

21. Kolorymetryczne oznaczanie Fe(III) przy użyciu 1,10-fenantroliny lub fosforu za pomocą błękitu molibdenowego

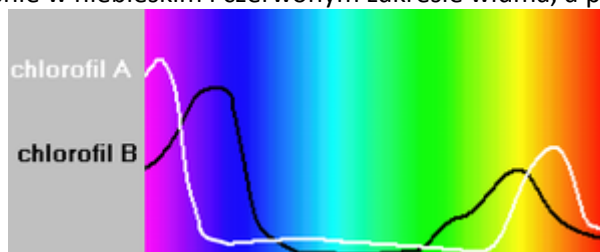
Barwa, kolor - to wrażenie psychiczne powstające w mózgu, gdy oko odbiera promieniowanie elektromagnetyczne z zakresu światła¹.



Kolory postrzegamy dzięki komórkom światłoczułym siatkówki oka zwanych pręcikami i czopkami. Pręciki są wrażliwe na stopień jasności, a czopki dodatkowo także na barwę. W oku występują trzy rodzaje czopków, każdy jest wrażliwy najbardziej na jeden z trzech zakresów barw – niebieską, zieloną lub czerwoną; zakresy te zachodzą na siebie. To łącznie pozwala na widzenie wszystkich barw. Oko ma dość ograniczoną rozdzielczość barw, czasem nie potrafi dostrzec różnicy między dwiema barwami o różnej charakterystyce spektralnej. Generalnie, wrażliwość na barwę jest uwarunkowana osobniczo, ale czasem jest wynikiem stałego obcowania z barwami (malarze, drukarze).

Okno ludzkie wykazuje różny stopień wrażliwości na różne barwy; jest to uwarunkowane liczbą czopków wrażliwych na odpowiednią długość fali świetlnej. Za widzenie barwy niebieskiej odpowiada ok. 4% czopków, zielonej – 32%, zaś czerwonej – 64%. Różnice barwy niebieskiej i ciemnoczerwonej są słabiej dostrzegane niż różnice w innych barwach.

Szczególne bogactwo barw, jakie obserwujemy w przyrodzie, a zwłaszcza w świecie roślin, to zasługa specyficznej grupy związków organicznych, wśród których można wyróżnić karotenoidy (np. w marchwi czy pomidorach), betalainy (burak ćwikłowy) oraz antocyjany (płatki kwiatów, owoce, ale też łodygi i liście roślin). Z fizycznego punktu widzenia barwa powstaje wtedy, gdy część promieniowania elektromagnetycznego stanowiącego widzialne światło białe zostaje zaabsorbowana (czyli zatrzymana), a reszta nie. Wówczas widzimy mieszaninę barw, które pozostały niezaabsorbowane. Np. zielona barwa liści, spowodowana obecnością w nich chlorofilu (dokładniej mówiąc – kilku odmian tego związku, głównie A i B) wynika stąd, iż chlorofil absorbuje jednocześnie w niebieskim i czerwonym zakresie widma, a przepuszcza światło zielone.



Widmo chlorofilu (w zakresie widzialnym)

¹ **Światło** – pojęcie to ma inne znaczenie potoczne i w nauce. Potocznie nazywamy się tak widzialną część promieniowania elektromagnetycznego, to znaczy promieniowanie widzialne odbierane przez siatkówkę oka ludzkiego. Wzrok każdego człowieka charakteryzuje się nieco inną wrażliwością, więc wartości graniczne długości fali odbieranych przez człowieka to maksymalnie 380-780 nm, choć często podaje się trochę mniejsze zakresy (zwłaszcza dla fal najdłuższych), niekiedy aż do zakresu 400-700 nm.

W naukach ścisłych stosuje się nazwę **promieniowanie optyczne**, przez co rozumiemy promieniowanie podlegające prawom optyki geometrycznej oraz falowej. Przyjmuje się, że promieniowanie optyczne obejmuje zakres fal elektromagnetycznych o długości od 10 nm do 1 mm. Ten zakres dzieli się na trzy zakresy: podczerwień (IR), światło widzialne (Vis) oraz ultrafiolet (UV).

Nie tylko związki organiczne posiadają barwę. W analizie jakościowej bardzo często wykorzystuje się barwę do identyfikacji związków lub pierwiastków. Jednym z przykładów jest identyfikacja jonów Fe^{+3} za pomocą rodanek; powstający związek kompleksowy ma intensywną czerwoną barwę.

Do badania, identyfikacji, a także analizy ilościowej powszechnie wykorzystuje się metody spektroskopowe. Spektroskopia zajmuje się oddziaływaniem promieniowania elektromagnetycznego (czyli m.in. światła) z materią. Spektroskopia UV-VIS to rodzaj spektroskopii, w której wykorzystuje się promieniowanie elektromagnetyczne leżące w zakresie światła widzialnego ("VIS"), bliskiego ultrafioletu ("UV") i bliskiej podczerwieni; są to długości fali od 200 nm do 1100 nm. Urządzeniem służącym do badań za pomocą tej techniki jest spektrofotometr UV-VIS.

Spektrofotometria jest techniką instrumentalną, w której do celów analitycznych wykorzystuje się absorpcję promieniowania elektromagnetycznego. Spektrofotometria w zakresie UV-VIS znalazła różnorodne zastosowanie w analizie ilościowej, a także do identyfikacji związków organicznych i do badania związków kompleksowych. Metoda analizy spektrofotometrycznej jest szczególnie przydatna do oznaczeń jakościowych i ilościowych substancji barwnych, tzn. absorbujących promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie widzialnym. Oznaczenie ilościowe substancji metodą spektrofotometrii absorpcyjnej opiera się na prawach absorpcji (prawo Lamberta-Beera) i prawie addytywności absorpcji. Te zagadnienia będą omawiane kiedy indziej.

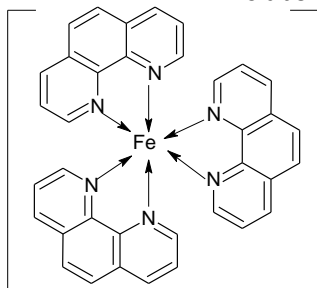
Można jednak znacznie prościej oszacować stężenie substancji barwnej w roztworze, korzystając z techniki zwanej **kolorymetrią**. Polega ona na porównaniu intensywności barwy roztworu analizowanej substancji barwnej z serią roztworów tej samej substancji przygotowanych w tych samych warunkach, ale o znanych, stopniowo zwiększających się stężeniach. Jest raczej oczywiste, że im więcej barwnika zawiera roztwór, tym jego barwa jest bardziej intensywna, i to jest właśnie zasada działania metody kolorymetrycznej. Jest ona stosowana wszędzie tam, gdzie pomiar nie musi być dokładny, za to musi być szybki, łatwy i tani (bo nie jest tutaj wymagany żaden specjalistyczny przyrząd).

Najprostszą realizacją metody kolorymetrycznej jest przygotowanie serii roztworów wzorcowych o znanych, stopniowo wzrastających stężeniach w jednakowych cylindrach (grubych probówkach, często używa się w tym celu tzw. cylindrów Nesslera) i obserwacji intensywności zawartości barwy identycznego cylindra z badanym roztworem z roztworami wzorcowymi. W laboratoriach specjalistycznych używa się też bardziej zaawansowanych instrumentów (kolorymetr), które mierzą intensywność barwy w ustalonej, charakterystycznej dla badanego związku długości fali.



Uwaga: studenci wykonują tylko jedno z dwóch poniższych ćwiczeń, wg wskazania prowadzącego.

Kolorymetryczne oznaczenie Fe(II) za pomocą 1,10-fenantroliny. Jony żelaza dwuwartościowego tworzą czerwony kompleks z 1,10-fenantroliną, przy pH pomiędzy 2 i 9. Maksimum absorpcji tego kompleksu leży przy długości fali $\lambda_{\text{max}}=512 \text{ nm}$, jego molowy współczynnik absorpcji wynosi $\epsilon = 1,11 \times 10^4 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1}$ (zaś absorbcja właściwa 0,2). W przypadku niedomiaru liganda mogą się tworzyć kompleksy w stosunku 1:1 Fe^{2+} do 1,10-fenantroliny o barwie żółtej. W oznaczeniu przeszkadzają jony Ti, Al i Bi ze względu na hydrolizę ich soli w słabo kwaśnym środowisku. Zapobiega temu dodatek cytrynianu sodu. Zn i Cd, występujące



$^{2+}$ w dużym nadmiarze maskujemy dodając roztwór wersenianu disodowego (EDTA). Cu można maskować kwasem tioglikolowym. Żelazo Fe^{3+} tworzy również z 1,10-fenantroliną kompleks o barwie zielono-niebieskiej, przechodzący po jakimś czasie w kompleks o barwie żółtej. Przy oznaczaniu żelaza w roztworze zawierającym jony Fe^{3+} dokonuje się ich redukcji do żelaza dwuwartościowego hydroksyloaminą. Optymalne warunki dla tej redukcji to wartości pH od 6 do 8.

Odczynniki (są przygotowane przez laborantów)

- Roztwór podstawowy o stęż. 20 ppm Fe^{3+} : 0.1727 g alunu żelazowo-amonowego $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ w 1L rozc. r-u HCl (zawiera 5mL stęż. HCl w 1 L)
- 0.5% roztwór o-fenantroliny w HCl: 0,5 g o-fenantroliny rozp. w 91.5 mL wody dest. z dodatkiem 8.5 mL stęż. HCl ($\rho=1.19$ g/mL)
- 10% roztwór wodny cytrynianu sodowego: 10 g cytrynianu sodowego rozpuścić w 90 mL wody dest.
- 10% roztwór chlorowodoru hydroksyloaminy: 10 g chlorowodoru hydroksyloaminy rozpuścić w 90 mL wody dest. (roztwór musi być świeżo przygotowany)

Sprzęt: Spektrokolorymetr Hanna, cylindry szklane ze statywem (7 sztuk) i podświetlaczem (zestaw Nesslera), kolby miarowe na 50 mL (8 sztuk), pipety jedno- i wielomiarowe i/lub mikropipety automatyczne.

Procedura

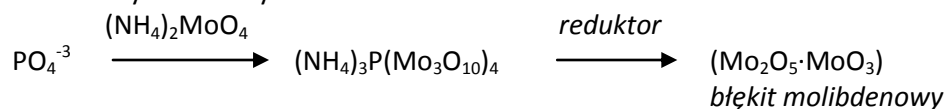
1. Próbkę minerału należy utrzeć na drobny proszek (prawie pył) w moździerzu i wykonać próby na rozpuszczanie w kwasach – zazwyczaj najlepsza jest mieszanina 1:1 stężonego HCl i HNO_3 na gorąco (użyj zlewki lub mineralizatora M9, urządzenie obsługiwać może tylko prowadzący).
2. Odważyć dokładnie na wadze analitycznej ok. 2 g utartego minerału i rozpuścić (w mineralizatorze lub zlewce – zapytaj prowadzącego jak to zrobić) w ok. 50 cm³ mieszaniny roztwarzającej. Przesączyć (na sączku szklanym G4, pod próżnią) i rozcieńczyć wodą w kolbce miarowej do 200 mL.
3. **Przygotowanie serii roztworów wzorcowych i roztworu.** Do 6 kolb miarowych á 50 mL odmierzyć za pomocą pipet kolejno: 0.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 i 10.00 mL roztworu podstawowego Fe^{3+} . Do siódmej kolbki wlać 5 mL roztworu analizowanego i dodawać po jednej granulce stałego NaOH aż do pojawienia się zmętnienia, po czym kroplami stężony HCl aż roztwór będzie znów klarowny. Sprawdzić pH papierkiem uniwersalnym, odczyn powinien być kwaśny. Następnie dodać pipetą do wszystkich kolb kolejno: 3 mL 10% roztworu chlorowodoru hydroksyloaminy, po 10 mL 10% roztworu cytrynianu sodowego i po 10 mL 0.5% roztworu o-fenantroliny. Kolbki uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Tak przygotowane roztwory zawierają kolejno 0.0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2 i 4.0 ppm Fe^{2+} ($\mu\text{g}/\text{mL}$). Jeżeli barwa w kolbce zawierającej analizowaną próbkę jest bardziej intensywna niż dla najbardziej stężonego roztworu wzorcowego, powtórzyć przygotowanie roztworu analizowanego, biorąc jednak nie 5, a tylko 1 mL pierwotnego roztworu analizowanego w punkcie 2.
4. **Pomiar kolorymetryczny za pomocą spektrokolorymetru Hanna.** (Przed pomiarami poproś prowadzącego o pokaz.) Napełnić jedno naczynie roztworem niezawierającym żelaza (0.0 ppm). Do drugiego naczynia nalać roztwór mierzony (kolejne z serii wzorcowej, a na końcu roztwór analizowany). Uruchomić aparat. Gdy na wyświetlaczu pojawi się symbol C1, włożyć roztwór odniesienia (0.0 ppm) i nacisnąć przycisk. Gdy pojawi się symbol C2, włożyć naczynie z roztworem mierzonym i ponownie nacisnąć przycisk. Zapisać wynik, który pojawi się na wyświetlaczu (jest to absorbancja w jednostkach umownych).
5. **Pomiar kolorymetryczny za pomocą cylindrów Nesslera.** Po zakończeniu pomiarów opisanych w punkcie 2 nalać roztwory z kolejnych kolbek do cylinderek (poziomy cieczy muszą być identyczne), umieścić cylinderek w statywie i włączyć podświetlenie. Przesuwając cylinder z roztworem analizowanym wzdłuż szeregu z roztworami wzorcowymi oszacować, który z nich ma intensywność barwy najbliższą analizowanemu. Zapisać wynik.

Obliczenia i sprawozdanie

Za pomocą programu Excel lub podobnego wykreślić zależność zmierzonej absorbancji od zawartości żelaza, obliczyć parametry równania prostej opisującej tę zależność oraz, za ich pomocą, zawartość żelaza w próbce analizowanej (nanieść jej dane na wykres dla ilustracji). Przeliczyć i podać końcowy wynik, tj. zawartość żelaza w badanej próbce minerału (w ppm). Porównać otrzymany wynik z oszacowanym w punkcie 5. (kolorymetria za pomocą cylindrów Nesslera).

Kolorymetryczne oznaczenie fosforu. Zawartość fosforu w wodach powierzchniowych określa stopień ich troficzności. Im więcej fosforanów dostaje się do odbiorników wraz ze ściekami, tym większe jest niebezpieczeństwo eutrofizacji wód. Bardzo ważne jest utrzymanie właściwej zawartości fosforanów w

wodach kotłowych, ponieważ zapobiegają one powstawaniu kamienia kotłowego. Molibdenian amonu w reakcji z jonami fosforanowymi tworzy kwas fosfomolibdenowy, który jest redukowany do błękitu molibdenowego. Intensywność barwy niebieskiej tego kompleksu jest proporcjonalna do stężenia jonów fosforanowych zawartych w roztworze.



Substancje utleniające, jeśli występują w dużych ilościach, uniemożliwiają powstanie kompleksu barwnego i należy je usunąć przed analizą. H_2S przeszkadza w stężeniu powyżej 2 mg/l. Metale ciężkie w stężeniach powyżej 10 mg/l powodują nieznaczne zniżenie wyników (ale wanad powoduje wzmocnienie barwy). Krzemiany przeszkadzają w stężeniach powyżej 20 mg/l. Arseniany reagują jak fosforany. Cytryniany, szczawiany i winiany zmniejszają czułość testów fosforanowych. Metoda nadaje się do badania wody morskiej.

Polifosforany(V) dodaje się do wyrobów mięsnych podlegających obróbce termicznej, do mięs w galarecie, oraz do wszystkich gatunków kiełbas, z wyjątkiem kiełbas suchych i półsuchych. Zazwyczaj polifosforany(V) dodaje się do żywności wraz z azotanami(III). Obecność fosforanów(V) sprawia, że białko mięsa wiąże wodę, zaś tłuszcze ulegają emulgacji. Zawartość fosforanów(V) w produktach, w przeliczeniu na tlenek fosforu(V), powinna wynosić mniej niż 0,5%.

Fosforany są także obecne np. w sokach jabłkowych (Tymbark, Hortex itp., jest ich tu ok. 100-300 ppm), a w Coca-Coli czy Pepsi zawartość tych związków to czasem nawet powyżej 600 ppm.

Przygotowanie próbki mięsa lub wędliny do analizy

Odważ ok. 100 g produktu mięsnego i poddaj go homogenizacji. Odważ w zlewce około 0.7-0.9 g ($\pm 0,0001$ g) zhomogenizowanej próbki i dodaj do niej 5 mL kwasu solnego (1:2) oraz 1 mL 30% H_2O_2 . Umieść zlewkę przykrytą szkiełkiem zegarkowym w łaźni wodnej na ok. 20 minut w temperaturze nieco poniżej 100°C . Przesącz roztwór pod próżnią stosując szklany sączonek G4 i przenieś ilościowo przesącz do kolby miarowej na 50 mL przepłukując sączonek wodą destylowaną i uzupełnij wodą do kreski. Przesącz musi być klarowny.

Przygotowanie próbki napoju (sok, Cola, Pepsi itp.) do analizy

Oblicz, jak bardzo trzeba rozcieńczyć badany napój, żeby orientacyjne stężenie fosforanów wynosiło 10-20 ppm. Rozcieńcz napój w kolbie miarowej, korzystając z pipety jedno- lub wielomiarowej.

Odczynniki (są przygotowane przez laborantów)

- Roztwór wzorcowy o stęż. 10 ppm P/1 L : 43.9mg bezwodnego fosforanu potasowego KH_2PO_4 w 1L wody
- Roztwór molibdenianu amonowego $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ w wodzie (40 g/L)
- Roztwór winianu antymonylowo-potasowego $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ w wodzie (2.7 g/L)
- Roztwór H_2SO_4 (70 mL stęż. H_2SO_4 rozcieńczone do 500 mL)
- 0.01 M roztwór kwasu askorbinowego (1.76 g kwasu askorbinowego w 100 mL roztworu wodnego). Ten roztwór jest nietrwały, musi być przygotowany przed ćwiczeniami.
- 30% H_2O_2
- HCl stęż.

Sprzęt: Spektrokolorymetr Hanna, cylindry szklane ze statywem (7 sztuk) i podświetlaczem (zestaw Nesslera), kolby miarowe na 100 mL (7 sztuk), kolba miarowa na 100 mL, pipety jedno- i wielomiarowe i/lub mikropipety automatyczne, cylinder miarowy á 50 mL, kolby miarowe na 50 mL, szkiełko zegarkowe, bagietka szklana, lejek do sączenia, sączonek bibułowe miękkie.

Procedura

1. **Przygotowanie mieszaniny reakcyjnej.** Do kolby miarowej na 100 mL (z ciemnego szkła) odmierzyć za pomocą cylindra miarowego kolejno: 50 mL roztworu kwasu siarkowego, 5 mL roztworu winianu antymonylowo-potasowego, 15 mL roztworu molibdenianu amonowego i 30 mL roztworu kwasu askorbinowego. Mieszać po dodaniu każdego odczynnika. Jeśli roztwór zmętnieje, pozostaw na kilka minut, gdy to nie poskutkuje - przefiltruj pod próżnią stosując szklany sączonek G4.

2. **Przygotowanie serii roztworów wzorcowych i roztworu.** Do 6 kolb miarowych á 50 mL odmierzyć za pomocą pipet kolejno: 0, 2, 4, 6, 8 i 10 mL roztworu wzorcowego. Do siódmej kolbki wlać 5 mL uzyskanego wyciągu z mięsa (wędliny). Następnie dodać pipetą do wszystkich kolb po 10 mL mieszaniny reakcyjnej z punktu 1. Kolbki uzupełnić wodą destylowaną do kreski i pozostawić na 10 minut. Tak przygotowane roztwory zawierają kolejno 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 i 2.0 ppm P ($\mu\text{g/mL}$).
3. **Pomiar kolorymetryczny za pomocą spektrokolorymetru Hanna.** (Przed pomiarami poprosz prowadzącego o pokaz.) Napełnić jedno naczynie roztworem niezawierającym fosforanu (0.0 ppm). Do drugiego naczynia nalać roztwór mierzony (kolejne z serii wzorcowej, a na końcu roztwór analizowany). Uruchomić aparat. Gdy na wyświetlaczu pojawi się symbol C1, włożyć roztwór odniesienia (0.0 ppm) i nacisnąć przycisk. Gdy pojawi się symbol C2, włożyć naczynie z roztworem mierzonym i ponownie nacisnąć przycisk. Zapisać wynik, który pojawi się na wyświetlaczu (jest to absorbancja w jednostkach umownych).
4. **Pomiar kolorymetryczny za pomocą cylindrów Nesslera.** Po zakończeniu pomiarów opisanych w punkcie 3 nalać roztwory z kolejnych kolbek do cylinderek (poziomy cieczy muszą być identyczne), umieścić cylindery w statywie i włączyć podświetlenie. Przesuwając cylinder z roztworem analizowanym wzdłuż szeregu z roztworami wzorcowymi oszacować, który z nich ma intensywność barwy najbliższą analizowanemu. Zapisać wynik.

Obliczenia i sprawozdanie

Za pomocą programu Excel lub podobnego wykreślić zależność zmierzonej absorbancji od zawartości fosforu, obliczyć parametry równania prostej opisującej tę zależność oraz, za ich pomocą, zawartość fosforu w próbce analizowanej (nanieść jej dane na wykres dla ilustracji). Podać końcowy wynik, tj. zawartość fosforu **w badanej próbce** (w ppm). Porównać otrzymany wynik z oszacowanym w punkcie 4. (kolorymetria za pomocą cylindrów Nesslera).

Źródła:

<http://www.chemia.uj.edu.pl/chemanal/dydaktyka/analityczna/pliki/spektrometria.pdf>

<http://portalwiedzy.onet.pl>

Andrzej Cygański, „Metody spektroskopowe w chemii analitycznej”

Jerzy Minczewski, Zygmunt Marczenko, „Chemia analityczna”, tom 3

Internet, zwłaszcza Wikipedia

Sprawozdanie

Imię i nazwisko:		Data:	
Temat:	Kolorymetryczne oznaczanie Fe(III) przy użyciu 1,10-fenantroliny^{*/} lub fosforu za pomocą błękitu molibdenowego^{*/}		
Naważka minerału lub wędliny ^{*/} [g] lub Objętość próbki napoju wziętej do analizy ^{*/} [mL]			
Objętość próbki po jej rozpuszczeniu, przefiltrowaniu i rozcieńczeniu w kolbie miarowej [mL]			

<i>Wyniki uzyskane za pomocą spektrokolorymetru Hanna</i>	
Zawartość Fe lub P ^{*/} [ppm]	
0.0/0.0	
0.8/0.4 ^{*/}	
1.6/0.8 ^{*/}	
2.4/1.2 ^{*/}	
3.2/1.6 ^{*/}	
4.0/2.0 ^{*/}	
Próbka badana	
Zawartość Fe lub P ^{*/} z regresji liniowej [ppm]	
Zawartość Fe lub P ^{*/} z pomiaru cylindrami Nesslerera [ppm]	
Zawartość Fe lub P ^{*/} w pierwotnej próbce [%wag.]	Z regresji liniowej:
	Z pomiaru cylindrami Nesslerera:
Uwagi:	

^{*/} Zaznaczyć właściwe lub skreślić niewłaściwe