	0,509	21,0	0,777
2,5	0,069	12,0	0,527	21,5	0,788
3,0	0,097	12,5	0,545	22,0	0,799
3,5	0,124	13,0	0,567	22,5	0,804
4,0	0,151	13,5	0,582	23,0	0,815
4,5	0,178	14,0	0,600	23,5	0,824
5,0	0,208	14,5	0,616	24,0	0,830
5,5	0,234	15,0	0,623	24,5	0,836
6,0	0,261	15,5	0,642	25,0	0,845
6,5	0,292	16,0	0,658	25,5	0,851
7,0	0,317	16,5	0,672	26,0	0,860
7,5	0,330	17,0	0,686	26,5	0,866
8,0	0,359	17,5	0,699	27,0	0,876
8,5	0,385	18,0	0,712	27,5	0,883
9,0	0,408	18,5	0,724	28,0	0,886
9,5	0,428	19,0	0,735	28,5	0,893
10,0	0,445	19,5	0,747	29,0	0,896

Помимо этого кинетические кривые также представлены в графической форме на рисунке 3.3. По полученным кривым можно сделать вывод, что кинетические

кривые, соответствующие измерению холостого опыта, отличаются от таковых в присутствии оксалат-иона. Так же можно судить о том, что при увеличении концентрации крахмала, который является индикатором данной реакции, происходит увеличение тангенса угла наклона данных кривых, которое особенно видно в течение первых 5 минут протекания данной реакции. В течение следующего времени протекания реакции наблюдается лишь незначительный рост значений оптической плотности на всем промежутке измерений.

Таким образом, на кинетических кривых можно выделить две части. В первой области оптическая плотность сильно возрастает, как, соответственно, и тангенс угла наклона этой части кинетической кривой, соответствующей окислению иодид-иона, и область незначительного роста оптической плотности, тангенс угла наклона которой стремится к нулю. Помимо этого необходимо заметить отсутствие индукционного периода реакции, характерного для многих реакций окисления различных красителей.

На рисунке 3.3 представлены примеры кинетических кривых, различающихся по некоторым условиям их снятия. Данные кинетические кривые наглядно доказывают активирующее влияние оксалат-иона, а также индикаторные свойства крахмала в данной реакции. Очевидно, что для дальнейшего исследования данной системы необходимо варьирование некоторых условий реакции.

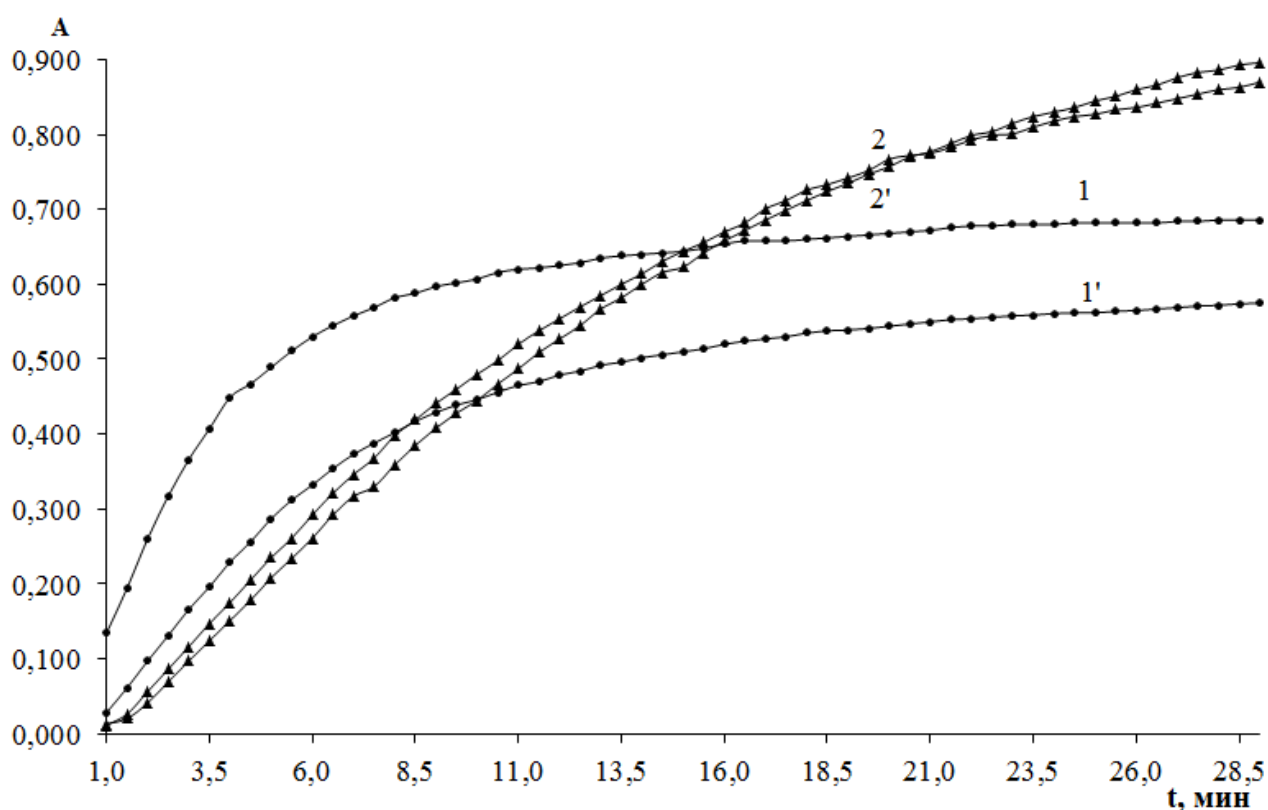


Рисунок 3.3 – Кинетические кривые окисления иодида при различном содержании крахмала

$$1,2 - C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0 \text{ мкг/мл}, 1',2' - C_{C_2O_4^{2-}} = 0 \text{ мкг/мл};$$

$$1,1' - C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ г/мл}; 2,2' - C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ г/мл}$$

Таким образом, содержание крахмала в системе значительно влияет на величину тангенса угла наклона за счет образования окрашенного комплексного соединения. Поэтому следующим этапом данной работы является исследование влияния концентрации индикатора (метод тангенсов).

3.3 Влияние концентрации крахмала

Как уже было указано выше, содержание различных количеств крахмала в системе способно оказывать влияние на ход кинетических кривых, изменяя таким образом тангенс угла наклона. Окисляющийся в ходе реакции иодид образует с крахмалом окрашенный клатрат, от интенсивности окраски которого и зависит величина тангенса угла наклона кинетической кривой. Исследование влияния концентрации крахмала осуществлено в интервале от 0,01 до $1,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл в фотометрируемом растворе.

Для получения кинетической кривой реакции в градуированную пробирку на 10 мл внесли 1,0 мл рабочего раствора оксалата с концентрацией 10 мкг/мл, добавили 2 мл буферной смеси с $\text{pH} = 5,00$, далее прилили 1,0 мл рабочего раствора железа(II) и 1,0 мл 0,120 М раствора иодида калия. Перемешали и довели до метки 8 мл дистиллированной водой. После этого добавили 1,0 мл раствора крахмала с концентрацией от $1,0 \cdot 10^{-4}$ до $1,0 \cdot 10^{-2}$ г/мл и в последнюю очередь 1,0 мл раствора бромата калия с концентрацией 0,100 М, по окончании добавления которого включили секундомер. Раствор перенесли в кювету на 1 см и измеряли оптическую плотность на фотоколориметре КФК-2 при длине волны 590 нм относительно дистиллированной воды. Измерение для холостого опыта производится аналогично, но без добавления оксалата. Данные, полученные в ходе измерения, представлены в таблице А.1 в приложении.

Значения тангенсов угла наклона, полученные методом МНК, отображены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Величины тангенсов углов наклонов кинетических кривых в зависимости от содержания крахмала в фотометрируемом растворе

$C_{\text{крахмал}}, \text{ Г/МЛ}$	$\text{tg } \alpha$	
	$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0 \text{ мкг/мл}$	$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0 \text{ мкг/мл}$
$1,0 \cdot 10^{-5}$	0,0149	0,0117
$2,0 \cdot 10^{-5}$	0,0194	0,0162
$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,0226	0,0198
$4,0 \cdot 10^{-5}$	0,0268	0,0248
$5,0 \cdot 10^{-5}$	0,0371	0,0322
$6,0 \cdot 10^{-5}$	0,0361	0,0312
$8,0 \cdot 10^{-5}$	0,0393	0,0364
$1,0 \cdot 10^{-4}$	0,0607	0,0510
$1,5 \cdot 10^{-4}$	0,0642	0,0541
$2,0 \cdot 10^{-4}$	0,0692	0,0584

Продолжение таблицы 3.2

$C_{\text{крахмал}}, \text{ г/мл}$	$\text{tg } \alpha$	
	$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0 \text{ мкг/мл}$	$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0 \text{ мкг/мл}$
$2,5 \cdot 10^{-4}$	0,0734	0,0596
$3,0 \cdot 10^{-4}$	0,0746	0,0584
$4,0 \cdot 10^{-4}$	0,0806	0,0645
$5,0 \cdot 10^{-4}$	0,0857	0,0750
$6,0 \cdot 10^{-4}$	0,0912	0,0837
$7,0 \cdot 10^{-4}$	0,0802	0,0770
$8,0 \cdot 10^{-4}$	0,0810	0,0749
$9,0 \cdot 10^{-4}$	0,0844	0,0805
$1,0 \cdot 10^{-3}$	0,0588	0,0552

Зависимость величины тангенса угла наклона кинетической кривой от концентрации крахмала в фотометрируемом растворе также представлена на рисунке 3.4.

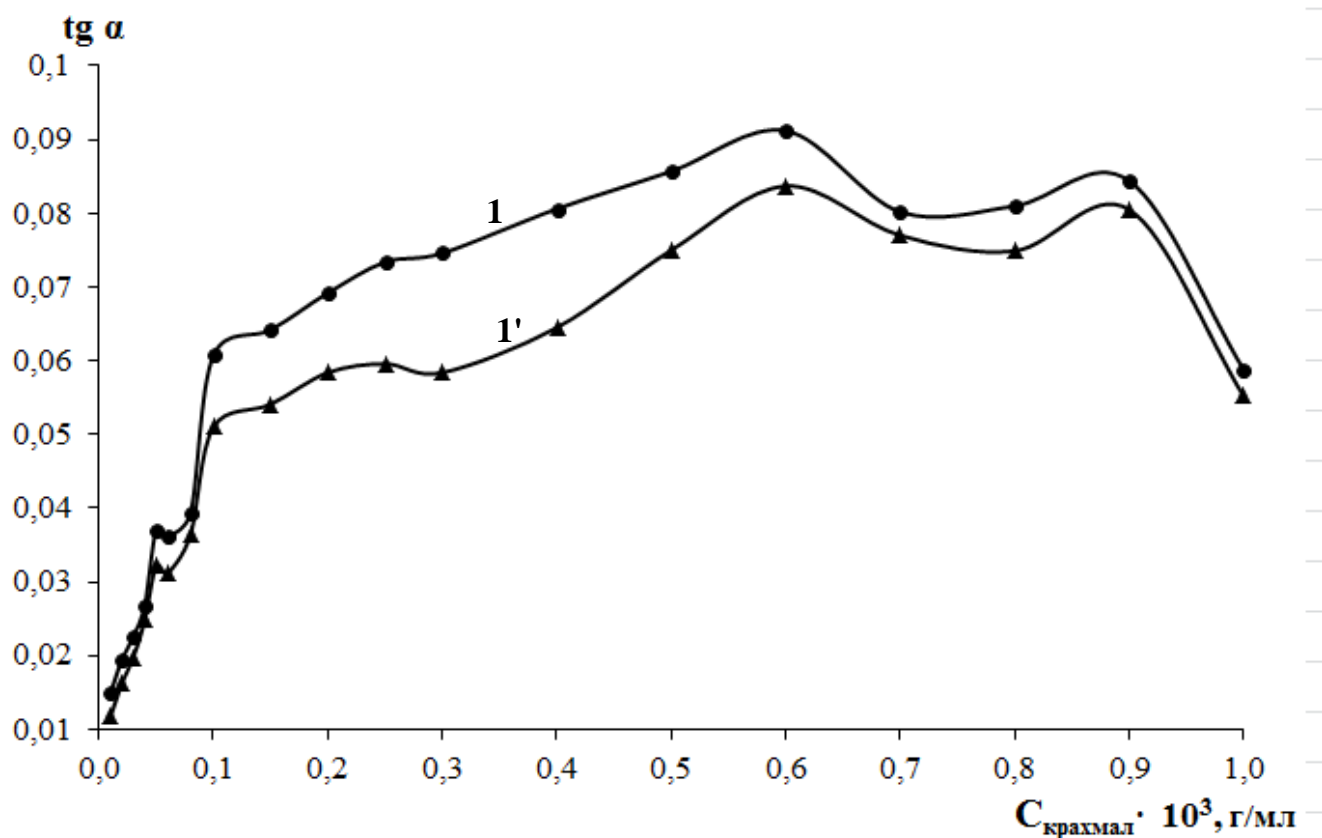


Рисунок 3.4 – Влияние концентрации крахмала в фотометрируемом растворе на тангенс угла наклона кинетической кривой
 $\text{pH} = 5,00$; 1 – $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0 \text{ мкг/мл}$, 1' – $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0 \text{ мкг/мл}$

Концентрация крахмала пропорционально влияет на тангенс угла наклона кинетической кривой как контрольного опыта, так и холостого. С увеличением кон-

центрации крахмала в фотометрируемом растворе происходит закономерное изменение окрашивания раствора: чем больше крахмала, тем более интенсивный фиолетовый цвет приобретает раствор. Поэтому слишком высокие концентрации крахмала затрудняют определение оксалат-иона в растворе за счет интенсивности окрашивания фотометрируемого раствора. Однако и слишком низкие концентрации крахмала вызывают трудности, связанные с невоспроизводимостью, что видно из рисунка 3.4. Невоспроизводимость в данной области связана с очень быстрой окисляемостью крахмала кислородом воздуха, быстротой протекания реакции выделяющегося иодида с крахмалом в присутствии окислителя, а также малой интенсивностью окрашивания фотометрируемого раствора.

Для дальнейшей работы необходимо было выбрать такое содержание крахмала, при котором расхождение тангенсов холостого и контрольного опытов максимально. По построенной зависимости установили, что максимальное различие тангенсов достигается при концентрации $3,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл рабочего раствора крахмала, которую и использовали в дальнейших измерениях.

3.4 Влияние изменения рН на скорость реакции

В исходной методике [47], положенной в основу нашего метода, было выявлено сильное влияние кислотности среды протекания реакции на ее скорость, эта зависимость была исследована в интервале рН от 2,0 до 6,0.

Все измерения были проведены аналогично описанной в разделе 2.2 методике. Отличие состояло лишь в том, что значения рН буферных растворов варьировали в интервале 2,6 – 6,0 ед. рН. Данный интервал значений рН был выбран по причине сохранения в нем буферных свойств ацетатного буферного раствора. Зависимости величины оптической плотности от времени приведены в таблице А.2.

Полученные данные приведены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Величины начальной скорости реакции в зависимости от величины рН фотометрируемого раствора

рН _{нач}	C _{C₂O₄²⁻} = 1,0 мкг/мл		C _{C₂O₄²⁻} = 0 мкг/мл	
	рН	tg α	рН	tg α
2,69	2,95	0,1139	2,93	0,0917
3,01	3,07	0,0698	3,07	0,0704
3,27	3,40	0,1351	3,40	0,1287
3,50	3,51	0,1114	3,52	0,1054
3,95	3,97	0,0698	3,96	0,0702
4,67	4,65	0,0735	4,65	0,0691
5,05	5,00	0,0796	5,01	0,0748
5,50	5,49	0,0685	5,49	0,0663
5,83	5,79	0,0837	5,79	0,0702
6,00	5,87	0,0910	5,87	0,0760

Полученные величины тангенсов представлены графически на рисунке 3.5.

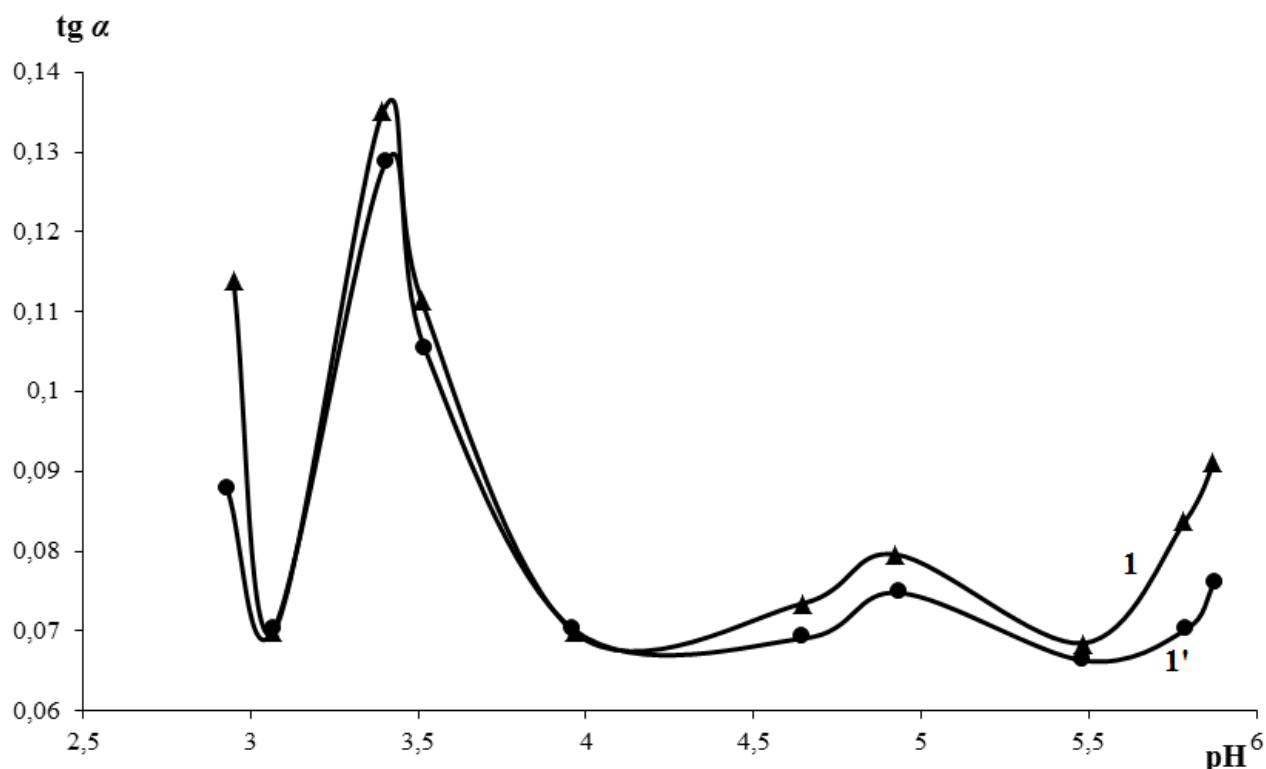


Рисунок 3.5 – Влияние величины pH на начальную скорость реакции окисления иодида в присутствии крахмала
 $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл; 1 – $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, 1' – $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл

Зависимости для холостого опыта и раствора в присутствии оксалата различаются. Для дальнейшей работы необходимо выбрать такое значение водородного показателя, при котором бы это различие было максимально. Самые большие различия наблюдались на концах построенного графика, то есть на краях устойчивости буферного раствора. Наибольшее такое значение наблюдается при $\text{pH} = 2,69$. Однако в ходе протекания реакции в данных условиях произошло изменение окрашивания раствора, и вместо типичного сине-фиолетового окрашивания наблюдалось темно-бурое. Это связано с тем, что в сильноокислой среде происходит расщепление растворимого крахмала до декстринов, дающих бурое окрашивание с иодом, который образуется в результате окисления иодида броматом. Таким образом, роль крахмала как индикатора утрачивается и, соответственно, значение $\text{pH} = 2,69$ использоваться нами в дальнейшей методике не может.

Помимо этого достаточно большое расхождение значений тангенсов наблюдается в практически нейтральной среде с $\text{pH} = 5,83$ и $\text{pH} = 6,00$. Однако в таких условиях снижается устойчивость вносимого железа(II), являющегося катализатором, который гораздо легче окисляется кислородом воздуха до железа(III), тем самым привнося сложность в воспроизводимость результатов.

Таким образом, исходя из всего вышеперечисленного, наиболее подходящими для нас значениями выступают $pH = 4,69$ и $pH = 5,05$. Для данных pH наблюдается достаточно большое различие полученных тангенсов углов наклонов кинетических кривых, но при этом свойства всех компонентов сохраняются. Поэтому, выбирая между этими двумя значениями, следует вспомнить долевое распределение ионных форм щавелевой кислоты.

В зависимости от значения pH щавелевая кислота присутствует в растворе в различных формах. В растворе имеют место ступенчатые реакции диссоциации щавелевой кислоты, и, следовательно, различные ионные формы, приведенные на схеме 3.1:

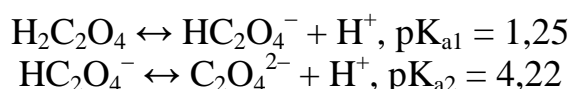


Схема 3.1 – Реакции ступенчатой диссоциации щавелевой кислоты

Расчет диаграмм распределения ионных форм кислоты в зависимости от pH раствора, а также степени протонирования ведется по формулам (1 – 3):

$$\alpha_B = \left(\sum_{i=0}^n 10^{\lg K_i - ipH} \right)^{-1}, \quad (1)$$

$$\alpha_{H_i B} = \alpha_B \cdot 10^{\lg K_i - ipH}, \quad (2)$$

$$\tilde{n} = \sum_{i=0}^n i \alpha_{H_i B}, \quad (3)$$

где α_B – доля иона сопряженного основания $[B]/C_B$;

$\alpha_{H_i B}$ – доля ионной формы $[H_i B]/C_B$;

\tilde{n} – степень образования, или среднее число протонов, связанных с ионом сопряженного основания.

Подставляя в формулы (1 – 3) значения pH от 2,6 до 14, получаем значение доли ионной формы кислоты и степени образования, которые не зависят от концентрации кислоты (без учета изменения коэффициентов активности).

Долевое распределение ионных форм при выбранных водородных показателях отображено в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Долевое распределение ионных форм щавелевой кислоты при различных pH

pH	$\alpha(C_2O_4^{2-})$	$\alpha(HC_2O_4^-)$	$\alpha(H_2C_2O_4)$	\tilde{n}
2,69	0,02	0,94	0,03	1,01
3,01	0,05	0,93	0,02	0,97
3,27	0,09	0,90	0,01	0,92
3,50	0,14	0,85	0,00	0,86
3,95	0,33	0,67	0,00	0,68

Продолжение таблицы 3.4

pH	$\alpha (C_2O_4^{2-})$	$\alpha (HC_2O_4^-)$	$\alpha (H_2C_2O_4)$	\tilde{n}
4,67	0,72	0,28	0,00	0,28
5,05	0,86	0,14	0,00	0,14
5,50	0,95	0,05	0,00	0,05
5,83	0,97	0,03	0,00	0,03
6,00	0,98	0,02	0,00	0,02

Зависимость распределения ионных форм щавелевой кислоты от pH изображено на рисунке 3.6.

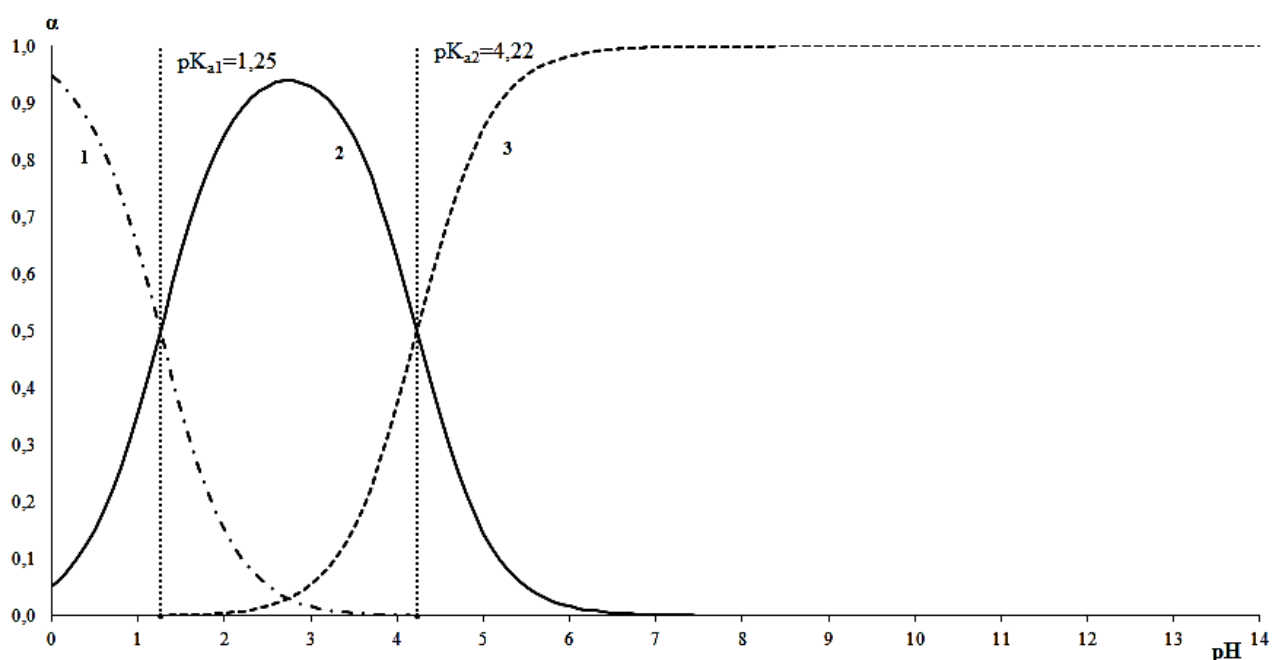


Рисунок 3.6 – Диаграмма зависимости распределения ионных форм щавелевой кислоты от pH
1 – $H_2C_2O_4$, 2 – $HC_2O_4^-$, 3 – $C_2O_4^{2-}$

При низком значении pH доминирует недиссоциированная форма $H_2C_2O_4$. С увеличением водородного показателя возрастает концентрация $HC_2O_4^-$. Первому пересечению при $pH = pK_{a1} = 1,25$ соответствует равенство концентраций $H_2C_2O_4$ и $HC_2O_4^-$, второму ($pH = pK_{a2} = 4,22$) – $HC_2O_4^-$ и $C_2O_4^{2-}$. При значении pH больше 5 доминирует форма $C_2O_4^{2-}$.

Так, с увеличением водородного показателя возрастает количество ее полностью продиссоциировавшей формы $C_2O_4^{2-}$, которая является доминирующей при $pH > 5$. Следовательно, на основании всего вышеупомянутого, наиболее подходящим значением водородного показателя выступило значение 5,05.

3.5 Влияние концентрации оксалат-иона на скорость реакции

Оксалат-ион обладает активирующим действием на катион железа в данной реакции. Для того чтобы определить интервал линейности зависимости скорости химической реакции от концентрации оксалата, необходимо установить данное влияние иона $C_2O_4^{2-}$ в достаточно широком диапазоне концентраций.

Определение также проводилось в соответствии с методикой, описанной в пункте 2.2 данной работы. Исследование зависимости скорости реакции от концентрации ионов $C_2O_4^{2-}$ были проведены на фотоэлектроколориметре КФК-2 при выбранном светофильтре с $\lambda = 590$ нм. Полученные в ходе работы зависимости представлены в таблице А.3.

Найденные абсолютные величины тангенсов угла наклона кинетических кривых представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Значения величин тангенсов угла наклона для измерений с различной концентрацией оксалата в фотометрируемом растворе ($C_{Fe^{2+}} = 0,7$ мкг/мл, $C_{I^-} = 0,0120$ М, $C_{крахмал} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{BrO_3^-} = 0,0100$ М, рН = 5,05)

$C_{C_2O_4^{2-}}$, мкг/мл	tg α	$C_{C_2O_4^{2-}}$, мкг/мл	tg α
0,1	0,0523	2,5	0,0738
0,5	0,0570	5,0	0,0997
1,0	0,0622	7,5	0,1272
1,5	0,0643	10,0	0,1510
2,0	0,0685	–	–

Зависимость скорости реакции от концентрации носит линейный характер, где скорость реакции прямо пропорционально увеличивается с ростом концентрации оксалата. Значение достоверности аппроксимации имеет достаточно близкое к единице значение ($R^2 = 0,99815$), свободный коэффициент является значимым, прямая не проходит через начало координат, поскольку данная реакция может протекать и только в присутствии катализатора без участия активатора. Таким образом, делаем вывод, что, так как вся область линейно возрастает, то она может быть использована в качестве градуировочного графика.

График обработан методом наименьших квадратов в программе Microsoft Excel, а результаты обработки представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Результаты обработки МНК линейной зависимости скорости реакции от концентрации оксалата

Параметр	Значение	Параметр	Значение
a	0,05039	Δa	0,001799043
b	0,01005	Δb	0,000386487
S_a	0,00076	R^2	0,99815
S_b	0,00016	–	–

Используя полученные в ходе работы данные для градуировочного графика, можно оценить чувствительность, или предел обнаружения данного метода. Для этого используется формула 4:

$$C_{\min,P} = \frac{t_{p,f} \cdot (S_a + \bar{C} \cdot S_b)}{b + t_{p,f} \cdot S_b}, \quad (4)$$

где \bar{C} - центр градуировочного графика по оси абсцисс;

$t_{0,95,f}$ – коэффициент Стьюдента с надежностью 95 %;

$f = n-2$ – число степеней свободы,

n – число точек градуировочного графика

Подставляя расчетные величины из таблицы 3.6 в формулу (4), получаем следующее:

$$C_{\min} = \frac{2,37 \cdot (7,6 \cdot 10^{-4} + 5,0 \cdot 1,6 \cdot 10^{-4})}{0,00105 + 2,37 \cdot 1,6 \cdot 10^{-4}} = 2,587 \approx 2,6 \text{ мкг/мл.}$$

Таким образом, предел обнаружения оксалат-иона в видимой области по образованию комплекса иода с крахмалом, в результате окисления иодида броматом, составляет примерно 2,6 мкг/мл.

3.6 Метрологические характеристики

Для того чтобы уточнить метрологические характеристики данного метода, необходимо провести серию параллельных измерений для известной введенной концентрации оксалата и оценить правильность и повторяемость аналитического определения. Концентрация оксалат-иона выбирается, исходя из области линейности градуировочного графика, а так как линейность наблюдается на всем выбранном участке измерений, следовательно, используется весь диапазон значений концентраций рабочих растворов от 1 мкг/мл до 100 мкг/мл. Измерение в области, где концентрация рабочего раствора свыше 100 мкг/мл, не проводилось по причине высокой скорости протекающей реакции, а так же в связи с быстрым окислением оксалат-иона кислородом воздуха.

Для этого в мерную пробирку на 10 мл внесли 1,0 мл раствора оксалата аммония с концентрацией 1 – 100 мкг/мл, затем прилили 2,0 мл ацетатного буферного раствора (рН = 5,05), 1,0 мл раствора железа(II) и 1,0 мл раствора иодида. Затем довели до метки 8 мл дистиллированной водой и перемешали. После этого добавили 1,0 мл раствора крахмала с концентрацией $1,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл и в конце внесли 1,0 мл раствора бромата. Сразу после добавления окислителя включили секундомер. Смесь перенесли в кювету на 1 см, провели измерения оптической плотности при длине волны 590 нм на КФК-2. Результаты представлены в таблице А.4.

Для каждой концентрации оксалат-иона проведена серия из пяти параллельных измерений, значения проверены на наличие промахов. Полученные выборки значений тангенсов и соответствующих им концентраций оксалата в фотометри-

руемом растворе, рассчитанных по уравнениям линейной регрессии, а также найденные метрологические характеристики представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Метрологические характеристики кинетико-фотометрического определения оксалата

$C_{C_2O_4^{2-}}$, МКГ/МЛ	$tg \alpha$	C_x , МКГ/МЛ	\bar{C}_x , МКГ/МЛ	S , МКГ/МЛ	S_r , %	ΔC , МКГ/МЛ	$\frac{\Delta C}{C} \cdot 100 \%$	δ , %
0,1	0,0564 0,0566 0,0529 0,0556 0,0536	0,101 0,102 0,095 0,100 0,096	0,099	0,00311	3,15231	0,00387	3,90	1,00
1,0	0,0607 0,0568 0,0563 0,0611 0,0577	0,941 0,881 0,873 0,947 0,895	0,907	0,03439	3,79015	0,04276	4,71	9,30
2,0	0,0840 0,0841 0,0843 0,0825 0,0845	2,127 2,129 2,134 2,088 2,139	2,123	0,02033	0,95742	0,02528	1,19	6,15
2,5	0,0865 0,0872 0,0899 0,0894 0,0904	2,556 2,577 2,657 2,642 2,671	2,621	0,05098	1,94548	0,06339	2,42	4,84
5,0	0,1106 0,1118 0,1132 0,1128 0,1123	4,920 4,973 5,036 5,018 4,996	4,989	0,04504	0,90290	0,05600	1,14	0,22
7,5	0,1361 0,1378 0,1384 0,1379 0,1372	7,344 7,435 7,468 7,441 7,403	7,418	0,04748	0,64010	0,05903	0,80	1,09
10,0	0,1700 0,1714 0,1696 0,1715 0,1715	9,977 10,059 9,953 10,065 10,065	10,024	0,05440	0,54269	0,06763	0,67	0,24

Градуировочный график со всеми сериями измерений также представлен на рисунке 3.7.

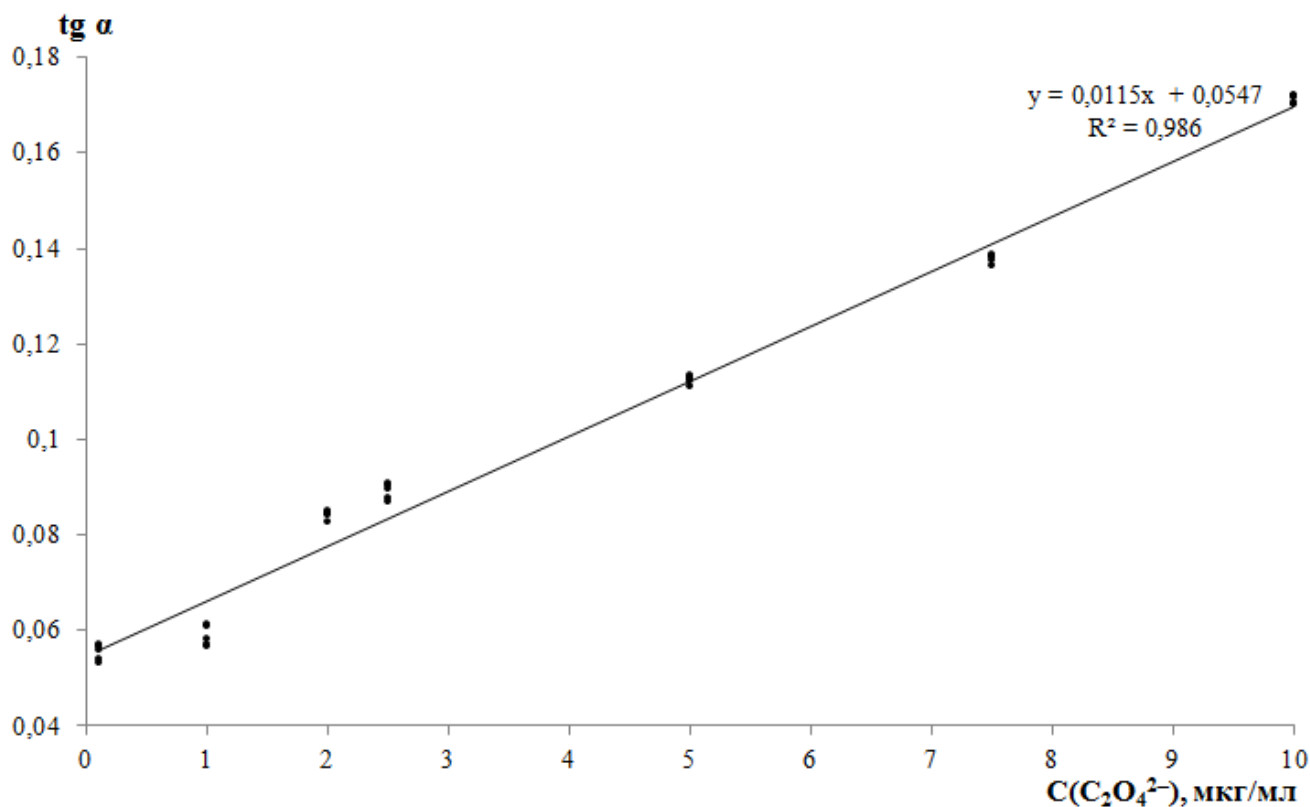


Рисунок 3.7 – Зависимость скорости реакции от концентрации оксалата в фотометрируемом растворе
 $C_{\text{Fe}^{2+}} = 0,7$ мкг/мл, $C_{\text{I}^-} = 0,0120$ М, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл,
 $C_{\text{BrO}_3^-} = 0,0100$ М, pH = 5,05

Сходимость колеблется в пределах (0,67 – 4,71) % и закономерно становится меньше с увеличением концентрации оксалата. Правильность оценивается погрешностью в интервале (0,22 – 9,30) % по сравнению с концентрацией оксалата в фотометрируемом растворе.

Таким образом, можно сделать вывод, что возможно использование кинетико-фотометрического определения для установления концентрации оксалата, в связи с тем, что повторяемость и правильность имеют достаточно хорошие значения.

3.7 Определение содержания оксалата в пищевых продуктах

Для определения оксалата в пищевых продуктах на примере свеклы был использован метод добавок, который является одним из методов, широко применяемых в анализе объектов со сложной матрицей. Основным требованием к данному методу является соблюдение линейности. Так, в нашем случае значение тан-

генса угла наклона кинетической кривой с наибольшей добавкой не должен выходить за исследованные пределы линейности полученного графика.

Метод добавок позволяет определять и правильность получаемых результатов по разности между полученными значениями аналитического сигнала. Помимо этого метод добавок применим для анализа многокомпонентных систем, в том числе, и продуктов питания.

Все измерения проводятся в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.3 данной работы. При этом не стоит забывать учитывать во внимание, что при определении оксалата в вытяжке из свеклы раствором сравнения выступает разбавленный раствор данной вытяжки. Это связано с интенсивностью окрашивания приготовленного раствора в характерный для свеклы бордовый цвет. Таким образом, беря аликвоту 1,0 мл для определения в ней оксалата, и, следуя методике, мы приходим к разбавлению ее в 10 раз. Поэтому раствор сравнения также следует готовить разбавлением раствора вытяжки в 10 раз дистиллированной водой, исключая добавление катализатора, индикатора и окислителя. За счет этого интенсивность окрашивания раствора значительно уменьшается, что позволяет проводить измерение в более хороших условиях.

Также проведены измерения по аналогичной методике с добавками оксалата, концентрацией 1,0 и 2,0 мкг/л в фотометрируемом растворе. Концентрация добавки выбиралась так, чтобы максимальная концентрация оксалата не выходила за известные пределы линейности. Не стоит забывать, что необходимо учитывать фактор аликвотирования, так как происходит разбавление раствора в 10 раз. Каждая серия измерений проведена в 4-х параллелях. Изменение оптической плотности занесены в таблицу А.5 приложения. Кинетические кривые обработаны методом МНК по ранее описанной методике, полученные абсолютные величины тангенсов представлены ниже в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Определение оксалата в водной вытяжке из свеклы методом добавок

Величина добавки, мкг/мл	1	2	3	4
	tg α			
0	0,057	0,0567	0,0569	0,0571
1,0	0,0716	0,0718	0,0716	0,0717
2,0	0,087	0,0873	0,0869	0,0871

Также построили зависимости тангенса угла наклона от концентрации добавки, с помощью метода наименьших квадратов для каждой зависимости получали уравнение линейной регрессии. В таблице 3.9 представлены коэффициенты полученных регрессий с доверительными интервалами.

Таблица 3.9 – Коэффициенты линейных регрессий, полученных методом добавок и их доверительные интервалы

Величина	1	2	3	4
a	0,05687	0,05677	0,05680	0,05697
Δa	0,003788258	0,000947065	0,002841194	0,003788258
b	0,01500	0,01510	0,01500	0,01500
Δb	0,00293437	0,00073359	0,00220078	0,00293437
R^2	0,99976	0,99999	0,99987	0,99976

Полученная зависимость $y = bx + a$ решается приравниванием $y = 0$, полученное значение записывается по модулю. Зависимость тангенса угла наклона для первой параллели изображена на рисунке 3.8.

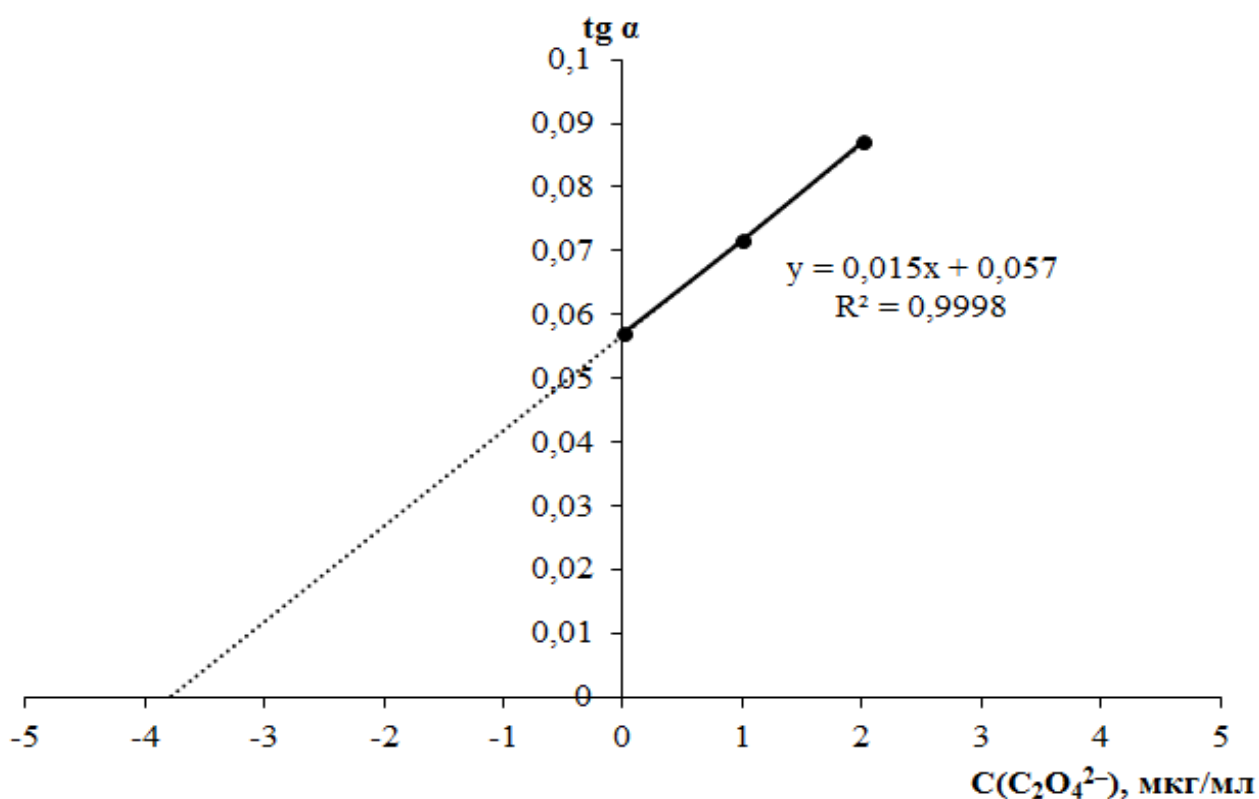


Рисунок 3.8 – Зависимость $\text{tg } \alpha$ от концентрации оксалат-иона, полученная методом добавок

Для нахождения точки пересечения с осью x необходимо решить соответствующее уравнение линейной регрессии для данной зависимости, приравнявая y к 0.

Концентрация оксалата в вытяжке из свеклы составляет 3,79 мкг/мл. Доверительный интервал равен 0,02 мкг/мл. Таким образом, получаем, что концентрация оксалат-иона в растворе лежит в интервале $(3,79 \pm 0,02)$ мкг/мл.

Вспомнив, что для приготовления данного раствора нами было взято 2,5 г свеклы, переведенной в мерную колбу на 250,0 мл, получаем, что концентрация оксалата в выбранной свекле составила 379 мкг на 1 г продукта.

Аналогично проводятся расчеты для всех измерений и рассчитываются их метрологические характеристики, занесенные в таблицу 3.10.

Таблица 3.10 – Рассчитанные метрологические характеристики определения оксалата в пищевом продукте

C_x , мкг/г	\bar{C}_x , мкг/г	S , мкг/г	S_r , %	ΔC , мкг/г	$\Delta C/C \cdot 100$ %
379 376 379 380	378,5	1,73	0,46	2,46	0,6

Следовательно, концентрация оксалат-иона в свекле составляет (379 ± 2) мкг/г.

Метод добавок применяется для определения правильности анализа. Для проверки правильности определения оксалата в пищевых продуктах рассматривается разница аналитического сигнала ($\text{tg } \alpha$) между добавками 1,0 и 2,0 мкг/мл в фотометрируемом растворе.

В соответствии с данными из таблицы 3.8 разность между тангенсами измерений с добавками 1,0 и 2,0 мкг/мл составляет 0,0154.

Используя соответствующее уравнение градуировочного графика, $y = 0,01500x + 0,0569$, находим концентрацию, соответствующую тангенсу разности, по уравнению (1):

$$C_x = \frac{0,087 - 0,0716}{0,01500} = 1,027 \text{ мкг/мл.} \quad (1)$$

Таким образом, концентрация оксалат-иона в фотометрируемом растворе составила 1,027 мкг/мл.

Аналогично производится расчет для каждого измерения концентрации оксалат-иона в фотометрируемом растворе. Выборка проверяется на промахи с помощью t -критерия. Рассчитанные величины представлены в таблице 3.11.

Таблица 3.11 – Результаты определения правильности проведенных по методу добавок измерений

$\Delta \text{tg } \alpha$ $C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0 \text{ мкг/мл}$	C_x , мкг/мл	\bar{C}_x , мкг/мл	δ , %
0,0154 0,0155 0,0155 0,0154	1,027 1,033 1,033 1,027	1,030	3,0

Полученное с помощью фотоколориметрического метода содержание оксалата в свекле составило 379 мкг на 1 г продукта. Таким образом, с учетом доверительного интервала, содержание оксалата составляет 379 ± 2 мкг/г. Доверительный интервал не превышает найденной чувствительности метода.

После анализа раствора, полученного из вытяжки образца свеклы, были оценены метрологические характеристики, относящиеся непосредственно к содержанию оксалата в данном продукте, к ним относятся правильность и повторяемость. Погрешность измерения повторяемости составила 0,6 %, правильность характеризуется ошибкой в 3,0 %.

Точных числовых данных по содержанию оксалата в свекле фактически нет, поскольку содержание оксалат-иона в ней способно варьироваться, согласно литературным источникам, от 76 до 675 мкг/г [50 – 52] в зависимости от различных условий выращивания, сорта, места произрастания и других сопутствующих факторов. Средним значением принято считать 350 – 400 мкг оксалата на 1 г продукта. Таким образом, полученное нами значение очень близко к усредненному теоретическому значению, что свидетельствует о возможности анализа пищевых продуктов данным методом.

Таким образом, разработанный и опробованный нами метод кинетико-фотометрического определения оксалатов по сравнению с некоторыми другими методами, представленными в литературном обзоре данной работы, обладает большей чувствительностью, например, он куда более чувствительный, чем спекрофотометрический метод [43], предел обнаружения которого составляет 0,25 мкг/мл. Также он чувствительнее флуоресцентного и хемилюминесцентного методов определения [34 – 37], определение оксалата в которых возможно в области концентраций от 10^{-6} до 10^{-4} М. Что касается хроматографических методов, то его чувствительность уступает капиллярному электрофорезу [31 – 33] и методу ВЭЖХ [28 – 30], предел обнаружения которых до 44 нг/мл и 0,05 мкг/мл соответственно.

Помимо этого, по сравнению с исходной методикой [47], выбранной нами в качестве основы, где измерение, однако, проводилось в УФ-спектре, наша методика обладает несколько меньшей чувствительностью, при этом в расширенном нами диапазоне исследованных концентраций, воспроизводимость результатов схожа. Предел обнаружения в УФ-спектре, как указано ранее, составляет 0,080 мкг/мл, тогда как в видимой части спектра нам удалось достичь предела обнаружения в 0,10 мкг/мл. С ростом концентрации оксалата в растворе росла и воспроизводимость результатов исследования. Поэтому на основании проделанной работы и сделанных умозаключений можно констатировать, что в ходе данной работы нам удалось приспособить определение оксалата к видимой области спектра, что позволяет значительно расширить круг применения метода, а также использовать его в массовом анализе, поскольку возможно проведение работы с помощью фотоэлектроколориметра.

Метод определения тангенса угла наклона кинетической кривой с использованием метода наименьших квадратов не столь быстр и прост, как фотометрические методы, основанные на измерении абсолютного значения оптической плотности.

Тем не менее он более экспрессен, если рассматривать все этапы анализа, включая пробоподготовку при окрашенности и мутности вытяжки, получаемой из пищевых продуктов, так как для фотометрического определения раствор должен быть совершенно прозрачным, а матрица не должна иметь собственной окраски. В то время как кинетические методы опираются не на абсолютное значение оптической плотности, а на скорость изменения существующего светопоглощения, и погрешность измерения аналитического сигнала, вводимая матрицей, нивелируется. Помимо этого появляется возможность анализа широкого спектра уже окрашенных веществ, чья оптическая плотность сильно отлична от нуля, за счет фиксирования изменения оптической плотности. Чувствительность каталитического метода, за счет небольших количеств катализатора, вводимых для ускорения индикаторной реакции, существенно выше, чем у фотометрических методов.

ВЫВОДЫ

В ходе проведения работы нам удалось перевести кинетико-фотометрическое определение оксалата, основанное на активации катализа окисления иодида броматом, в видимую область спектра (с 352 нм до 572 нм) за счет введения растворимого крахмала, выступающего в качестве индикатора. Также нами были сформулированы следующие выводы:

1. Оптимальные условия определения оксалат-иона по реакции окисления иодида броматом, регистрируемой при помощи крахмала в видимой части спектра: рН = 5,05, концентрация крахмала – $3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл. График зависимости скорости реакции от концентрации оксалата линеен во всем исследованном диапазоне, что позволяет определять концентрацию оксалата в интервале от 0,1 до 10 мкг на 1 мл фотометрируемого раствора.

2. Сходимость колеблется в пределах (0,67 – 4,71) % и закономерно уменьшается при увеличении концентрации оксалата. Правильность оценивается погрешностью в интервале (0,22 – 9,30) % по сравнению с концентрацией оксалата в фотометрируемом растворе. Погрешность измерения повторяемости методом добавок составила 0,6 %, а правильность характеризуется ошибкой в 3,0 %.

3. Метод применен для анализа пищевых продуктов: в проанализированном образце свеклы концентрация оксалата составляет (379 ± 2) мкг на 1 г продукта.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1 Садртдинова, Р.Р. Получение щавелевой кислоты / Р.Р. Садртдинова // Проблемы современной науки и образования. – 2016. – № 25(67). – С. 23–25.
- 2 Abratt, V.R. Oxalate-Degrading Bacteria of the Human Gut as Probiotics in the Management of Kidney Stone Disease / V.R. Abratt, S.J. Reid // Adv. Appl. Microbiol. – 2010. – V. 72. – P. 63–87.
- 3 Massey, L.K. Dietary Salt, Urinary Calcium, and Kidney Stone Risk / L.K. Massey, S.J. Whiting // Nutr. Rev. – 1995. – V. 53, N 5. – P. 131–139.
- 4 Risk Factors in Calcium Stone Disease of the Urinary Tract / W.G. Robertson, M. Peacock, P.J. Heyburn et al. // Br. J. Urol. – 1978. – V. 50. – P. 449–454.
- 5 Barlow, I.M. Obviating Interferences in the Assay of Urinary Oxalate / I.M. Barlow // Clin. Chem. – 1987. – V. 33. – P. 855–858.
- 6 Hu, H.C. A Practical Headspace Gas Chromatographic Method for the Determination of Oxalate in Bleaching Effluents / H.C. Hu, H.J. Jin, X.S. Chai // J. Ind. Eng. Chem. – 2014. – V. 20, N 1. – P. 13–16.
- 7 Основы аналитической химии. В 2 кн. Кн. 2. Методы химического анализа: учеб. для вузов / Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И. Фадеева и др.; под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высшая школа, 1996. – 461 с.
- 8 Отто, М. Современные методы аналитической химии: в 2 т. / М. Отто. – М.: Техносфера, 2003. – Т. 1. – 416 с.
- 9 Васильев, В.П. Аналитическая химия. В 2 ч. Ч. 2: физико-химические методы анализа: учеб. для химико-технол. спец. вузов / В.П. Васильев. – М.: Высшая школа, 1989. – 384 с.
- 10 Лурье, Ю.Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. – 6-е изд. – М.: Химия, 1989. – 448 с.
- 11 Крешков, А.П. Основы аналитической химии. Количественный анализ: учебник для студентов химико-технологических специальностей вузов: в 2 кн. / А.П. Крешков. – 3-е изд., перераб. – Москва: Химия, 1971. – Кн. 2. – 456 с.
- 12 Quantitative Determination of Oxalate by Permanganate Titration / E.M.M. Medrano, J.M. Pasco, M.E. Lubrin et al. // University of the Philippines. – 2014. – 28 January.
- 13 Adeniyi, S.A. Determination of Alkaloids and Oxalates in some Selected Food Samples in Nigeria / S.A. Adeniyi, C.L. Orjiekwe, J.E. Ehiagbonare // Afr. J. Biotechnol. – 2009. – V. 8, N 1. – P. 110–112.
- 14 Calkins, V.P. Microdetermination of Glycolic and Oxalic Acids / V.P. Calkins // Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. – 1943. – V. 15, N 12. – P. 762–763.
- 15 Bergerman, J. Method for Direct Colorimetric Determination of Oxalic Acid / J. Bergerman, J.S. Elliot // Anal. Chem. – 1955. – V. 27, N 6. – P. 1014–1015.
- 16 Baadenhuijsen, H. Colorimetric Determination of Urinary Oxalate Recovered as Calcium Oxalate / H. Baadenhuijsen, A.P. Jansen // Clin. Chim. Acta. – 1975. – V. 62, N 2. – P. 315–324.
- 17 Assay of Plasma Oxalate with Soluble Oxalate Oxidase / M. Petrarulo, E. Cerelli, M. Marangella et al. // Clin. Chem. – 1994. – V. 40, N 11. – P. 2030–2034.

18 Burrows, S. A Colorimetric Method for the Determination of Oxalate / S. Burrows // *The Analyst*. – 1950. – V. 75, N 887. – P. 80–84.

19 Pourreza, N. Colorimetric Sensing of Oxalate Based on its Inhibitory Effect on the Reaction of Fe (III) with Curcumin Nanoparticles / N. Pourreza, N. Lotfizadeh, H. Golmohammadi // *Spectrochim. Acta, Part A*. – 2018. – V. 192. – P. 251–256.

20 Dosch, W. Rapid and Direct Gas Chromatographic Determination of Oxalic Acid in Urine / W. Dosch // *Urological Research*. – 1979. – V. 7. – P. 227–234.

21 Park, K.Y. Gas-Chromatographic Determination of Urinary Oxalate / K.Y. Park, J. Gregory // *Clin. Chem*. – 1980. – V. 26, N 8. – P. 1170–1172.

22 Determination of Oxalates in Plasma and Urine Using Gas Chromatography / M.A. Gelot, G. Lavoue, F. Belleville et al. // *Clin. Chim. Acta*. – 1980. – V. 106, N 3. – P. 279–285.

23 Ohkawa, H. Gas Chromatographic Determination of Oxalic Acid in Foods / H. Ohkawa // *J. - Assoc. Off. Anal. Chem*. – 1985. – V. 68, N 1. – P. 108–111.

24 Gottstein, H.D. Detection and Quantitation of Oxalic Acid by Capillary Gas Chromatography / H.D. Gottstein, M.N. Zook, J.A. Kuc // *J. Chromatogr. A*. – 1989. – V. 481. – P. 55–61.

25 Determination of Oxalate and Some Inorganic Anions in Green and Black Tea / E. Yusenko, E. Polyntseva, A. Lyzhova et al. // *Proc. Latv. Acad. Sci., Sect. B*. – 2013. – V. 67, N 4–5. – P. 429–432.

26 Maya, F. Multisyringe Ion Chromatography with Chemiluminescence Detection for the Determination of Oxalate in Beer and Urine Samples / F. Maya, J.M.L. Estela, V. Cerda // *Microchim. Acta*. – 2011. – V. 173, N 1. – P. 33–41.

27 Multivariate Analysis of FTIR and Ion Chromatographic Data for the Quality Control of Tequila / D.W. Lachenmeier, E. Richling, M.G. Lopez et al. // *J. Agric. Food Chem*. – 2005. – V. 53, N 6. – P. 2151–2157.

28 Keevil, B.G. Quantification of Urinary Oxalate by Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry with Online Weak Anion Exchange Chromatography / B.G. Keevil, S. Thornton // *Clin Chem*. – 2006. – V. 52, N 12. – P. 2296–2299.

29 Пат. 2410692 Российская Федерация, МПК G 01 N 33/48, Способ определения ионов оксалата в моче / А. Ю. Жариков. – № 2009110588/15; заявл. 23.03.2009; опубл. 27.01.2011. Бюл. №3. – 5 с.

30 Rahman, M.M. Simple Method for Determination of Oxalic Acid in Forages Using High-Performance Liquid Chromatography / M.M. Rahman, M. Niimi, O. Kawamura // *Grassl. Sci*. – 2007. – V. 53, N 4. – P. 201–204.

31 Fu, C. Determination of Oxalic Acid in Urine by Co-Electroosmotic Capillary Electrophoresis with Amperometric Detection / C. Fu, L. Wang, Y. Fang // *Talanta*. – 1999. – V. 50, N 5. – P. 953–958.

32 Determination of Oxalate in Beer by Zone Electrophoresis on a Chip with Conductivity Detection / M. Masar, M. Zuborova, D. Kaniansky et al. // *J. Sep. Sci*. – 2003. – V. 26, N 8. – P. 647–652.

33 Determination of Oxalate and Citrate in Urine by Capillary Electrophoresis Using Solid-phase Extraction and Capacitively Coupled Contactless Conductivity Based

on an Improved Mini-cell / S. Zhao, D. Yin, H. Du et al. // *J. Sep. Sci.* – 2018. – V. 41, N 12. – P. 2623–2631.

34 Colourimetric and Fluorescent Detection of Oxalate in Water by a New Macrocycle-Based Dinuclear Nickel Complex: a Remarkable Red Shift of the Fluorescence Band / M.M. Rhaman, F.R. Fronczek, D.R. Powell et al. // *Dalton Trans.* – 2014. – V. 43, N 12. – P. 4618–4621.

35 Hu, M. Highly Selective and Sensitive Fluorescent Sensing of Oxalate in Water / M. Hu, G. Feng // *Chem. Commun.* – 2012. – V. 48, N 55. – P. 6951–6953.

36 A Ratiometric Fluorescent Probe for Oxalate Based on Alkyne-Conjugated Carboxamidoquinolines in Aqueous Solution and Imaging in Living Cells / C. He, X. Qian, Y. Xu // *Dalton Trans.* – 2011. – V. 40, N 5. – P. 1034–1037.

37 Rubinstein, I. Electrogenenerated Chemiluminescent Determination of Oxalate / I. Rubinstein, C.R. Martin, A.J. Bard // *Anal. Chem.* – 1983. – V. 55. – P. 1580–1582.

38 Determination of Serum Oxalate Using Peroxyoxalate Chemiluminescence of Free Oxalic Acid / S. Albrecht, H. Hornak, T. Freidt et al. // *J. Biolumin. Chemilumin.* – 1993. – V. 8, N 1. – P. 21–24.

39 Determination of Urinary Oxalate and Porphyrins by Peroxyoxalate Chemiluminescence / S. Albrecht, H. Brandl, W.-D. Böhm et al. // *Anal. Chim. Acta.* – 1991. – V. 255, N 2. – P. 413–416.

40 Bernstein, L. Rapid Spectrophotometric Determination of Oxalate in Beer and Wort / L. Bernstein, A. Khan // *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* – 1973. – V. 31, N 1. – P. 20–23.

41 Pollard, F.M. 4-(2-Pyridylazo)-resorcinol as a Possible Analytical Reagent for the Colorimetric Estimation of Cobalt, Lead, and Uranium / F.M. Pollard, P. Hanson, W.J. Geary // *Anal. Chim. Acta.* – 1959. – V. 20. – P. 26–31.

42 Neas, R.E. Indirect Spectrophotometric Determination of Oxalate Using Uranium and 4-(2-Pyridylazo)resorcinol / R.E. Neas, J.C. Guyon // *Anal. Chem.* – 1972. – V. 44, N 4. – P. 799–805.

43 Allan, A.L. Spectrophotometric Determination of Oxalate in Aqueous Solution / A.L. Allan, B.S.F. Band, E. Rubio // *Microchem. J.* – 1986. – V. 34, N 1. – P. 51–55.

44 Ensafi, A.A. Kinetic Spectrophotometric Method for the Determination of Oxalic Acid by Its Catalytic Effect on the Oxidation of Safranin by Dichromate / A.A. Ensafi, S. Abbasi, B. Rezaei // *Spectrochim. Acta, Part A.* – 2001. – V. 57, N 9. – P. 1833–1838.

45 Zhai, Q.-Z. Catalytic Kinetic Spectrophotometry for the Determination of Trace Amount of Oxalic Acid in Biological Samples with Oxalic Acid – Rhodamine B – Potassium Dichromate System / Q.-Z. Zhai, X.-X. Zhang, Q.-Z. Liu // *Spectrochim. Acta, Part A.* – 2006. – V. 65, N 1. – P. 1–4.

46 Determination of Trace Amounts of Oxalate in Vegetable and Water Samples Using a New Kinetic-Catalytic Reaction System / A.M. Chamjangali, L. Sharif-Razavian, M. Yousefi et al. // *Spectrochim. Acta, Part A.* – 2009. – V. 73, N 1. – P. 112–116.

47 Chamjangali, M.A. Kinetic Spectrophotometric Method for the Determination of Trace Amounts of Oxalate by an Activation Effect / M.A. Chamjangali, V. Keley, G. Bagherian // *Anal. Sci.* – 2006. – V. 22, N 2. – P. 333–336.

48 ГОСТ 4919.2-2016. Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов. – М.: Стандартинформ, 2016. – 16 с.

49 Чичибабин, А.Е. Основные начала органической химии: в 2 т. / под ред. П.Г. Сергеева, А.Л. Либермана. – 7-е изд., перераб. и доп. – М.: Госхимиздат, 1963. – Т. 1. – 910 с.

50 Hanson, C.F. Bioavailability of Oxalic Acid from Spinach, Sugar Beet Fibre and a Solution of Sodium Oxalate Consumed by Female Volunteers / C.F. Hanson, V. H. Frankos, W.O. Thompson // *Food Chem. Toxicol.* – 1989. – V. 27, N 3. – P. 181–184.

51 Massey, L.K. Food Oxalate: Factors Affecting Measurement, Biological Variation, and Bioavailability/ L.K. Massey // *J. Am. Diet. Assoc.* – 2007. – V. 107, N 7. – P. 1191–1194.

52 Effect of Cooking on Soluble and Insoluble Oxalate Contents in Selected Pakistani Vegetables and Beans / M.S. Akhtar, B. Israr, N. Bhatti et al. // *Int. J. Food Prop.* – 2011. – V. 14, N 1. – P. 241–249.

ABSTRACT

Khaybullina O.A. Kinetic Photometric Method for the Determination of Oxalate Ion by the Catalytic Effect on Oxidation of Iodide – Chelyabinsk: SUSU, ET-431, 2020. – 65 p., 14 fig., 11 tables, 52 references, 1 app.

Kinetic method, spectrophotometric determination, oxalate, iodine, starch, tangent method, kinetic curve.

The object of research is an oxalate ion.

The aim of the study is the optimization of the reaction conditions for extending the range of concentrations to be determined.

In order to achieve the research aim the following objectives have been met:

- to complete the literature review in the research area;
- to change the analytical signal to the visual photometric determination;
- to prove the catalytic activity of the oxalate ion;
- to establish the influence of variable conditions of the reaction;
- to calculate metrological characteristics;
- to analyze foodstuffs.

The developed technique can be used for analysis of micrograms of oxalate in food samples influencing the normal functioning of biochemical processes in animal organisms.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
Кинетические кривые

Таблица А.1 – Зависимости оптической плотности от времени при различной концентрации крахмала в фотометрируемом растворе

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,000	2,0	0,019	3,5	0,032	5,0	0,039
0,75	0,002	2,25	0,022	3,75	0,032	5,25	0,040
1,0	0,005	2,5	0,025	4,0	0,034	5,5	0,041
1,25	0,009	2,75	0,026	4,25	0,036	5,75	0,041
1,5	0,013	3,0	0,028	4,5	0,036	6,0	0,041
1,75	0,017	3,25	0,030	4,75	0,038		
$C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,000	2,0	0,018	3,5	0,032	5,0	0,040
0,75	0,002	2,25	0,021	3,75	0,033	5,25	0,041
1,0	0,005	2,5	0,024	4,0	0,034	5,5	0,041
1,25	0,009	2,75	0,026	4,25	0,036	5,75	0,042
1,5	0,011	3,0	0,028	4,5	0,037	6,0	0,042
1,75	0,014	3,25	0,031	4,75	0,039		
$C_{\text{крахмал}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,006	2,0	0,033	3,5	0,053	5,0	0,062
0,75	0,009	2,25	0,038	3,75	0,055	5,25	0,064
1,0	0,014	2,5	0,041	4,0	0,057	5,5	0,066
1,25	0,018	2,75	0,046	4,25	0,058	5,75	0,067
1,5	0,023	3,0	0,048	4,5	0,060	6,0	0,068
1,75	0,028	3,25	0,051	4,75	0,061		
$C_{\text{крахмал}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,004	2,0	0,027	3,5	0,050	5,0	0,061
0,75	0,007	2,25	0,032	3,75	0,052	5,25	0,062
1,0	0,011	2,5	0,037	4,0	0,055	5,5	0,064
1,25	0,014	2,75	0,041	4,25	0,056	5,75	0,066
1,5	0,018	3,0	0,045	4,5	0,058	6,0	0,066
1,75	0,023	3,25	0,047	4,75	0,060		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,011	2,0	0,045	3,5	0,068	5,0	0,082
0,75	0,016	2,25	0,051	3,75	0,071	5,25	0,084
1,0	0,022	2,5	0,056	4,0	0,073	5,5	0,086
1,25	0,027	2,75	0,059	4,25	0,076	5,75	0,087
1,5	0,032	3,0	0,062	4,5	0,078	6,0	0,088
1,75	0,039	3,25	0,065	4,75	0,080		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,004	2,0	0,030	3,5	0,056	5,0	0,070
0,75	0,007	2,25	0,035	3,75	0,059	5,25	0,072
1,0	0,011	2,5	0,040	4,0	0,061	5,5	0,074
1,25	0,015	2,75	0,046	4,25	0,064	5,75	0,076
1,5	0,020	3,0	0,050	4,5	0,067	6,0	0,077
1,75	0,025	3,25	0,053	4,75	0,068		

Продолжение таблицы А.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{крахмал}} = 4,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,011	2,0	0,052	3,5	0,082	5,0	0,101
0,75	0,017	2,25	0,058	3,75	0,086	5,25	0,103
1,0	0,023	2,5	0,065	4,0	0,090	5,5	0,106
1,25	0,031	2,75	0,070	4,25	0,093	5,75	0,108
1,5	0,038	3,0	0,075	4,5	0,096	6,0	0,109
1,75	0,046	3,25	0,079	4,75	0,098		
$C_{\text{крахмал}} = 4,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,005	2,0	0,042	3,5	0,075	5,0	0,094
0,75	0,011	2,25	0,050	3,75	0,078	5,25	0,097
1,0	0,018	2,5	0,056	4,0	0,081	5,5	0,099
1,25	0,023	2,75	0,060	4,25	0,085	5,75	0,101
1,5	0,030	3,0	0,066	4,5	0,089	6,0	0,103
1,75	0,036	3,25	0,071	4,75	0,092		
$C_{\text{крахмал}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,000	2,0	0,051	3,5	0,097	5,0	0,124
0,75	0,004	2,25	0,060	3,75	0,105	5,25	0,128
1,0	0,013	2,5	0,071	4,0	0,108	5,5	0,131
1,25	0,023	2,75	0,078	4,25	0,114	5,75	0,134
1,5	0,032	3,0	0,086	4,5	0,118	6,0	0,137
1,75	0,042	3,25	0,092	4,75	0,121		
$C_{\text{крахмал}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,000	2,0	0,041	3,5	0,086	5,0	0,115
0,75	0,001	2,25	0,051	3,75	0,092	5,25	0,119
1,0	0,009	2,5	0,058	4,0	0,098	5,5	0,122
1,25	0,017	2,75	0,066	4,25	0,102	5,75	0,125
1,5	0,025	3,0	0,073	4,5	0,107	6,0	0,127
1,75	0,033	3,25	0,080	4,75	0,111		
$C_{\text{крахмал}} = 6,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,005	2,0	0,060	3,5	0,105	5,0	0,131
0,75	0,015	2,25	0,070	3,75	0,110	5,25	0,134
1,0	0,023	2,5	0,077	4,0	0,115	5,5	0,137
1,25	0,032	2,75	0,086	4,25	0,119	5,75	0,140
1,5	0,041	3,0	0,093	4,5	0,124	6,0	0,143
1,75	0,051	3,25	0,099	4,75	0,127		
$C_{\text{крахмал}} = 6,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,002	2,0	0,046	3,5	0,091	5,0	0,119
0,75	0,007	2,25	0,056	3,75	0,097	5,25	0,123
1,0	0,014	2,5	0,061	4,0	0,102	5,5	0,126
1,25	0,022	2,75	0,070	4,25	0,107	5,75	0,130
1,5	0,031	3,0	0,077	4,5	0,112	6,0	0,133
1,75	0,041	3,25	0,085	4,75	0,116		
$C_{\text{крахмал}} = 8,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,009	2,0	0,066	3,5	0,119	5,0	0,152

Продолжение таблицы А.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
0,75	0,017	2,25	0,076	3,75	0,125	5,25	0,156
1,0	0,026	2,5	0,086	4,0	0,131	5,5	0,161
1,25	0,036	2,75	0,095	4,25	0,137	5,75	0,164
1,5	0,047	3,0	0,103	4,5	0,143	6,0	0,167
1,75	0,056	3,25	0,112	4,75	0,147		
$C_{\text{крахмал}} = 8,0 \cdot 10^{-5}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,006	2,0	0,062	3,5	0,116	5,0	0,152
0,75	0,013	2,25	0,071	3,75	0,124	5,25	0,157
1,0	0,022	2,5	0,081	4,0	0,130	5,5	0,161
1,25	0,032	2,75	0,092	4,25	0,136	5,75	0,166
1,5	0,042	3,0	0,101	4,5	0,142	6,0	0,169
1,75	0,052	3,25	0,109	4,75	0,148		
$C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,072	2,0	0,260	3,5	0,407	5,0	0,489
0,75	0,097	2,25	0,289	3,75	0,425	5,25	0,506
1,0	0,134	2,5	0,317	4,0	0,449	5,5	0,511
1,25	0,165	2,75	0,339	4,25	0,456	5,75	0,523
1,5	0,194	3,0	0,366	4,5	0,467	6,0	0,530
1,75	0,228	3,25	0,387	4,75	0,479		0,489
$C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,006	2,0	0,097	3,5	0,196	5,0	0,287
0,75	0,017	2,25	0,114	3,75	0,213	5,25	0,299
1,0	0,028	2,5	0,131	4,0	0,229	5,5	0,312
1,25	0,044	2,75	0,149	4,25	0,242	5,75	0,321
1,5	0,061	3,0	0,166	4,5	0,256	6,0	0,332
1,75	0,079	3,25	0,180	4,75	0,272		
$C_{\text{крахмал}} = 1,5 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,022	2,0	0,126	3,5	0,222	5,0	0,287
0,75	0,036	2,25	0,143	3,75	0,234	5,25	0,301
1,0	0,056	2,5	0,161	4,0	0,246	5,5	0,305
1,25	0,073	2,75	0,178	4,25	0,257	5,75	0,312
1,5	0,092	3,0	0,192	4,5	0,268	6,0	0,319
1,75	0,105	3,25	0,208	4,75	0,277		
$C_{\text{крахмал}} = 1,5 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,015	2,0	0,104	3,5	0,190	5,0	0,259
0,75	0,027	2,25	0,119	3,75	0,203	5,25	0,268
1,0	0,043	2,5	0,134	4,0	0,215	5,5	0,276
1,25	0,058	2,75	0,148	4,25	0,229	5,75	0,284
1,5	0,074	3,0	0,164	4,5	0,243	6,0	0,292
1,75	0,089	3,25	0,178	4,75	0,249		
$C_{\text{крахмал}} = 2,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,024	2,0	0,223	3,5	0,372	5,0	0,483
0,75	0,060	2,25	0,252	3,75	0,393	5,25	0,499
1,0	0,093	2,5	0,275	4,0	0,416	5,5	0,514

Продолжение таблицы А.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
1,25	0,130	2,75	0,302	4,25	0,432	5,75	0,530
1,5	0,162	3,0	0,328	4,5	0,449	6,0	0,542
1,75	0,193	3,25	0,349	4,75	0,466		
$C_{\text{крахмал}} = 2,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,001	2,0	0,114	3,5	0,236	5,0	0,346
0,75	0,015	2,25	0,134	3,75	0,255	5,25	0,362
1,0	0,029	2,5	0,155	4,0	0,276	5,5	0,378
1,25	0,051	2,75	0,173	4,25	0,295	5,75	0,396
1,5	0,070	3,0	0,195	4,5	0,312	6,0	0,409
1,75	0,092	3,25	0,217	4,75	0,329		
$C_{\text{крахмал}} = 2,5 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,009	2,0	0,108	3,5	0,211	5,0	0,333
0,75	0,018	2,25	0,125	3,75	0,227	5,25	0,347
1,0	0,034	2,5	0,143	4,0	0,243	5,5	0,358
1,25	0,053	2,75	0,160	4,25	0,258	5,75	0,371
1,5	0,071	3,0	0,178	4,5	0,306	6,0	0,383
1,75	0,090	3,25	0,192	4,75	0,320		
$C_{\text{крахмал}} = 2,5 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,018	2,0	0,114	3,5	0,210	5,0	0,303
0,75	0,032	2,25	0,130	3,75	0,228	5,25	0,316
1,0	0,047	2,5	0,146	4,0	0,243	5,5	0,328
1,25	0,064	2,75	0,162	4,25	0,258	5,75	0,342
1,5	0,080	3,0	0,179	4,5	0,272	6,0	0,355
1,75	0,097	3,25	0,194	4,75	0,292		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,017	2,0	0,157	3,5	0,296	5,0	0,409
0,75	0,041	2,25	0,182	3,75	0,317	5,25	0,427
1,0	0,059	2,5	0,206	4,0	0,336	5,5	0,441
1,25	0,086	2,75	0,230	4,25	0,353	5,75	0,456
1,5	0,105	3,0	0,251	4,5	0,376	6,0	0,472
1,75	0,134	3,25	0,272	4,75	0,390		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,003	2,0	0,134	3,5	0,270	5,0	0,388
0,75	0,017	2,25	0,158	3,75	0,294	5,25	0,409
1,0	0,040	2,5	0,181	4,0	0,317	5,5	0,426
1,25	0,064	2,75	0,206	4,25	0,333	5,75	0,441
1,5	0,089	3,0	0,228	4,5	0,351	6,0	0,457
1,75	0,112	3,25	0,250	4,75	0,370		
$C_{\text{крахмал}} = 4,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,001	2,0	0,122	3,5	0,244	5,0	0,349
0,75	0,015	2,25	0,143	3,75	0,264	5,25	0,367
1,0	0,031	2,5	0,166	4,0	0,283	5,5	0,382
1,25	0,055	2,75	0,185	4,25	0,302	5,75	0,399
1,5	0,075	3,0	0,205	4,5	0,319	6,0	0,415

Продолжение таблицы А.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
1,75	0,101	3,25	0,226	4,75	0,335		
$C_{\text{крахмал}} = 4,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,000	2,0	0,080	3,5	0,182	5,0	0,277
0,75	0,004	2,25	0,099	3,75	0,199	5,25	0,293
1,0	0,009	2,5	0,117	4,0	0,215	5,5	0,308
1,25	0,026	2,75	0,133	4,25	0,230	5,75	0,326
1,5	0,046	3,0	0,151	4,5	0,246	6,0	0,335
1,75	0,062	3,25	0,167	4,75	0,260		
$C_{\text{крахмал}} = 5,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,004	2,0	0,125	3,5	0,252	5,0	0,366
0,75	0,012	2,25	0,148	3,75	0,272	5,25	0,384
1,0	0,032	2,5	0,171	4,0	0,293	5,5	0,400
1,25	0,057	2,75	0,190	4,25	0,312	5,75	0,418
1,5	0,080	3,0	0,213	4,5	0,329	6,0	0,432
1,75	0,102	3,25	0,235	4,75	0,347		
$C_{\text{крахмал}} = 5,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,001	2,0	0,103	3,5	0,218	5,0	0,325
0,75	0,004	2,25	0,125	3,75	0,237	5,25	0,339
1,0	0,018	2,5	0,140	4,0	0,256	5,5	0,356
1,25	0,040	2,75	0,161	4,25	0,272	5,75	0,374
1,5	0,060	3,0	0,180	4,5	0,292	6,0	0,390
1,75	0,080	3,25	0,200	4,75	0,309		
$C_{\text{крахмал}} = 6,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,002	2,0	0,131	3,5	0,266	5,0	0,379
0,75	0,014	2,25	0,156	3,75	0,288	5,25	0,398
1,0	0,027	2,5	0,178	4,0	0,310	5,5	0,412
1,25	0,056	2,75	0,201	4,25	0,330	5,75	0,429
1,5	0,080	3,0	0,223	4,5	0,345	6,0	0,442
1,75	0,107	3,25	0,249	4,75	0,364		
$C_{\text{крахмал}} = 6,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,000	2,0	0,126	3,5	0,264	5,0	0,390
0,75	0,013	2,25	0,150	3,75	0,284	5,25	0,412
1,0	0,026	2,5	0,177	4,0	0,310	5,5	0,432
1,25	0,052	2,75	0,196	4,25	0,330	5,75	0,446
1,5	0,077	3,0	0,220	4,5	0,351	6,0	0,469
1,75	0,102	3,25	0,243	4,75	0,370		
$C_{\text{крахмал}} = 7,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,019	2,0	0,130	3,5	0,251	5,0	0,357
0,75	0,022	2,25	0,150	3,75	0,268	5,25	0,373
1,0	0,041	2,5	0,173	4,0	0,288	5,5	0,388
1,25	0,066	2,75	0,192	4,25	0,308	5,75	0,406
1,5	0,087	3,0	0,213	4,5	0,326	6,0	0,419
1,75	0,108	3,25	0,234	4,75	0,339		

Продолжение таблицы А.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{крахмал}} = 7,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,017	2,0	0,107	3,5	0,225	5,0	0,336
0,75	0,018	2,25	0,127	3,75	0,244	5,25	0,355
1,0	0,026	2,5	0,148	4,0	0,260	5,5	0,368
1,25	0,044	2,75	0,167	4,25	0,282	5,75	0,386
1,5	0,066	3,0	0,187	4,5	0,301	6,0	0,399
1,75	0,086	3,25	0,208	4,75	0,319		
$C_{\text{крахмал}} = 8,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,017	2,0	0,120	3,5	0,245	5,0	0,358
0,75	0,018	2,25	0,143	3,75	0,266	5,25	0,377
1,0	0,029	2,5	0,167	4,0	0,288	5,5	0,390
1,25	0,051	2,75	0,186	4,25	0,309	5,75	0,408
1,5	0,076	3,0	0,207	4,5	0,325	6,0	0,421
1,75	0,099	3,25	0,229	4,75	0,339		
$C_{\text{крахмал}} = 8,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,017	2,0	0,097	3,5	0,218	5,0	0,327
0,75	0,018	2,25	0,119	3,75	0,237	5,25	0,343
1,0	0,022	2,5	0,137	4,0	0,253	5,5	0,359
1,25	0,032	2,75	0,157	4,25	0,275	5,75	0,377
1,5	0,056	3,0	0,179	4,5	0,292	6,0	0,394
1,75	0,074	3,25	0,201	4,75	0,310		
$C_{\text{крахмал}} = 9,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,016	2,0	0,114	3,5	0,244	5,0	0,363
0,75	0,017	2,25	0,137	3,75	0,264	5,25	0,381
1,0	0,025	2,5	0,161	4,0	0,284	5,5	0,397
1,25	0,046	2,75	0,180	4,25	0,307	5,75	0,410
1,5	0,070	3,0	0,201	4,5	0,325	6,0	0,427
1,75	0,092	3,25	0,223	4,75	0,346		
$C_{\text{крахмал}} = 9,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,016	2,0	0,097	3,5	0,221	5,0	0,336
0,75	0,017	2,25	0,119	3,75	0,240	5,25	0,355
1,0	0,018	2,5	0,137	4,0	0,260	5,5	0,375
1,25	0,035	2,75	0,161	4,25	0,282	5,75	0,387
1,5	0,053	3,0	0,180	4,5	0,301	6,0	0,406
1,75	0,075	3,25	0,201	4,75	0,319		
$C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,003	2,0	0,056	3,5	0,147	5,0	0,235
0,75	0,009	2,25	0,071	3,75	0,162	5,25	0,249
1,0	0,011	2,5	0,086	4,0	0,175	5,5	0,261
1,25	0,017	2,75	0,101	4,25	0,188	5,75	0,277
1,5	0,026	3,0	0,116	4,5	0,205	6,0	0,292
1,75	0,042	3,25	0,131	4,75	0,220		

Окончание таблицы А.1

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{крахмал}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH = 5,00							
0,5	0,001	2,0	0,041	3,5	0,124	5,0	0,208
0,75	0,008	2,25	0,055	3,75	0,135	5,25	0,221
1,0	0,013	2,5	0,069	4,0	0,151	5,5	0,234
1,25	0,018	2,75	0,081	4,25	0,167	5,75	0,248
1,5	0,020	3,0	0,097	4,5	0,178	6,0	0,261
1,75	0,029	3,25	0,109	4,75	0,192		

Таблица А.2 – Зависимости оптической плотности от времени при различных значениях pH

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH _{начальный} = 2,69, pH _{конечный} = 2,95							
0,5	0,523	1,75	0,959	3,0	1,119	4,25	1,260
0,75	0,662	2,0	1,004	3,25	1,149	4,5	1,276
1,0	0,767	2,25	1,041	3,5	1,180	4,75	1,293
1,25	0,848	2,5	1,066	3,75	1,208	5,0	1,301
1,5	0,910	2,75	1,097	4,0	1,237		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH _{начальный} = 2,69, pH _{конечный} = 2,93							
0,5	0,553	1,75	0,955	3,0	1,102	4,25	1,194
0,75	0,678	2,0	1,000	3,25	1,125	4,5	1,208
1,0	0,770	2,25	1,027	3,5	1,149	4,75	1,222
1,25	0,839	2,5	1,056	3,75	1,161	5,0	1,229
1,5	0,903	2,75	1,092	4,0	1,180		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH _{начальный} = 3,01, pH _{конечный} = 3,07							
0,5	0,019	1,75	0,087	3,0	0,175	4,25	0,262
0,75	0,036	2,0	0,106	3,25	0,194	4,5	0,281
1,0	0,053	2,25	0,124	3,5	0,210	4,75	0,298
1,25	0,070	2,5	0,140	3,75	0,228	5,0	0,314
1,5	0,019	2,75	0,158	4,0	0,244		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, pH _{начальный} = 3,01, pH _{конечный} = 3,07							
0,5	0,010	1,75	0,079	3,0	0,167	4,25	0,256
0,75	0,027	2,0	0,097	3,25	0,185	4,5	0,272
1,0	0,045	2,25	0,114	3,5	0,195	4,75	0,292
1,25	0,060	2,5	0,130	3,75	0,221	5,0	0,307
1,5	0,010	2,75	0,149	4,0	0,237		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, pH _{начальный} = 3,27, pH _{конечный} = 3,40							
0,5	0,033	1,75	0,200	3,0	0,375	4,25	0,541
0,75	0,063	2,0	0,237	3,25	0,410	4,5	0,570
1,0	0,096	2,25	0,268	3,5	0,444	4,75	0,602
1,25	0,130	2,5	0,308	3,75	0,476	5,0	0,629
1,5	0,166	2,75	0,338	4,0	0,510		

Продолжение таблицы А.2

t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 3,27$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 3,40$							
0,5	0,024	1,75	0,179	3,0	0,342	4,25	0,504
0,75	0,053	2,0	0,211	3,25	0,375	4,5	0,536
1,0	0,085	2,25	0,244	3,5	0,409	4,75	0,565
1,25	0,115	2,5	0,277	3,75	0,440	5,0	0,593
1,5	0,147	2,75	0,310	4,0	0,470		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 3,50$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 3,51$							
0,5	0,026	1,75	0,149	3,0	0,292	4,25	0,420
0,75	0,036	2,0	0,179	3,25	0,327	4,5	0,440
1,0	0,060	2,25	0,206	3,5	0,347	4,75	0,457
1,25	0,090	2,5	0,236	3,75	0,369	5,0	0,480
1,5	0,119	2,75	0,260	4,0	0,398		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 3,50$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 3,52$							
0,5	0,019	1,75	0,135	3,0	0,270	4,25	0,397
0,75	0,029	2,0	0,161	3,25	0,301	4,5	0,418
1,0	0,056	2,25	0,187	3,5	0,328	4,75	0,438
1,25	0,081	2,5	0,215	3,75	0,348	5,0	0,458
1,5	0,108	2,75	0,242	4,0	0,369		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 3,95$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 3,97$							
0,5	0,011	1,75	0,087	3,0	0,175	4,25	0,262
0,75	0,019	2,0	0,106	3,25	0,194	4,5	0,281
1,0	0,036	2,25	0,124	3,5	0,210	4,75	0,298
1,25	0,053	2,5	0,140	3,75	0,228	5,0	0,314
1,5	0,070	2,75	0,158	4,0	0,244		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 3,95$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 3,96$							
0,5	0,004	1,75	0,079	3,0	0,167	4,25	0,256
0,75	0,010	2,0	0,097	3,25	0,185	4,5	0,272
1,0	0,027	2,25	0,114	3,5	0,195	4,75	0,292
1,25	0,045	2,5	0,130	3,75	0,221	5,0	0,307
1,5	0,060	2,75	0,149	4,0	0,237		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 4,67$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 4,65$							
0,5	0,017	1,75	0,087	3,0	0,180	4,25	0,268
0,75	0,023	2,0	0,112	3,25	0,200	4,5	0,292
1,0	0,032	2,25	0,124	3,5	0,218	4,75	0,310
1,25	0,052	2,5	0,146	3,75	0,237	5,0	0,327
1,5	0,070	2,75	0,163	4,0	0,253		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 4,67$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 4,65$							
0,5	0,010	1,75	0,081	3,0	0,169	4,25	0,253
0,75	0,020	2,0	0,099	3,25	0,187	4,5	0,274
1,0	0,029	2,25	0,117	3,5	0,204	4,75	0,289
1,25	0,049	2,5	0,134	3,75	0,221	5,0	0,305
1,5	0,065	2,75	0,151	4,0	0,237		

Продолжение таблицы А.2

t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 5,05$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,00$							
0,5	0,020	1,75	0,114	3,0	0,214	4,25	0,310
0,75	0,038	2,0	0,134	3,25	0,234	4,5	0,327
1,0	0,055	2,25	0,155	3,5	0,252	4,75	0,345
1,25	0,075	2,5	0,173	3,75	0,270	5,0	0,363
1,5	0,094	2,75	0,192	4,0	0,290		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 5,05$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,01$							
0,5	0,013	1,75	0,107	3,0	0,203	4,25	0,299
0,75	0,029	2,0	0,125	3,25	0,222	4,5	0,319
1,0	0,049	2,25	0,145	3,5	0,240	4,75	0,336
1,25	0,066	2,5	0,166	3,75	0,260	5,0	0,350
1,5	0,089	2,75	0,186	4,0	0,280		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 5,50$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,49$							
0,5	0,010	1,75	0,097	3,0	0,183	4,25	0,267
0,75	0,026	2,0	0,115	3,25	0,201	4,5	0,283
1,0	0,044	2,25	0,132	3,5	0,217	4,75	0,300
1,25	0,061	2,5	0,149	3,75	0,235	5,0	0,318
1,5	0,080	2,75	0,167	4,0	0,251		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 5,50$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,49$							
0,5	0,010	1,75	0,094	3,0	0,179	4,25	0,259
0,75	0,026	2,0	0,112	3,25	0,194	4,5	0,276
1,0	0,041	2,25	0,127	3,5	0,213	4,75	0,291
1,25	0,059	2,5	0,145	3,75	0,228	5,0	0,305
1,5	0,076	2,75	0,162	4,0	0,244		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 5,83$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,79$							
0,5	0,009	1,75	0,115	3,0	0,221	4,25	0,319
0,75	0,029	2,0	0,137	3,25	0,243	4,5	0,337
1,0	0,051	2,25	0,158	3,5	0,260	4,75	0,356
1,25	0,073	2,5	0,180	3,75	0,281	5,0	0,375
1,5	0,096	2,75	0,200	4,0	0,301		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 5,83$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,79$							
0,5	0,004	1,75	0,088	3,0	0,178	4,25	0,264
0,75	0,019	2,0	0,105	3,25	0,194	4,5	0,283
1,0	0,039	2,25	0,124	3,5	0,213	4,75	0,301
1,25	0,055	2,5	0,142	3,75	0,229	5,0	0,316
1,5	0,071	2,75	0,161	4,0	0,248		
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 6,00$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,87$							
0,5	0,020	1,75	0,133	3,0	0,248	4,25	0,340
0,75	0,036	2,0	0,158	3,25	0,268	4,5	0,357
1,0	0,060	2,25	0,180	3,5	0,288	4,75	0,374
1,25	0,086	2,5	0,201	3,75	0,309	5,0	0,389
1,5	0,109	2,75	0,222	4,0	0,323		

Окончание таблицы А.2

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0$ мкг/мл, $\text{pH}_{\text{начальный}} = 6,00$, $\text{pH}_{\text{конечный}} = 5,87$							
0,5	0,016	1,75	0,114	3,0	0,208	4,25	0,300
0,75	0,034	2,0	0,132	3,25	0,229	4,5	0,314
1,0	0,054	2,25	0,152	3,5	0,245	4,75	0,329
1,25	0,072	2,5	0,173	3,75	0,261	5,0	0,346
1,5	0,093	2,75	0,190	4,0	0,281		

Таблица А.3 – Зависимости оптической плотности от времени t при различной концентрации оксалат-иона в фотометрируемом растворе

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0,1$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $\text{pH} = 5,05$							
0,75	0,013	2,0	0,074	3,25	0,140	4,5	0,206
1,0	0,025	2,25	0,087	3,5	0,154	4,75	0,219
1,25	0,034	2,5	0,101	3,75	0,167	5,0	0,231
1,5	0,047	2,75	0,114	4,0	0,180		
1,75	0,060	3,0	0,126	4,25	0,192		
$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 0,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $\text{pH} = 5,05$							
0,75	0,010	2,0	0,079	3,25	0,150	4,5	0,226
1,0	0,023	2,25	0,092	3,5	0,167	4,75	0,240
1,25	0,038	2,5	0,107	3,75	0,180	5,0	0,254
1,5	0,051	2,75	0,120	4,0	0,194		
1,75	0,065	3,0	0,136	4,25	0,211		
$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $\text{pH} = 5,05$							
0,75	0,013	2,0	0,088	3,25	0,161	4,5	0,222
1,0	0,027	2,25	0,102	3,5	0,167	4,75	0,236
1,25	0,042	2,5	0,119	3,75	0,184	5,0	0,251
1,5	0,057	2,75	0,134	4,0	0,200		
1,75	0,072	3,0	0,147	4,25	0,215		
$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 1,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $\text{pH} = 5,05$							
0,75	0,022	2,0	0,107	3,25	0,186	4,5	0,260
1,0	0,040	2,25	0,120	3,5	0,201	4,75	0,276
1,25	0,056	2,5	0,137	3,75	0,215	5,0	0,292
1,5	0,071	2,75	0,155	4,0	0,230		
1,75	0,089	3,0	0,170	4,25	0,245		
$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $\text{pH} = 5,05$							
0,75	0,039	2,0	0,143	3,25	0,234	4,5	0,319
1,0	0,065	2,25	0,161	3,5	0,252	4,75	0,337
1,25	0,084	2,5	0,180	3,75	0,268	5,0	0,352
1,5	0,103	2,75	0,200	4,0	0,285		
1,75	0,124	3,0	0,215	4,25	0,301		
$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = 2,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $\text{pH} = 5,05$							
0,75	0,031	2,0	0,141	3,25	0,246	4,5	0,337
1,0	0,055	2,25	0,165	3,5	0,264	4,75	0,361

Окончание таблицы А.3

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
1,25	0,076	2,5	0,182	3,75	0,287	5,0	0,387
1,5	0,099	2,75	0,205	4,0	0,302		
1,75	0,121	3,0	0,227	4,25	0,321		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 5,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,068	2,0	0,221	3,25	0,345	4,5	0,453
1,0	0,102	2,25	0,245	3,5	0,367	4,75	0,470
1,25	0,134	2,5	0,275	3,75	0,390	5,0	0,488
1,5	0,164	2,75	0,300	4,0	0,411		
1,75	0,193	3,0	0,323	4,25	0,432		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 7,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,087	2,0	0,260	3,25	0,415	4,5	0,538
1,0	0,125	2,25	0,294	3,5	0,442	4,75	0,559
1,25	0,161	2,5	0,327	3,75	0,467	5,0	0,580
1,5	0,194	2,75	0,356	4,0	0,495		
1,75	0,229	3,0	0,385	4,25	0,517		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 10,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,116	2,0	0,328	3,25	0,495	4,5	0,616
1,0	0,162	2,25	0,366	3,5	0,523	4,75	0,636
1,25	0,207	2,5	0,401	3,75	0,551	5,0	0,658
1,5	0,249	2,75	0,433	4,0	0,570		
1,75	0,292	3,0	0,465	4,25	0,595		

Таблица А.4 – Зависимости оптической плотности от времени для параллельных измерений в условиях повторяемости

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0,1$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,013	2,0	0,074	3,25	0,140	4,5	0,206
1,0	0,025	2,25	0,087	3,5	0,154	4,75	0,219
1,25	0,034	2,5	0,101	3,75	0,167	5,0	0,231
1,5	0,047	2,75	0,114	4,0	0,180		
1,75	0,060	3,0	0,126	4,25	0,192		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0,1$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,020	2,0	0,089	3,25	0,160	4,5	0,231
1,0	0,033	2,25	0,105	3,5	0,174	4,75	0,244
1,25	0,046	2,5	0,117	3,75	0,188	5,0	0,259
1,5	0,060	2,75	0,130	4,0	0,202		
1,75	0,075	3,0	0,144	4,25	0,216		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0,1$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-3}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,018	2,0	0,089	3,25	0,164	4,5	0,240
1,0	0,031	2,25	0,106	3,5	0,179	4,75	0,256
1,25	0,046	2,5	0,117	3,75	0,197	5,0	0,271
1,5	0,060	2,75	0,135	4,0	0,212		
1,75	0,075	3,0	0,151	4,25	0,227		

Продолжение таблицы А.4

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0,1$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,015	2,0	0,088	3,25	0,157	4,5	0,229
1,0	0,029	2,25	0,102	3,5	0,171	4,75	0,243
1,25	0,045	2,5	0,114	3,75	0,186	5,0	0,256
1,5	0,059	2,75	0,130	4,0	0,199		
1,75	0,074	3,0	0,147	4,25	0,213		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 0,1$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,015	2,0	0,076	3,25	0,143	4,5	0,208
1,0	0,027	2,25	0,089	3,5	0,156	4,75	0,221
1,25	0,036	2,5	0,103	3,75	0,170	5,0	0,234
1,5	0,049	2,75	0,115	4,0	0,182		
1,75	0,062	3,0	0,128	4,25	0,194		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,013	2,0	0,088	3,25	0,161	4,5	0,222
1,0	0,027	2,25	0,102	3,5	0,167	4,75	0,236
1,25	0,042	2,5	0,119	3,75	0,184	5,0	0,251
1,5	0,057	2,75	0,134	4,0	0,200		
1,75	0,072	3,0	0,147	4,25	0,215		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,023	2,0	0,092	3,25	0,155	4,5	0,215
1,0	0,040	2,25	0,105	3,5	0,166	4,75	0,229
1,25	0,054	2,5	0,119	3,75	0,181	5,0	0,242
1,5	0,066	2,75	0,131	4,0	0,193		
1,75	0,079	3,0	0,143	4,25	0,206		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,025	2,0	0,090	3,25	0,154	4,5	0,215
1,0	0,039	2,25	0,103	3,5	0,165	4,75	0,230
1,25	0,053	2,5	0,118	3,75	0,180	5,0	0,244
1,5	0,066	2,75	0,131	4,0	0,192		
1,75	0,078	3,0	0,145	4,25	0,206		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,012	2,0	0,086	3,25	0,161	4,5	0,223
1,0	0,026	2,25	0,103	3,5	0,171	4,75	0,236
1,25	0,041	2,5	0,120	3,75	0,184	5,0	0,249
1,5	0,060	2,75	0,133	4,0	0,196		
1,75	0,069	3,0	0,148	4,25	0,210		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,026	2,0	0,089	3,25	0,154	4,5	0,219
1,0	0,039	2,25	0,105	3,5	0,167	4,75	0,232
1,25	0,053	2,5	0,119	3,75	0,182	5,0	0,246
1,5	0,066	2,75	0,130	4,0	0,195		
1,75	0,076	3,0	0,149	4,25	0,211		

Продолжение таблицы А.4

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,039	2,0	0,143	3,25	0,234	4,5	0,319
1,0	0,065	2,25	0,161	3,5	0,252	4,75	0,337
1,25	0,084	2,5	0,180	3,75	0,268	5,0	0,352
1,5	0,103	2,75	0,200	4,0	0,285		
1,75	0,124	3,0	0,215	4,25	0,301		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,041	2,0	0,155	3,25	0,258	4,5	0,352
1,0	0,063	2,25	0,175	3,5	0,278	4,75	0,367
1,25	0,089	2,5	0,199	3,75	0,300	5,0	0,382
1,5	0,112	2,75	0,218	4,0	0,317		
1,75	0,131	3,0	0,240	4,25	0,333		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,043	2,0	0,160	3,25	0,264	4,5	0,357
1,0	0,065	2,25	0,180	3,5	0,284	4,75	0,376
1,25	0,091	2,5	0,202	3,75	0,305	5,0	0,396
1,5	0,114	2,75	0,224	4,0	0,322		
1,75	0,136	3,0	0,244	4,25	0,342		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,041	2,0	0,143	3,25	0,244	4,5	0,337
1,0	0,060	2,25	0,164	3,5	0,264	4,75	0,356
1,25	0,080	2,5	0,183	3,75	0,284	5,0	0,376
1,5	0,103	2,75	0,206	4,0	0,306		
1,75	0,124	3,0	0,225	4,25	0,323		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,046	2,0	0,158	3,25	0,260	4,5	0,357
1,0	0,063	2,25	0,180	3,5	0,283	4,75	0,376
1,25	0,086	2,5	0,197	3,75	0,303	5,0	0,396
1,5	0,108	2,75	0,220	4,0	0,322		
1,75	0,131	3,0	0,240	4,25	0,337		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,031	2,0	0,141	3,25	0,246	4,5	0,337
1,0	0,055	2,25	0,165	3,5	0,264	4,75	0,361
1,25	0,076	2,5	0,182	3,75	0,287	5,0	0,387
1,5	0,099	2,75	0,205	4,0	0,302		
1,75	0,121	3,0	0,227	4,25	0,321		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,036	2,0	0,149	3,25	0,256	4,5	0,355
1,0	0,058	2,25	0,173	3,5	0,276	4,75	0,373
1,25	0,081	2,5	0,193	3,75	0,297	5,0	0,388
1,5	0,105	2,75	0,215	4,0	0,317		
1,75	0,127	3,0	0,237	4,25	0,336		

Продолжение таблицы А.4

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,040	2,0	0,156	3,25	0,265	4,5	0,367
1,0	0,061	2,25	0,179	3,5	0,291	4,75	0,387
1,25	0,085	2,5	0,199	3,75	0,310	5,0	0,403
1,5	0,108	2,75	0,223	4,0	0,329		
1,75	0,131	3,0	0,244	4,25	0,348		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,036	2,0	0,151	3,25	0,259	4,5	0,359
1,0	0,060	2,25	0,174	3,5	0,282	4,75	0,377
1,25	0,084	2,5	0,194	3,75	0,303	5,0	0,397
1,5	0,107	2,75	0,217	4,0	0,321		
1,75	0,130	3,0	0,238	4,25	0,339		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 2,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,039	2,0	0,155	3,25	0,274	4,5	0,374
1,0	0,062	2,25	0,177	3,5	0,296	4,75	0,398
1,25	0,086	2,5	0,200	3,75	0,318	5,0	0,412
1,5	0,109	2,75	0,225	4,0	0,335		
1,75	0,130	3,0	0,247	4,25	0,356		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 5,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,068	2,0	0,221	3,25	0,345	4,5	0,453
1,0	0,102	2,25	0,245	3,5	0,367	4,75	0,470
1,25	0,134	2,5	0,275	3,75	0,390	5,0	0,488
1,5	0,164	2,75	0,300	4,0	0,411		
1,75	0,193	3,0	0,323	4,25	0,432		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 5,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,073	2,0	0,225	3,25	0,357	4,5	0,469
1,0	0,106	2,25	0,252	3,5	0,380	4,75	0,484
1,25	0,136	2,5	0,282	3,75	0,406	5,0	0,507
1,5	0,167	2,75	0,309	4,0	0,427		
1,75	0,196	3,0	0,333	4,25	0,446		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 5,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,074	2,0	0,228	3,25	0,356	4,5	0,466
1,0	0,107	2,25	0,253	3,5	0,378	4,75	0,481
1,25	0,137	2,5	0,283	3,75	0,403	5,0	0,504
1,5	0,169	2,75	0,310	4,0	0,423		
1,75	0,199	3,0	0,333	4,25	0,444		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 5,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,071	2,0	0,227	3,25	0,366	4,5	0,480
1,0	0,103	2,25	0,256	3,5	0,391	4,75	0,504
1,25	0,136	2,5	0,283	3,75	0,415	5,0	0,523
1,5	0,167	2,75	0,312	4,0	0,437		
1,75	0,197	3,0	0,336	4,25	0,456		

Продолжение таблицы А.4

t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А
$C_{C_2O_4^{2-}} = 5,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,072	2,0	0,225	3,25	0,358	4,5	0,470
1,0	0,103	2,25	0,253	3,5	0,384	4,75	0,492
1,25	0,134	2,5	0,282	3,75	0,409	5,0	0,510
1,5	0,167	2,75	0,310	4,0	0,432		
1,75	0,194	3,0	0,335	4,25	0,451		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 7,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,087	2,0	0,260	3,25	0,415	4,5	0,538
1,0	0,125	2,25	0,294	3,5	0,442	4,75	0,559
1,25	0,161	2,5	0,327	3,75	0,467	5,0	0,580
1,5	0,194	2,75	0,356	4,0	0,495		
1,75	0,229	3,0	0,385	4,25	0,517		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 7,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,086	2,0	0,268	3,25	0,427	4,5	0,554
1,0	0,125	2,25	0,304	3,5	0,455	4,75	0,575
1,25	0,165	2,5	0,335	3,75	0,481	5,0	0,593
1,5	0,201	2,75	0,366	4,0	0,509		
1,75	0,235	3,0	0,398	4,25	0,533		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 7,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,091	2,0	0,277	3,25	0,433	4,5	0,561
1,0	0,128	2,25	0,312	3,5	0,462	4,75	0,580
1,25	0,167	2,5	0,345	3,75	0,493	5,0	0,602
1,5	0,206	2,75	0,376	4,0	0,517		
1,75	0,243	3,0	0,409	4,25	0,539		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 7,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,092	2,0	0,277	3,25	0,437	4,5	0,562
1,0	0,134	2,25	0,310	3,5	0,463	4,75	0,582
1,25	0,167	2,5	0,345	3,75	0,491	5,0	0,599
1,5	0,206	2,75	0,376	4,0	0,516		
1,75	0,243	3,0	0,409	4,25	0,538		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 7,5$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,092	2,0	0,282	3,25	0,442	4,5	0,562
1,0	0,132	2,25	0,317	3,5	0,469	4,75	0,577
1,25	0,173	2,5	0,347	3,75	0,496	5,0	0,597
1,5	0,208	2,75	0,380	4,0	0,521		
1,75	0,245	3,0	0,410	4,25	0,545		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 10,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,116	2,0	0,328	3,25	0,495	4,5	0,616
1,0	0,162	2,25	0,366	3,5	0,523	4,75	0,636
1,25	0,207	2,5	0,401	3,75	0,551	5,0	0,658
1,5	0,249	2,75	0,433	4,0	0,570		
1,75	0,292	3,0	0,465	4,25	0,595		

Окончание таблицы А.4

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = 10,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,118	2,0	0,339	3,25	0,516	4,5	0,638
1,0	0,164	2,25	0,379	3,5	0,545	4,75	0,658
1,25	0,214	2,5	0,419	3,75	0,570	5,0	0,678
1,5	0,256	2,75	0,453	4,0	0,599		
1,75	0,301	3,0	0,483	4,25	0,620		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 10,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,115	2,0	0,331	3,25	0,504	4,5	0,625
1,0	0,162	2,25	0,370	3,5	0,536	4,75	0,648
1,25	0,208	2,5	0,409	3,75	0,561	5,0	0,662
1,5	0,252	2,75	0,440	4,0	0,583		
1,75	0,292	3,0	0,471	4,25	0,604		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 10,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,114	2,0	0,329	3,25	0,504	4,5	0,631
1,0	0,162	2,25	0,368	3,5	0,536	4,75	0,654
1,25	0,208	2,5	0,407	3,75	0,562	5,0	0,674
1,5	0,247	2,75	0,438	4,0	0,585		
1,75	0,291	3,0	0,470	4,25	0,609		
$C_{C_2O_4^{2-}} = 10,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,118	2,0	0,335	3,25	0,509	4,5	0,635
1,0	0,165	2,25	0,376	3,5	0,539	4,75	0,654
1,25	0,210	2,5	0,410	3,75	0,565	5,0	0,672
1,5	0,253	2,75	0,442	4,0	0,587		
1,75	0,297	3,0	0,478	4,25	0,611		

Таблица А.5 – Зависимости оптической плотности от времени для исследуемого раствора вытяжки из пищевого продукта (свеклы), полученные методом добавок

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = X$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,011	2,0	0,084	3,25	0,156	4,5	0,200
1,0	0,025	2,25	0,097	3,5	0,167	4,75	0,201
1,25	0,040	2,5	0,114	3,75	0,180	5,0	0,202
1,5	0,056	2,75	0,127	4,0	0,190		
1,75	0,069	3,0	0,141	4,25	0,199		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,046	2,0	0,132	3,25	0,227	4,5	0,269
1,0	0,065	2,25	0,152	3,5	0,239	4,75	0,273
1,25	0,084	2,5	0,171	3,75	0,250	5,0	0,274
1,5	0,100	2,75	0,188	4,0	0,257		
1,75	0,120	3,0	0,209	4,25	0,265		

Продолжение таблицы А.5

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,048	2,0	0,156	3,25	0,266	4,5	0,330
1,0	0,070	2,25	0,179	3,5	0,289	4,75	0,338
1,25	0,092	2,5	0,199	3,75	0,302	5,0	0,343
1,5	0,117	2,75	0,223	4,0	0,314		
1,75	0,141	3,0	0,246	4,25	0,324		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,012	2,0	0,083	3,25	0,160	4,5	0,201
1,0	0,025	2,25	0,096	3,5	0,167	4,75	0,203
1,25	0,040	2,5	0,111	3,75	0,184	5,0	0,204
1,5	0,055	2,75	0,129	4,0	0,190		
1,75	0,069	3,0	0,142	4,25	0,201		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,045	2,0	0,135	3,25	0,223	4,5	0,267
1,0	0,063	2,25	0,155	3,5	0,236	4,75	0,270
1,25	0,084	2,5	0,174	3,75	0,246	5,0	0,271
1,5	0,105	2,75	0,188	4,0	0,255		
1,75	0,120	3,0	0,205	4,25	0,263		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,046	2,0	0,154	3,25	0,267	4,5	0,331
1,0	0,071	2,25	0,177	3,5	0,287	4,75	0,331
1,25	0,091	2,5	0,200	3,75	0,301	5,0	0,333
1,5	0,116	2,75	0,221	4,0	0,316		
1,75	0,139	3,0	0,247	4,25	0,325		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,010	2,0	0,082	3,25	0,156	4,5	0,202
1,0	0,024	2,25	0,093	3,5	0,167	4,75	0,205
1,25	0,039	2,5	0,110	3,75	0,181	5,0	0,205
1,5	0,052	2,75	0,127	4,0	0,190		
1,75	0,069	3,0	0,140	4,25	0,198		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,046	2,0	0,135	3,25	0,223	4,5	0,267
1,0	0,061	2,25	0,154	3,5	0,236	4,75	0,270
1,25	0,084	2,5	0,172	3,75	0,246	5,0	0,271
1,5	0,104	2,75	0,187	4,0	0,255		
1,75	0,121	3,0	0,205	4,25	0,263		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,049	2,0	0,157	3,25	0,267	4,5	0,335
1,0	0,073	2,25	0,179	3,5	0,289	4,75	0,336
1,25	0,092	2,5	0,202	3,75	0,305	5,0	0,336
1,5	0,117	2,75	0,222	4,0	0,317		
1,75	0,142	3,0	0,247	4,25	0,328		

Окончание таблицы А.5

t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A	t, мин	A
$C_{C_2O_4^{2-}} = X$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,011	2,0	0,083	3,25	0,156	4,5	0,205
1,0	0,026	2,25	0,097	3,5	0,166	4,75	0,208
1,25	0,041	2,5	0,110	3,75	0,177	5,0	0,210
1,5	0,055	2,75	0,127	4,0	0,188		
1,75	0,068	3,0	0,143	4,25	0,201		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 1,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,047	2,0	0,135	3,25	0,225	4,5	0,268
1,0	0,062	2,25	0,156	3,5	0,234	4,75	0,271
1,25	0,083	2,5	0,172	3,75	0,244	5,0	0,272
1,5	0,104	2,75	0,189	4,0	0,257		
1,75	0,122	3,0	0,203	4,25	0,265		
$C_{C_2O_4^{2-}} = X + 2,0$ мкг/мл, $C_{\text{крахмал}} = 3,0 \cdot 10^{-4}$ г/мл, pH = 5,05							
0,75	0,048	2,0	0,157	3,25	0,265	4,5	0,334
1,0	0,074	2,25	0,182	3,5	0,290	4,75	0,337
1,25	0,091	2,5	0,206	3,75	0,307	5,0	0,339
1,5	0,117	2,75	0,220	4,0	0,315		
1,75	0,144	3,0	0,246	4,25	0,326		