

SPIS TREŚCI

1. Spektrofotometria absorpcyjna cząsteczkowa UV, VIS	6
1.1. Podstawy teoretyczne	6
1.1.1. Prawa absorpcji	11
1.1.2. Czułość oznaczeń spektrofotometrycznych	14
1.1.3. Oznaczenia spektrofotometryczne.....	16
1.1.4. Budowa spektrofotometru UV, VIS.....	16
1.2. Ćwiczenia laboratoryjne	19
1.2.1. Spektrofotometryczne oznaczanie manganu(VII) w postaci KMnO ₄ metodą krzywej wzorcowej	19
1.2.2. Spektrofotometryczne oznaczanie bizmutu(III) metodą dodawanego wzorca	20
Literatura	23
2. Spektrometria mas	25
2.1. Podstawy teoretyczne	25
2.1.1. Masa cząsteczkowa	25
2.1.2. Spektrometria mas (MS) jako metoda analityczna	25
2.1.3. Budowa i działanie spektrometru masowego	26
2.1.4. Źródła jonów i sposoby jonizacji.....	30
2.1.5. Analizatory	35
2.1.6. Zdolność rozdzielcza spektrometru masowego	38
2.1.7. Widmo masowe	39
2.2. Ćwiczenia laboratoryjne	41
2.2.1. Wykrywanie i identyfikacja substancji na podstawie widm masowych wybranych związków organicznych i nieorganicznych. Wyznaczenie zdolności rozdzielczej spektrometru	41
Literatura	42
3. Potencjometria	43
3.1. Podstawy teoretyczne	43
3.1.1. Podział elektrod	45
3.1.2. Analityczne zastosowanie potencjometrii	51
3.2. Ćwiczenia laboratoryjne	56
3.2.1. Oznaczanie bromków i jodków metodą potencjometrycznego miareczkowania strąceniowego	56
3.3. Literatura	57
4. Polarografia	58
4.1. Podstawy teoretyczne	58
4.1.1. Polarografia stałoprądowa	58
4.1.2. Analityczne zastosowanie polarografii	62
4.1.3. Metody oznaczeń ilościowych	63
4.1.4. Zastosowanie polarografii stałoprądowej	64

4.1.5. Polarografia zmiennoprądowa	64
4.2. Ćwiczenia laboratoryjne	67
4.2.1. Oznaczanie cynku techniką polarografii stałoprądowej metodą krzywej wzorcowej	67
Literatura	68
5. Chromatografia gazowa	69
5.1. Podstawy teoretyczne	69
5.1.1. Aparatura do chromatografii gazowej	70
5.1.2. Gazy nośne	71
5.1.3. Wypełnienia i fazy ciekłe stosowane w chromatografii	71
5.1.4. Detektory	71
5.1.5. Wielkości mierzone w chromatografii	73
5.1.6. Analiza jakościowa w chromatografii	74
5.1.7. Analiza ilościowa w chromatografii	75
5.2. Ćwiczenia laboratoryjne	77
5.2.1. Analiza ilościowa mieszaniny węglowodorów ciekłych metodą chromatografii gazowej	77
5.2.2. Oznaczanie śladowych ilości azotu w gazie ziemnym metodą chromatografii gazowej	79
Literatura	80
6. Wysokosprawną chromatografię cieczą (HPLC)	81
6.1. Podstawy teoretyczne	81
6.2. Ćwiczenia laboratoryjne	87
6.2.1. Oznaczanie eugenolu w przyprawach z wykorzystaniem techniki HPLC	87
Literatura	90
7. Emisyjna spektrometria atomowa z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-AES)	91
7.1. Podstawy teoretyczne	91
7.2. Ćwiczenia laboratoryjne	95
7.2.1. Oznaczanie wybranych pierwiastków w próbkach włosów metodą emisyjnej spektrometrii atomowej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-AES)	97
7.2.2. Oznaczanie wybranych pierwiastków w próbkach włosów metodą ICP-MS	103
Literatura	104
8. Analiza termiczna	106
8.1. Podstawy teoretyczne	106
8.1.1. Wprowadzenie do analizy termicznej	106
8.1.2. Charakterystyka metody analizy termicznej TG, DTA i spektrometrii mas MS	107
8.1.3. Opis krzywych termoanalitycznych TG, DTG i DTA	109
8.1.4. Opis połączonej metody termoanalitycznej i spektrometrii mas TG-DTA-MS	112
8.2. Aparatura do analizy termicznej TG-DTA-MS	113
8.3. Obliczenia stechiometryczne i interpretacja wyników eksperymentalnych analizy termicznej TG-DTA-MS	114
8.3.1. Podstawy obliczeń	114
8.3.2. Przykłady ćwiczeń laboratoryjnych	118

8.3.3. Zadania rachunkowe na podstawie danych eksperymentalnych	136
8.3.4. Zadania rachunkowe	141
8.4. Odpowiedzi do zadań rachunkowych.....	143
Literatura	143
9. Absorpcyjna spektrometria atomowa.....	144
9.1. Podstawy teoretyczne	144
9.1.1. Aparatura	145
9.2. Ćwiczenia laboratoryjne	151
9.2.1. Oznaczanie zawartości cynku	151
Literatura	152
10. Metody kalibracji w analizie instrumentalnej	154
10.1. Metoda krzywej wzorcowej	154
10.2. Metoda roztworów ograniczających	155
10.2.1. Obliczenia na podstawie prawa Talesa	156
10.2.2. Obliczenia na podstawie równania prostej	157
10.3. Metoda dodawanego wzorca	157
10.3.1. Metoda graficzna rozwiązywania metody dodatków	158
10.3.2. Metoda matematyczna rozwiązywania metody dodatków	159
10.4. Metoda wzorca wewnętrznego	160
Literatura	161

1. SPEKTROFOTOMETRIA ABSORPCYJNA CZĄSTECZKOWA UV, VIS

1.1. Podstawy teoretyczne

Wiele związków ma widma absorpcyjne w zakresie widzialnym (VIS) i nadfiolecie (UV), dlatego też związki te można oznaczać metodami spektrofotometrycznymi.

Spektrofotometrią nazywa się dział analizy, gdzie prowadzi się pomiary absorbancji badanej próbki w aparatach – spektrofotometrach. Spektrofotometrem mierzy się stosunek natężeń dwóch wiązek promieniowania w funkcji długości fali. Jedna wiązka promieniowania przechodzi przez badaną próbkę (oznaczany składnik), a druga wiązka przechodzi przez roztwór odniesienia, którym jest rozpuszczalnik (najczęściej woda destylowana) lub tzw. ślepą próbkę (roztwór zawierający te same odczynniki co próbka badana, ale bez substancji oznaczanej)*. Metody spektrofotometryczne (UV, VIS) polegają więc na pomiarze zaabsorbowanego promieniowania elektromagnetycznego z zakresu ultrafioletu i widzialnego.

Promieniowanie elektromagnetyczne składa się z fotonów (kwantów energii). Właściwością fotonów jest energia

$$E = h \nu \quad (1.1)$$

gdzie: E – energia fotonu wyrażona w dżulach: $1\text{J} = 10^7\text{erg} = 0,2389\text{ cal}$,

h – stała Plancka = $6,626 \cdot 10^{-34}\text{ J}\cdot\text{s}$,

ν – częstotliwość drgań promieniowania wyrażona w hercach (Hz).

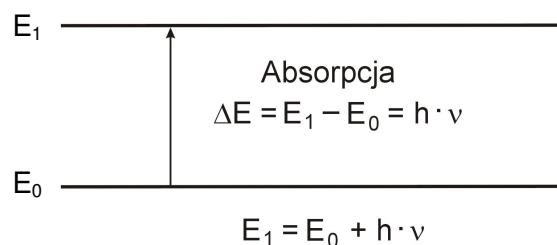
Energia fotonu jest proporcjonalna do częstotliwości drgań. Jednak częstotliwość mierzy się rzadko. Powszechnie stosuje się pojęcie długości fali λ , którą określa się jako stosunek prędkości rozchodzenia się światła c do częstości ν

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (1.2)$$

gdzie: c – prędkość światła (w próżni $c = 3 \cdot 10^8\text{ m/s}$).

* W niektórych spektrofotometrach do jednej wiązki promieniowania najpierw wprowadza się rozpuszczalnik lub ślepą próbkę, a następnie badaną próbkę.

Wymiarem długości fali λ jest długość, jako jednostkę w UV i VIS stosuje się nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Jeżeli energia padającego promieniowania $E = h \nu$ odpowiada różnicy energii poziomów elektronowych cząsteczki (danego związku), to ten kwant energii ($E = h \nu$) zostaje absorbowany przez elektrony tej cząsteczki. Wtedy elektrony cząsteczki zostają przeniesione ze stanu podstawowego E_0 do stanu wzbudzonego E_1 (o wyższej energii). A więc warunkiem absorpcji jest aby $\Delta E = E_1 - E_0$ była równa $E = h \nu$. Rysunek 1.1 obrazuje przejście elektronu ze stanu podstawowego do stanu wzbudzonego.



Rys. 1.1. Przejście elektronu ze stanu podstawowego do stanu wzbudzonego – warunek absorpcji

Podczas absorpcji ulega zmianie energia elektronowa cząsteczki i otrzymuje się jej widmo elektronowe.

Promieniowanie UV obejmuje długości fal od 10-380 nm (nadfiolet próżniowy 10-200 nm; nadfiolet bliski 200-380 nm).

Promieniowanie widzialne (VIS) obejmuje długości fal 380-780 nm. Określona długość fali z tego zakresu ma określoną barwę. I tak promieniowanie z zakresu:

- 380-440 nm jest fioletowe;
- 440-480 nm jest niebieskie;
- 480-560 nm jest zielone;
- 560-600 nm jest żółte;
- 600-620 nm jest pomarańczowe;
- 620-780 nm jest czerwone.

Promieniowanie o większej długości fali niż 780 nm jest promieniowaniem podczerwonym (IR), wyrażanym obecnie w mikrometrach μm (dawniej cm^{-1}); $1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$. Obejmuje zakres 0,78-30000 μm : podczerwień bliska 0,78-300 μm ($12800-3333 \text{ cm}^{-1}$); średnia 300-3000 μm ($3333-333 \text{ cm}^{-1}$) daleka 3000-30 000 μm ($333-33,3 \text{ cm}^{-1}$).

Ze wzoru 1.2 wynika, że:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (1.3)$$

a po podstawieniu do $E = h \nu$, otrzymuje się zależność:

$$E = h \frac{c}{\lambda} \quad (1.4)$$

z której wynika, że energia promieniowania jest odwrotnie proporcjonalna do λ (długości fali). Czyli promieniowanie UV ma większą energię, niż promieniowanie IR (podczerwone).

Całkowita energia cząsteczki składa się z sumy energii: elektronowej (związanej z ruchem elektronów), oscylacyjnej (związanej z ruchem oscylacyjnym) i energii rotacyjnej (związanej z ruchem rotacyjnym cząsteczki).

$$E = E_e + E_{osc} + E_{rot} \quad (1.5)$$

gdzie: E – całkowita energia cząsteczki;

E_e – energia elektronowa;

E_{osc} – energia oscylacyjna;

E_{rot} – energia rotacyjna

$$E_e \gg E_{osc} > E_{rot} \quad (1.6)$$

Energia elektronowa w cząsteczce jest dużo większa od energii oscylacyjnej, a ta jest większa od energii rotacyjnej.

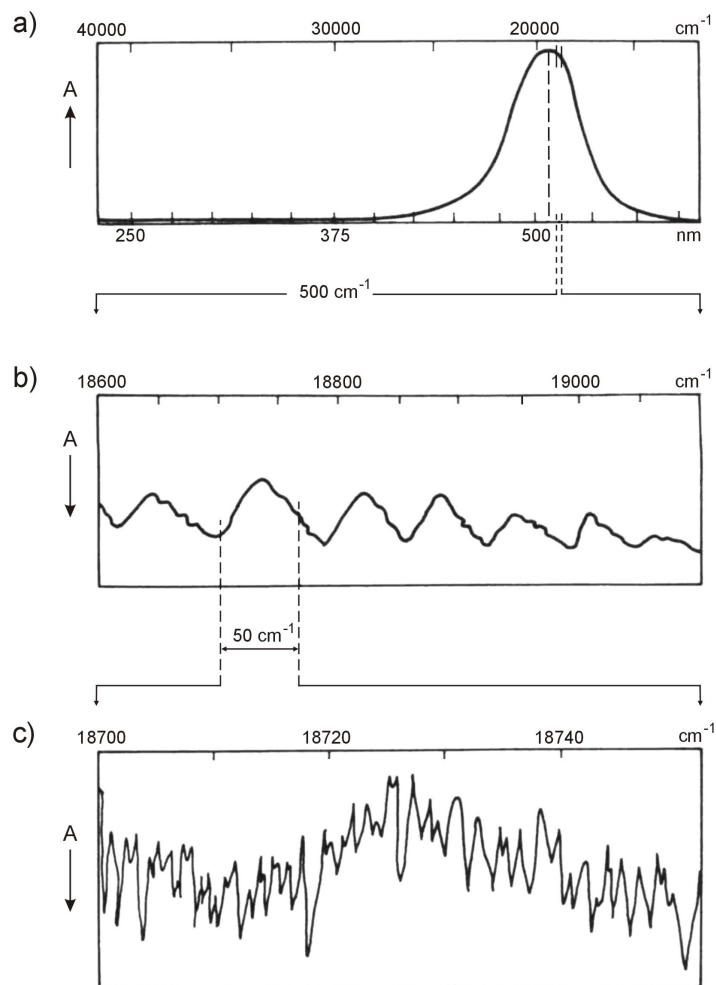
Różnice energii między poziomami elektronowymi w cząsteczce wynoszą kilka elektronowoltów (eV), między poziomami oscylacyjnymi dziesiąte i setne części eV, pomiędzy poziomami rotacyjnymi tysięczne części eV. Można więc (w przybliżeniu) zapisać, że:

$$E_e : E_{osc} : E_{rot} = 1000 : 10 : 1 \quad (1.7)$$

Jeżeli na cząsteczkę pada promieniowanie elektromagnetyczne z zakresu dalekiej podczerwieni $\lambda = 3000-30\,000 \mu\text{m}$ (o najdłuższej λ , a zatem najmniej energetyczne), to pochłonięcie kwantu tego promieniowania powoduje tylko zmiany energii rotacji. Promieniowanie o większej energii, z zakresu bliskiej podczerwieni ($\lambda = 0,78-300 \mu\text{m}$), powoduje przejścia między poziomami oscylacyjnymi. Ta wyższa energia powoduje zmianę energii oscylacyjnej cząsteczki i także zmianę energii rotacyjnej cząsteczki – powstaje widmo oscylacyjno-rotacyjne. Jeżeli cząsteczka zaabsorbuje promieniowanie z zakresu UV lub VIS (o krótszej długości fali, a więc o większej energii), to ta energia spowoduje w cząsteczce zmiany energii elektronowej oraz oscylacyjnej i rotacyjnej. Powstanie zatem widmo elektronowo-oscyłacyjno-rotacyjne. Widmo elektronowo-oscyłacyjno-rotacyjne można obserwować aparatem o dużej rozdzielczości. Rysunek 1.2 przedstawia widmo elektronowo-oscyłacyjno-rotacyjne jodu otrzymane w aparacie o różnej rozdzielczości.

W analizie spektrofotometrycznej, do oznaczeń ilościowych, najczęściej stosuje się spektrofotometrię z zakresu widzialnego (380-780 nm).

Promieniowanie VIS absorbują związki barwne. Jeżeli związek jest bezbarwny, to znaczy, że nie absorbuje promieniowania VIS. Do analizy substancji bezbarwnych stosuje się spektrofotometrię z zakresu UV. Można też za pomocą reakcji chemicznej przeprowadzić niektóre substancje w związek barwny (najczęściej przeprowadza się w barwne związki kompleksowe) i do ich oznaczenia stosować zakres VIS.



Rys. 1.2. Widmo elektronowo-oscylacyjno-rotacyjne jodu otrzymane w aparatach w różnej dyspersji:
a) mała rozdzielczość – widoczne widmo elektronowe; b) średnia rozdzielczość – widoczna struktura oscylacyjna; c) duża rozdzielczość – widoczna struktura rotacyjna

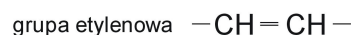
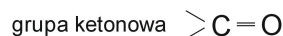
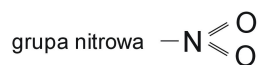
Barwa substancji jest wynikiem absorpcji lub emisji fotonów światła widzialnego przez elementy jej budowy: atomy, jony lub cząsteczki. Absorpcja i emisja fotonów jest związana z przejściami elektronów z jednych poziomów energetycznych na inne. Jeżeli energia kwantu promieniowania potrzebnego do przejścia na wyższy poziom energetyczny (absorpcja) leży w zakresie widzialnym, to obserwuje się barwę związku. Również związek jest barwny jeżeli częstotliwość emitowanych fotonów odpowiada zakresowi widzialnemu. Obserwowane zabarwienie jest kolorem dopełniającym w stosunku do barw odpowiadających absorbowanym długościom fal. Kolory rozróżnialne przez oko ludzkie można złożyć z 3 podstawowych barw: czerwonej, niebieskiej i żółtej. Barwami dopełniającymi do nich są: zielona, pomarańczowa, fioletowa.

Jeżeli np. związek absorbuje promieniowanie o barwie zielonej, o długości fali $\lambda = 500 \text{ nm}$, to obserwujemy związek o barwie czerwonej.

A więc barwa związku zależy od położenia pasm absorpcji – od długości fali, a poza tym od natężenia pasm absorpcji, ich kształtu, symetrii pasma.

Prawie wszystkie jony pierwiastków przejściowych 4, 5, 6 okresu oraz niektóre lantanowce wykazują właściwości absorpcyjne w zakresie promieniowania widzialnego. Jony pierwiastków d – elektronowych z nie zapełnioną powłoką d^{10} wykazują barwę akwokompleksów. Na przykład jon Cu(II) o konfiguracji $3s^2 3p^6 3d^9$ tworzy niebieski akwokompleks $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ i inne związki z bezbarwnymi ligandami, zaś jon Cu(I) o konfiguracji $3s^2 3p^6 3d^{10}$ (z zapełnionym podpoziomem d) tworzy związki bezbarwne.

Jony pierwiastków grup głównych 4 okresu: Ga(III), Ge(IV), As(V), Se(VI) mają trwałe powłoki 18 – elektronowe i są bezbarwne.



Rys. 1.3. Najważniejsze chromofory wykorzystywane w spektrofotometrii

W związkach organicznych o barwie związku decydują grupy chromoforowe. Są to nienasycone ugrupowanie atomów lub układy sprzężonych

wiązań podwójnych w cząsteczce związku organicznego. Najważniejsze chromofory przedstawia rys. 1.3.

O barwie związków zawierających grupy chromoforowe decyduje jakość tych grup, ich ilość w związku i ich wzajemne położenie. Przyczyną powstawania barwy związków zawierających grupy chromoforowe (wg teorii elektronowej) jest łatwe wzbudzenie obecnego w tych grupach sprzężonego układu elektronów π .

Zmianę zabarwienia lub zwiększenie intensywności zabarwienia uzyskuje się przez wprowadzenie do związku grup auksochromowych:



Grupy te same nie wywołują barwy, ale na nią wpływają i przesuwają widmo absorpcyjne w kierunku fal o większej długości.

Analizy oparte na pomiarze lub porównaniu natężenia zabarwienia roztworów nazywa się **kolorymetrią**. Zatem kolorymetria dotyczy zakresu VIS.

Aby można było wykorzystać barwę związku do oznaczeń spektrofotometrycznych związek ten musi wykazywać: trwałość zabarwienia w czasie, duże natężenie zabarwienia (związane jest z czułością oznaczenia), odtwarzalność zabarwienia, specyficzność lub selektywność oraz stosowalność do prawa absorpcji Beera w określonym zakresie długości fali i stężeń. W przypadku oznaczania kilku składników w próbce musi także być zachowane prawo addytywności absorpcji oraz spełniony warunek wyboru długości fal, przy których można wykonać oznaczenie tych składników.

1.1.1. Prawa absorpcji

Jeżeli na roztwór pada promieniowanie elektromagnetyczne o określonej długości fali (światło monochromatyczne, gdzie $\Delta\lambda \rightarrow 0$), to część promieniowania ulega absorpcji (pochłonięciu), część przechodzi przez roztwór, a część ulega odbiciu i rozproszeniu. Zatem:

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (1.8)$$

gdzie: I_0 – natężenie promieniowania padającego;

I_a – natężenie promieniowania zaabsorbowanego;

I_r – natężenie promieniowania odbitego i rozproszonego;

I_t – natężenie promieniowania, które przeszło przez roztwór.

Stosunek natężenia promieniowania, które przeszło przez roztwór I_t do natężenia promieniowania padającego I_0 , nazywa się **transmitancją** (T):

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (1.9)$$

Transmitancja wskazuje, jaka część promieniowania padającego została przepuszczona przez roztwór, co często podaje się w procentach

$$T(\%) = \frac{I_t}{I_0} 100\% \quad (1.10)$$

Logarytm stosunku natężenia promieniowania padającego I_0 do natężenia promieniowania, które przeszło przez roztwór (wychodzącego) nazywa się **absorbancją** (A) (jest to logarytm odwrotności transmitancji).

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = A \quad \text{zatem: } A = \lg \frac{1}{T} \quad (1.11)$$

Jeżeli transmitancja jest wyrażona w procentach, to:

$$A = \lg \frac{1}{T} 100\% \quad (1.12)$$

Prawo Lamberta-Beera

Absorbancja zależy od stężenia substancji absorbującej (co określił Beer w 1852 roku) oraz od grubości warstwy absorbującej (przez którą przechodzi promieniowanie). Zależność tę określa się jako prawo Lamberta-Beera i wyraża wzorem:

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = a c l \quad (1.13)$$

gdzie: A – absorbancja,
 c – stężenie roztworu,
 l – grubość warstwy absorbującej,
 a – współczynnik absorpcji.

Jeżeli stężenie substancji absorbującej wyraża się jako liczbę moli w jednostkach objętości roztworu (mol/l) to

$$A = \varepsilon c l \quad (1.14)$$

gdzie: ε – nazywa się molowym współczynnikiem absorpcji.

Jeżeli stężenie substancji absorbującej wyrazi się w jednostkach masy w jednostce objętości roztworu (g/ml) to:

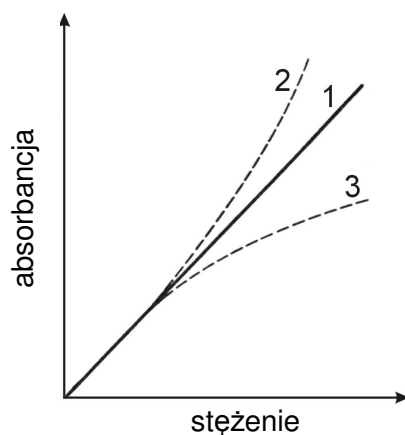
$$A = a_s \rho l \quad (1.15)$$

gdzie: a_s – współczynnik absorpcji właściwej;

- ρ – stężenie masowe (stosunek masy składnika do objętości roztworu zawierającego ten składnik);
 l – grubość warstwy absorbującej.

Zależność absorpcji A od stężenia roztworu można przedstawić graficznie (rysunek 1.4).

Dla substancji spełniających prawo absorpcji Beera, jest to linia prosta przechodząca przez początek układu współrzędnych (krzywa 1). Jeżeli substancja ta nie jest linią prostą, odchyła się (często dla roztworów o wyższych stężeniach), to mówi się, o odstępstwach od prawa Beera (dodatnich – krzywa 2, lub ujemnych – krzywa 3). Odchylenia te mogą być spowodowane przyczynami chemicznymi (w roztworze mogą zachodzić oddziaływania między cząsteczkami np.: dysocjacja, asocjacja, hydroliza, stopniowe tworzenie się kompleksów) lub fizycznymi (najczęściej niemonochromatycznością promieniowania).



Rys. 1.4. Zależność absorpcji od stężenia dla układów spełniających (1) i niespełniających (2, 3) prawo Beera

Prawo addytywności absorpcji

Jeżeli w roztworze znajduje się więcej niż jedna substancja absorbująca promieniowanie, to absorpcja całkowita tego roztworu jest równa sumie absorpcji poszczególnych składników. Taką zależność nazywa się prawem addytywności absorpcji. Można zapisać:

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad (1.16)$$

Jeżeli:

$$A_1 = \epsilon_1 \cdot c_1 \cdot l \quad A_2 = \epsilon_2 \cdot c_2 \cdot l \quad A_n = \epsilon_n \cdot c_n \cdot l \quad (1.17)$$

to absorbancja całkowita roztworu wynosi:

$$A = (\varepsilon_1 \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot c_2 + \dots + \varepsilon_n \cdot c_n) \cdot l \quad (1.18)$$

1.1.2. Czulość oznaczeń spektrofotometrycznych

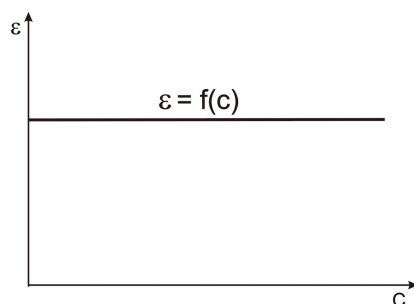
Czulość metody oznaczania jest to najmniejsza różnica stężeń pierwiastka, które można określić daną metodą.

Liczbową miarą czulości metod spektrofotometrycznych jest molowy współczynnik absorpcji ε .

$$\varepsilon = \frac{A}{cl} \quad (1.19)$$

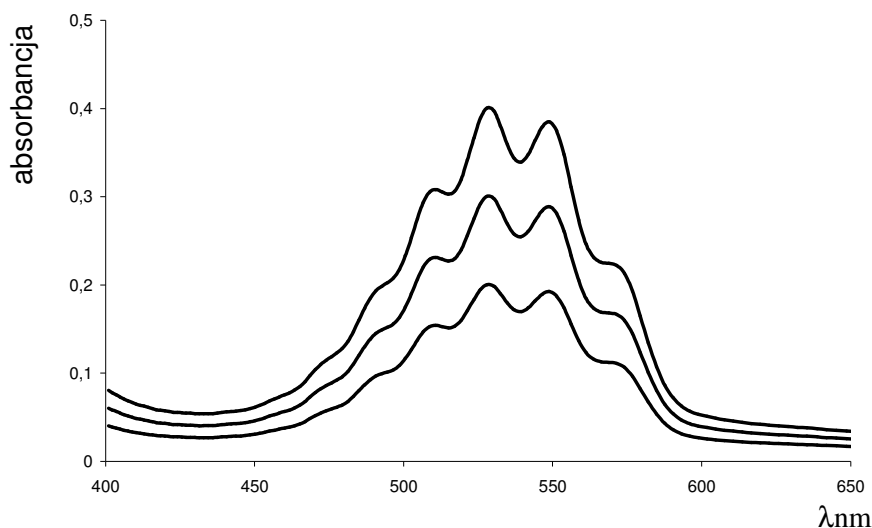
Jeżeli wartość molowego współczynnika absorpcji $\varepsilon > 10^4$, to metody spektrofotometryczne uważa się za czułe, jeżeli $\varepsilon < 10^3$, to metody spektrofotometryczne uważa się za mało czułe.

Molowy współczynnik absorpcji zależy od długości fali promieniowania padającego, dlatego wyznacza się go przy długości fali odpowiadającej maksimum absorpcji związku. Podając molowy współczynnik absorpcji, jednocześnie podaje się długość fali, przy której był wyznaczany. Molowy współczynnik absorpcji zależy także od rodzaju substancji absorbującej promieniowanie i w mniejszym stopniu od temperatury. Nie zależy od stężenia. Wykresem zależności molowego współczynnika absorpcji ε od stężenia c , dla roztworów spełniających prawo Beera, jest linia prosta, równoległa do osi odciętych (rysunek 1.5).



Rys. 1.5. Zależność molowego współczynnika absorpcji od stężenia

Jeżeli prowadzi się pomiary absorbancji A w zależności od długości fali λ , dla roztworów o różnych stężeniach (np.: 0,00010 mol/l; 0,00015 mol/l; 0,00020 mol/l), w kuwetach o tej samej grubości ($l = 1$ cm), to otrzyma się krzywe absorpcji, jakie przykładowo przedstawiono na rysunku 1.6. Odczytane z wykresu wartości absorbancji A , przy długości fali, dla której ta absorbancja jest wielkością największą ($\lambda = 525$ nm) odpowiednio wynoszą: 0,2; 0,3; 0,4.



Rys. 1.6. Krzywe absorpcji manganianu(VII) potasu

Wyliczone wartości ϵ odpowiednio wynoszą:

$$\epsilon = 0,2 / 0,00010 \cdot 1 = 2000, \quad \epsilon = 2 \cdot 10^3;$$

$$\epsilon = 0,3 / 0,00015 \cdot 1 = 2000, \quad \epsilon = 2 \cdot 10^3;$$

$$\epsilon = 0,4 / 0,00020 \cdot 1 = 2000, \quad \epsilon = 2 \cdot 10^3;$$

Obliczono więc, że dla danego oznaczenia spektrofotometrycznego $\epsilon = 2 \cdot 10^3$ przy $\lambda = 525$ nm.

Jeżeli podaje się stężenie masowe, to mówimy o współczynniku absorpcji właściwej:

$$a_s = \frac{A}{\rho \cdot l} \quad (1.20)$$

Współczynnik absorpcji właściwej odpowiada absorbancji roztworu o stężeniu 1 g/l i grubości kuwety 1 cm.

Zależność między współczynnikiem absorpcji właściwej a molowym współczynnikiem absorpcji jest następująca:

$$a_s = \frac{\epsilon}{M} \quad (1.21)$$

gdzie M – masa molowa.

Czułość oznaczeń pierwiastków metodami spektrofotometrycznymi często porównuje się za pomocą absorpcji właściwej

$$a = \frac{\epsilon}{M \cdot 1000}. \quad (1.22)$$

Absorbancja właściwa jest to absorbancja roztworu oznaczanego pierwiastka o stężeniu $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, mierzona w kuwecie o grubości 1 cm .

1.1.3. Oznaczenia spektrofotometryczne

Przed przystąpieniem do ilościowych oznaczeń spektrofotometrycznych należy wybrać:

- metodę o dużej czułości i selektywności oznaczenia,
- sposób oznaczenia – metodę np. krzywej wzorcowej, dodawanego wzorca,
- odpowiednie stężenie oznaczanej substancji,
- analityczną długość fali.

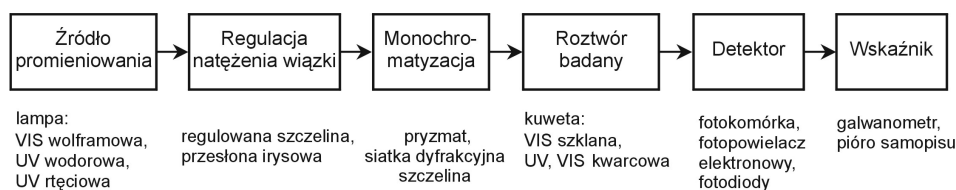
Analityczną długością fali, jest taka długość, przy której prowadzone jest oznaczenie, najczęściej przy A_{max} . Wybiera się ją na podstawie pomiarów absorbancji A danego roztworu przy różnych długościach fali λ . Z wykresu zależności A od λ odczytuje się długość fali, przy której występuje największa wartość absorbancji A , co obrazuje rysunek 1.6. Pomiar wykonany przy takiej długości fali odznaczają się największą dokładnością i czułością. Czasami, np. gdy roztworem odniesienia jest „ślepa próba” wykazująca dużą absorbancję, to oznaczenie ilościowe prowadzi się przy długości fali, przy której wpływ ślepej próby jest mały (mała wielkość absorbancji).

Stężenie oznaczanej substancji oraz roztwory wzorcowe należy tak dobrać aby otrzymać optymalny dla danego spektrofotometru zakres mierzonej absorbancji. Najczęściej wykorzystuje się do pomiarów, wykonywanych w spektrofotometrze punktowym, zakres absorbancji $0,2-0,8$.

Metodę – sposób oznaczenia dobiera się, uwzględniając liczbę analiz, stężenia różnych pierwiastków w badanej próbce, spodziewane stężenie oznaczanego pierwiastka w badanej próbce.

1.1.4. Budowa spektrofotometru UV, VIS

Spektrofotometr jest to przyrząd, w którym wykonuje się pomiary transmitancji i absorbancji w funkcji długości fali lub liczb falowych. Spektrofotometry są przystosowane do pomiarów ciał stałych, ciekłych i gazowych. Stosuje się spektrofotometry jednowiązkowe (w biegu tej samej wiązki promieniowania monochromatycznego wstawia się kolejno odnośnik i roztwór badany) i dwuwiązkowe (dwie wiązki promieniowania jednocześnie padają na roztwór odnośnika i roztwór badany). Do najważniejszych części spektrofotometrów należą: źródło promieniowania, monochromator, pomieszczenie na próbki, detektor promieniowania, układ pomiarowo-rejestrujący. Schemat blokowy spektrofotometru przedstawia rysunek 1.7.



Rys. 1.7. Schemat blokowy spektrofotometru

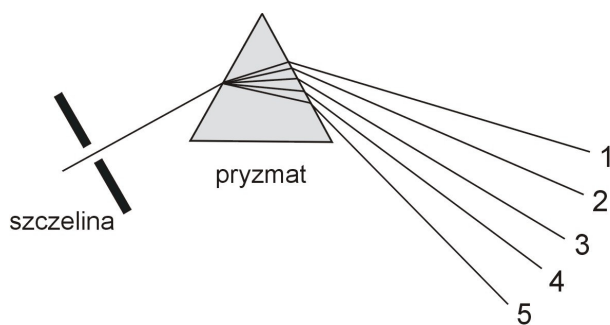
Źródło promieniowania

W zależności od stosowanego zakresu promieniowania (UV, VIS) stosuje się różne lampy. Zazwyczaj, do pomiarów z zakresie UV stosuje się lampę wodorową czy deuterową (zakres promieniowania 180-400,500 nm) lub ksenonową (zakres promieniowania 190-750 nm). Do pomiarów w zakresie VIS stosuje się lampę żarową wolframową (zakres promieniowania 350-3500 nm) lub halogenową.

Monochromator

Zadaniem monochromatora jest rozszczepienie wiązki promieniowania emitowanego przez źródło promieniowania i wyodrębnienie z otrzymanego widma, promieniowania o określonej – żądanej długości fali λ (światło monochromatyczne $\Delta\lambda \rightarrow 0$).

Monochromator składa się ze: szczeliny wejściowej, kolimatora zamieniającego wchodzącą wiązkę promieniowania na wiązkę równoległą, właściwego elementu rozszczepiającego, którym jest pryzmat lub siatka dyfrakcyjna, elementu ogniskującego rozszczepione promieniowanie, szczeliny wyjściowej. Jakość monochromatora charakteryzują parametry: dyspersja, zdolność rozdzielcza, szerokość spektralna.



Rys. 1.8. Rozszczepienie światła białego przez pryzmat

Na rysunku 1.8 przedstawiono schemat rozszczepienia promieniowania VIS na przykładzie pryzmatu typu Cornu.

Siatka dyfrakcyjna jest to wypolerowana płytka szklana lub metalowa z dużą ilością rys położonych obok siebie. Zasada działania siatek dyfrakcyjnych opiera się na wykorzystaniu zjawiska interferencji promieni ugiętych przy przechodzeniu przez wąskie szczeliny lub rysy o szerokości mniejszej niż długość fali padającego promieniowania. W zakresie UV stosuje się siatki o liczbie 1800-2400 rys/mm, a w zakresie VIS siatki o liczbie rys 600-1200 rys/mm.

Kuwety

Większość pomiarów spektrofotometrycznych przeprowadza się dla roztworów i próbek ciekłych, które w celu zmierzenia absorbancji umieszcza się w kuwetach.

W zakresie widzialnym stosuje się kuwety wykonane ze szkła kronowego i także te, które stosuje się w zakresie UV, tj. wykonane ze szkła kwarcowego (naturalnego lub syntetycznego).

Detektory fotoelektryczne

Zadaniem detektora jest zamiana energii świetlnej na energię elektryczną. Do detektorów fotoelektrycznych zalicza się fotokomórki, fotopowielacze, fotoogniwa, fotodiody. W nowszych aparatach dla zakresu UV, VIS stosowane są fotopowielacze i fotodiody (na ogół krzemowe, czułe w zakresie 400-1100 nm lub 200-1000 nm). Urządzeniem pomiarowym jest skala galwanometru lub rejestrator.

Najnowocześniejsze spektrofotometry, czwartej generacji, są aparatami w pełni skomputeryzowanymi, z zastosowaniem nowoczesnych elementów rozszczepienia i detekcji promieniowania, co umożliwia szybszy pomiar, o większej czułości.

1.2. Ćwiczenia laboratoryjne

1.2.1. Spektrofotometryczne oznaczanie manganu(VII) w postaci KMnO_4 metodą krzywej wzorcowej

Zasada oznaczenia

W spektrofotometrycznej metodzie oznaczenia manganu wykorzystuje się barwę jonu MnO_4^- . W obszarze widzialnym maksimum pochłaniania tego związku występuje przy długości fali $\lambda = 526 \text{ nm}$, $\epsilon = 2,4 \cdot 10^3 \text{ l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Krzywe absorpcji roztworu KMnO_4 przedstawiona jest na rysunku 1.6.

Roztwór wzorcowy: roztwór wzorcowy manganu o stężeniu $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ – zawiera $2,8766 \text{ g KMnO}_4$ w 1 litrze wody destylowanej (1 mg Mn/ml).

Sprzęt i aparatura

Sprzęt laboratoryjny dla grupy studenckiej 2-3 osobowej:

Kolba miarowa o pojemności 200 ml lub 250 ml – 2 szt.

Kolba miarowa o pojemności 100 ml – 6 szt.

Pipeta o pojemności 25 ml z podziałką – 1 szt.

Pipeta o pojemności 20 ml z podziałką – 1 szt.

Pipeta o pojemności 10 ml z podziałką – 1 szt.

Spektrofotometr Spekol, spektrofotometr SPECORD M40.

Wyznaczanie analitycznej długości fali

- a – przygotować roztwór o stężeniu manganu $0,1 \text{ mg ml}^{-1}$ przez 10-krotne, dokładne rozcieńczenie roztworu wzorcowego KMnO_4 (do kolby miarowej o pojemności 200 ml odmierzyć pipetą 20 ml roztworu wzorcowego, uzupełnić wodą destylowaną do kreski i wymieszać),
- b – pobrać 7,5 ml 10-krotnie rozcieńczonego roztworu KMnO_4 (roztwór $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) do kolby miarowej o pojemności 100 ml, uzupełnić wodą destylowaną do kreski, wymieszać,
- c – napełnić jedną kuwetę wodą destylowaną (odnośnik), a drugą przygotowanym roztworem manganianu(VII) potasowego,
- d – wykreślić widmo absorpcyjne manganianu(VII) w zakresie długości fal 470-580 nm na spektrofotometrze rejestrującym,
- e – wyznaczyć analityczną długość fali.

Przygotowanie roztworów do krzywej wzorcowej (krzywej kalibracyjnej)

Do kolbek miarowych o pojemności 100 ml odmierzyć kolejno: 5; 7,5; 10; 12; 15 i 20 ml roztworu KMnO_4 o stężeniu manganu $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Kolbki uzupełnić wodą destylowaną do kreski, roztwór wymieszać.

Wykonanie pomiarów do krzywej wzorcowej (krzywej kalibracyjnej)

Przy wyznaczonej uprzednio analitycznej długości fali zmierzyć absorbancję przygotowanych roztworów, stosując wodę jako roztwór odniesienia. Wykreślić na papierze milimetrycznym wykres krzywej kalibracyjnej w układzie współrzędnych: oś rzędnych – absorbancja A ; oś odciętych – stężenie manganu ρ , mg ml^{-1} (skalę tak należy dobrać aby wykres prostej był pod kątem zbliżonym do 45°).

Wykonanie oznaczenia

Otrzymane zadanie (badaną próbkę) w kolbie miarowej na 200 ml (lub 250 ml) rozcieńczyć wodą destylowaną do kreski. Zmierzyć absorbancję badanego roztworu, względem wody jako odnośnika, przy wyznaczonej analitycznej długości fali.

Obliczenie zawartości manganu

Z krzywej wzorcowej odczytać stężenie manganu w badanym roztworze. Obliczyć zawartość manganu (mg) w otrzymanym zadaniu:

$$m_{\text{Mn}} = \rho \cdot V$$

gdzie: ρ – zawartość manganu odczytana z krzywej wzorcowej,

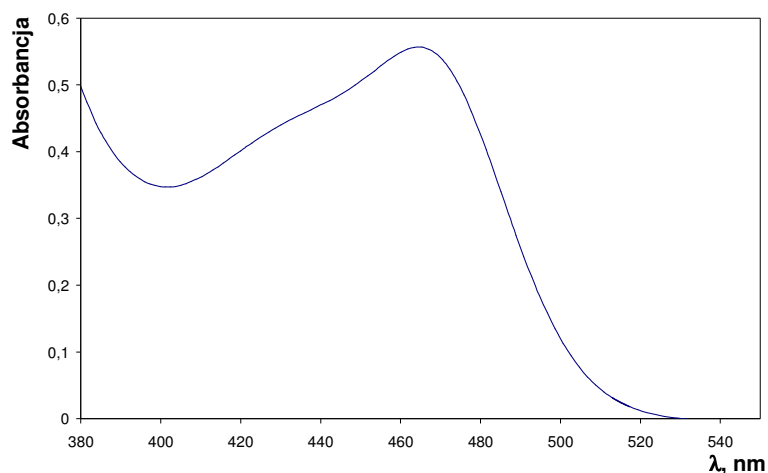
V – objętość kolby, z której wykonywano pomiar absorbancji (równa objętości kolby, w której otrzymano zadanie).

1.2.2. Spektrofotometryczne oznaczanie bizmutu(III) metodą dodawanego wzorca

Zasada oznaczenia

W metodzie wykorzystuje się powstawanie, w środowisku kwaśnym, żółto-pomarańczowego kompleksowego kationu, który tworzy bizmut – roztwór $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ z tiomocznikiem. Maksimum pochłaniania kompleksu $[\text{Bi}(\text{NH}_2\text{-CS-NH}_2)_3]^{3+}$ występuje przy długości fali $\lambda = 470 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 9,0 \cdot 10^3$

$1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Krzywa absorpcji barwnego kationu bizmutu z tiomocznikiem przedstawiona jest na rysunku 1.9.



Rys. 1.9. Krzywa absorpcji kationu $[\text{Bi}(\text{NH}_2\text{-CS-NH}_2)_3]^{3+}$

Podstawowy roztwór bizmutu:

Podstawowy roztwór $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$, zawierający 1mg Bi w 1ml, przygotowano przez rozpuszczenie 1,1290 g Bi_2O_3 w 40 ml HNO_3 (2:1) i uzupełnieniu wodą destylowaną do kreski w kolbie miarowej o pojemności 1 l.

Sprzęt i aparatura

Sprzęt laboratoryjny dla grupy studenckiej 2-3 osobowej:

Kolba miarowa o pojemności 250 ml – 1 szt.

Kolba miarowa o pojemności 100 ml – 1 szt.

Kolba miarowa o pojemności 50 ml – 3 szt.

Kolba stożkowa o pojemności 250 ml – 3 szt.

Pipeta o pojemności 25 ml – 2 szt.

Pipeta o pojemności 10 ml z podziałką – 2 szt.

Cylinder miarowy o pojemności 10 ml – 2 szt.

Spektrofotometr Spekol, spektrofotometr SPECORD M40.

Oznaczenie stężenia bizmutu – miareczkowanie roztworu podstawowego

Do 3 kolb stożkowych odmierzyć pipetą po 25 ml podstawowego roztworu $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$, dodać 4-5 kropli wskaźnika – 0,1% roztworu fioletu pirokatechinowego oraz około 75 ml wody destylowanej. Próbki należy miareczkować

0,01 M roztworem EDTA do zmiany barwy wskaźnika z niebieskiej na żółtą (jeżeli barwa roztworu jest fioletowa, to należy dodać amoniaku o stężeniu 2 mol/l, do zmiany barwy na niebieską).

Na podstawie wykonanych oznaczeń należy obliczyć stężenie bizmutu w roztworze podstawowym. Masa molowa bizmutu $208,98 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Przygotowanie roztworu wzorcowego bizmutu

Roztwór wzorcowy bizmutu przygotowuje się przez 10-krotne dokładne rozcieńczenie roztworu podstawowego bizmutu (10 ml roztworu podstawowego pobiera się pipetą i przenosi do kolby miarowej o pojemności 100 ml, a następnie uzupełnia wodą destylowaną do kreski).

Wykonanie oznaczenia bizmutu metodą dodawanego wzorca

Otrzymane zadanie (badaną próbkę) w kolbie miarowej o pojemności 250 ml uzupełnić wodą destylowaną do kreski i dokładnie wymieszać. W kolbach o pojemności 50 ml przygotować trzy roztwory o zawartości:

roztwór 1: 25 ml otrzymanego zadania, 5 ml HNO_3 (2M) i 10 ml roztworu tiomocznika,

roztwór 2: 25 ml otrzymanego zadania, 5 ml wzorcowego roztworu soli bizmutu, 5 ml HNO_3 (2M) i 10 ml roztworu tiomocznika,

roztwór 3: 25 ml otrzymanego zadania, 8 ml wzorcowego roztworu soli bizmutu, 5 ml HNO_3 (2M) i 10 ml roztworu tiomocznika.

Po uzupełnieniu wodą destylowaną do objętości 50 ml (do kreski), wymieszaniu roztworów, po upływie 5 minut należy zmierzyć absorbancję badanych roztworów w spektrofotometrze „Specol” przy długości fali 470 nm w kuwetach 1 cm, wobec wody destylowanej jako odnośnika.

Opracowanie wyników

Stężenie bizmutu w analizowanym roztworze wyznaczyć metodą graficzną $A = f(c_{\text{Bi}})$ oraz metodą obliczeniową.

Stężenie dodanego roztworu wzorcowego w przygotowanych roztworach 2 i 3 oblicza się z zależności:

$$c_w = c_{\text{obl.w}} \frac{V_{\text{dod.w}}}{V_x + w}$$

gdzie: $c_{\text{obl.w}}$ – stężenie roztworu wzorcowego (obliczone na podstawie miareczkowania roztworu podstawowego i rozcieńczone 10-krotnie),

- $V_{\text{dod.w}}$ – objętość dodanego roztworu wzorcowego (5 ml i 8 ml),
- $V_{\text{x+w}}$ – objętość roztworu, w którym mierzy się absorbancję (50 ml),
- c_w – stężenie dodatku w roztworze, w którym mierzy się absorbancję (w roztworze 2 i 3).

stąd stężenie dodatku c_w w przygotowanym roztworze 2 wynosi: $c_w = c_{\text{obl.w}} \cdot 5 \text{ ml}/50 \text{ ml}$, w roztworze 3 wynosi: $c_w = c_{\text{obl.w}} \cdot 8 \text{ ml}/50 \text{ ml}$

Następnie korzysta się z zależności, że stosunek absorbancji roztworu badanego (A_x) i roztworu badanego z dodatkiem znanej ilości wzorca ($A_{\text{x+w}}$) jest równy stosunkowi stężeń substancji w obu roztworach

$$\frac{A_x}{A_{\text{x+w}}} = \frac{c_x}{c_x + c_w} \quad \text{stąd oblicza się:} \quad c_x = c_w \frac{A_x}{A_{\text{x+w}} - A_x}$$

gdzie: A_x – absorbancja roztworu badanego,

$A_{\text{x+w}}$ – absorbancja roztworu badanego z dodatkiem znanej ilości wzorca c_w ,

c_x – nieznane stężenie substancji oznaczanej,

c_w – stężenie dodatku w roztworze, w którym mierzy się absorbancję.

Podać zawartość bizmutu (mg) w próbce otrzymanej do analizy.

Metodą graficzną można wyznaczyć stężenie bizmutu w badanej próbce wykreślając w układzie współrzędnych: oś rzędnych absorbancja (A), oś odciętych stężenie roztworu wzorcowego (mg/ml). Na osi rzędnych zaznacza się absorbancję A_x (absorbancję roztworu 1 – bez dodanego wzorca, stężenie roztworu wzorcowego 0), następnie zaznacza się absorbancję roztworu 2 w zależności od stężenia roztworu wzorcowego (obliczone $c_w = c_{\text{obl.w}} \cdot 5 \text{ ml}/50 \text{ ml}$), po czym zaznacza się absorbancję roztworu 3 w zależności od stężenia roztworu wzorcowego w tym roztworze 3 (obliczone $c_w = c_{\text{obl.w}} \cdot 8 \text{ ml}/50 \text{ ml}$). Otrzymane punkty łączy się i przedłużając prostą do przecięcia się z osią stężenia odczytuje się stężenie oznaczanego pierwiastka, a następnie oblicza ilość bizmutu w badanej próbce (mg):

$$m_{\text{Bi}} = c_x \cdot 50 \text{ ml} \cdot \frac{250 \text{ mL}}{25 \text{ mL}}$$

Literatura

- [1] **Cygański A.:** Metody spektroskopowe w chemii analitycznej, WNT Warszawa 2009.
- [2] **Ewing G.W.:** Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN Warszawa 1980.

- [3] **Marczenko Z., Balcerzak M.:** Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej, PWN Warszawa 1998.
- [4] **Minczewski J., Marczenko Z.:** Chemia analityczna, tom 3, PWN Warszawa 1985.
- [5] **Nowicka-Jankowska T., Wieteska E., Gorczyńska K.:** Spektrofotometria UV/VIS w analizie chemicznej, PWN Warszawa 1988.
- [6] **Szczepaniak W.:** Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN Warszawa 2007.