

Oznaczanie żelaza i miedzi metodą miareczkowania spektrofotometrycznego

Oznaczanie dwóch kationów obok siebie metodą miareczkowania spektrofotometrycznego (bez maskowania) jest możliwe, gdy spełnione są warunki:

- wartości stałych trwałości obu kompleksów są dostatecznie duże i różnią się wystarczająco,
- widma absorpcji kompleksów są takie, że można wybrać długość fali, przy której absorbuje tylko jeden kompleks.

Kompleksy Fe(III) i Cu(II) z EDTA spełniają te warunki, gdyż dla Fe $\log \beta = 25,1$, a dla Cu $\log \beta = 18,3$. Kompleks Cu z EDTA ma maksimum absorpcji przy $\lambda = 745 \text{ nm}$, kompleks Fe z EDTA nie absorbuje przy tej długości fali.

Odczynniki:

- roztwór EDTA 0,1 M
- bufor pH 2.

Sposób wykonania:

Do roztworu badanego (kolba 100 ml) dodać 10 ml buforu pH 2 i rozcieńczyć wodą do kreski.

Do kolbek miarowych o pojemności 50 ml odpipetować po 5 ml roztworu badanego, dodać po 10 ml buforu pH 2 i ok. 20 ml wody, odmierzyć z biurety roztwór EDTA, a następnie uzupełnić wodą do kreski.

Nr kolby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ml EDTA	0	1	1,5	2	3	4	5	6	7	9

Posługując się spektrofotometrem **SPECTROQUANT Pharo 300** zmierzyć absorbancje wszystkich sporządzonych roztworów (wobec wody jako odnośnika) przy długości fali odpowiadającej maksimum absorpcji dla kompleksu Cu z EDTA.

Opracowanie wyników:

- wykreślić krzywą miareczkowania $A = f(\text{ml EDTA})$
- obliczyć zawartość żelaza oraz miedzi w otrzymanym do analizy roztworze.

1 ml 0,1M roztworu EDTA odpowiada 5,58 mg Fe

1 ml 0,1M roztworu EDTA odpowiada 6,35 mg Cu

Oznaczanie domieszki w mieszaninie dwuskładnikowej i oznaczanie składników mieszaniny

Celem ćwiczenia jest identyfikacja składników próbki na podstawie krzywej absorpcji $A = f(\lambda)$ i ilościowe oznaczenie tych składników metodą dwóch długości fali.

Opracowanie wyników:

- 1) porównać widma wzorca i próbki z widmami w tablicach załączonych do ćwiczenia i przeprowadzić identyfikację,
- 2) wyznaczyć stężenie wzorca i domieszki w próbce metodą dwóch długości fal.

Molowe współczynniki absorpcji dla wzorca oraz domieszki przy odpowiednich długościach fal odczytać z katalogu widm załączonego do ćwiczenia.

Badanie składu kompleksu żelaza(II) z 1,10-fenantroliną metodą miareczkowania spektrofotometrycznego

Metoda miareczkowania spektrofotometrycznego pozwala na wyznaczenie liczby ligandów w bardzo trwałych kompleksach.

Odczynniki:

- 1×10^{-3} M roztwór Fe(III) w 0.01 M kwasie siarkowym,
- 1×10^{-3} M roztwór 1,10-fenantroliny,
- bufor octanowy pH 4,5,
- kwas askorbowy.

Sposób wykonania:

Do kolbek o pojemności 25 ml odpipetować po 1ml roztworu Fe(III) oraz odpowiednie objętości roztworu fenantroliny (0; 1,0; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 5,0; 5,5; 6,0 ml) dodać ok. 25 mg kwasu askorbowego (na koniec szpatułki) i 5 ml buforu pH 4,5, uzupełnić wodą do kreski. Po 15 minutach zmierzyć absorbancje w λ_{\max} kompleksu (λ_{\max} wybrać na podstawie załączonego do ćwiczenia widma absorpcji), korzystając ze spektrofotometru **SPECTROQUANT Pharo 300**.

Opracowanie wyników:

- wykreślić krzywą $A = f(c_{\text{fenantr}} / c_{\text{Fe}})$ i wyznaczyć graficznie skład powstającego kompleksu chelatowego.

Oznaczanie śladowych ilości żelaza w próbce

Przygotowanie krzywej wzorcowej Fe(II)-fenantrolina

1,10-fenantrolina tworzy z żelazem(II) pomarańczowy kompleks w zakresie pH od 2 do 9. Za pomocą fenantroliny można oznaczać żelazo(II) lub całkowitą ilość żelaza w roztworze (po redukcji Fe(III) do Fe(II)).

Odczynniki:

- 1,10-fenantrolina, roztwór 1 %,
- Fe(III), roztwór wzorcowy roboczy 50 $\mu\text{g/ml}$ w 0,01 M kwasie siarkowym, sporządzony z siarczanu(VI) amonu i żelaza(III),
- cytrynian sodu, roztwór 10 %.
- kwas askorbowy.

Sposób wykonania:

Do kolbek miarowych o poj. 25 ml wprowadzić następujące ilości roztworu wzorcowego żelaza(III) o $c = 50 \mu\text{g/ml}$: 0; 0,5; 1,0; 1,5; i 2,0 ml. Dodać szczyptę kwasu askorbowego oraz 5 ml 10% roztworu cytrynianu sodu (pH 3-4), i w razie potrzeby dodać jeszcze 5 ml roztworu cytrynianu sodu. Następnie do kolbki wprowadzić 1 ml roztworu 1,10-fenantroliny, dopełnić roztwór wodą do kreski i wymieszać. Po 10 minutach zmierzyć absorbancję roztworu przy długości fali 512 nm, stosując jako odnośnik wodę.

Sporządzić krzywą wzorcową $A_{512 \text{ nm}} = f(c\text{Fe}_{\mu\text{g/ml}})$.

Z kolbki o poj. 50 ml (opatrzonej napisem: **próbka badana – jony żelaza**) pobrać odpowiednią objętość próbki (próbka zawiera nie więcej niż 1 mg żelaza) do kolbki o poj. 25 ml i postępować dalej tak jak przy sporządzaniu krzywej wzorcowej.

Spektrofotometr **SPECTROQUANT Pharo 300**

Opracowanie wyników:

- wykreślić krzywą wzorcową,
- obliczyć molowy współczynnik absorpcji oraz absorpcję właściwą,
- obliczyć zawartość żelaza w próbce badanej (wynik podać w μg).

Oznaczanie kwasu octowego za pomocą czerwieni fenolowej

Czasami jest tak, że substancja oznaczana ma widmo absorpcji, którego nie można wykorzystać do przeprowadzenia analizy ilościowej. W takich przypadkach można zastosować pośredni sposób oznaczania, dodając do badanego roztworu odpowiednią ilość takiej substancji barwnej, która reagowałaby ilościowo z substancją oznaczaną. Zmiana absorbancji wskaźnika przy określonej długości fali (najczęściej λ_{\max}), zaistniała w wyniku reakcji z substancją oznaczaną, pozwala przeprowadzić analizę ilościową.

W procesach fermentacji glukozy wywołanych przez bakterie, jednym z produktów jest kwas octowy. Powstaje on najczęściej przy zbyt małym dopływie tlenu i dużym stężeniu reagentów. Jeśli proces fermentacyjny ma na celu otrzymanie etanolu, to nawet małe ilości kwasu octowego stanowią niepożądane zanieczyszczenie. Stężenie kwasu octowego można kontrolować (sterować procesem fermentacji), wywołując reakcję między kwasem a czerwienią fenolową w określonym środowisku. Zmiany absorbancji roztworu czerwieni fenolowej są w pewnym zakresie liniowo zależne od stężenia kwasu octowego, co pozwala sporządzić krzywą wzorcową.

Odczynniki: - czerwień fenolowa, roztwór wodny

- bufory o pH 7,5; 7,0; 6,0; 3,0

- roztwór wzorcowy kwasu octowego, 0,1 mg/ml

Sposób wykonania:

a) badanie właściwości czerwieni fenolowej

Do kolbek miarowych o poj. 50 ml wprowadzić po 3 ml roztworu czerwieni fenolowej i kolejno po 5 ml odpowiedniego buforu (pH 7,5; 7,0; 6,0; 3,0) i uzupełnić wodą do kreski. Zarejestrować krzywe absorpcji roztworów w zakresie VIS. Odczytać parametry uzyskanych punktów izobestycznych i obliczyć stężenie czerwieni fenolowej [g/L]. Sporządzić charakterystykę spektrofotometryczną czerwieni fenolowej (w tabeli), podając maksima absorpcji dla formy kwaśnej i zasadowej barwnika, zakresy pH dla każdej z form.

b) oznaczanie kwasu octowego za pomocą czerwieni fenolowej metodą krzywej wzorcowej

Do kolbek o poj. 50 ml wprowadzić po 3 ml roztworu czerwieni fenolowej i po 4 ml buforu o pH 7,5 oraz kolejno po 0, 2, 5, 10 i 20 ml roztworu kwasu octowego o stężeniu 0,1 mg/ml. Uzupełnić wodą do kreski i wymieszać. Zarejestrować krzywe absorpcji dla przygotowanych roztworów (Spektrofotometr **SPECTROQUANT Pharo 300**) i wykreślić zależność zmian absorbancji roztworu (ΔA) przy $\lambda = 545$ nm od stężenia dodanego kwasu octowego. Następnie tak jak przy krzywej postępować dla próbki o nieznanym stężeniu kwasu octowego i wyznaczyć stężenie tego kwasu [mg], korzystając z krzywej wzorcowej.