

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo
Katedra za analizno kemijo

Praktikum iz instrumentalnih metod analize

za univerzitetni študijski program
KEMIJSKO INŽENIRSTVO

2. letnik

Drugi del

2011/2012

Kazalo

6. Določitev kalcija in železa v elektrofiltrskem pepelu	3
7a. Določitev vode v tekočih vzorcih	7
7b. Določitev arzena v grodlju	10
7c. Določitev vitamina B2 v pivu	14
8. Določitev ftalatov vodi	16
9. Določitev saharina in benzamida v nikljevi kopeli	19
10. Določitev fluorida v ustni vodici	25

6. Določitev kalcija in železa v elektrofiltrskem pepelu

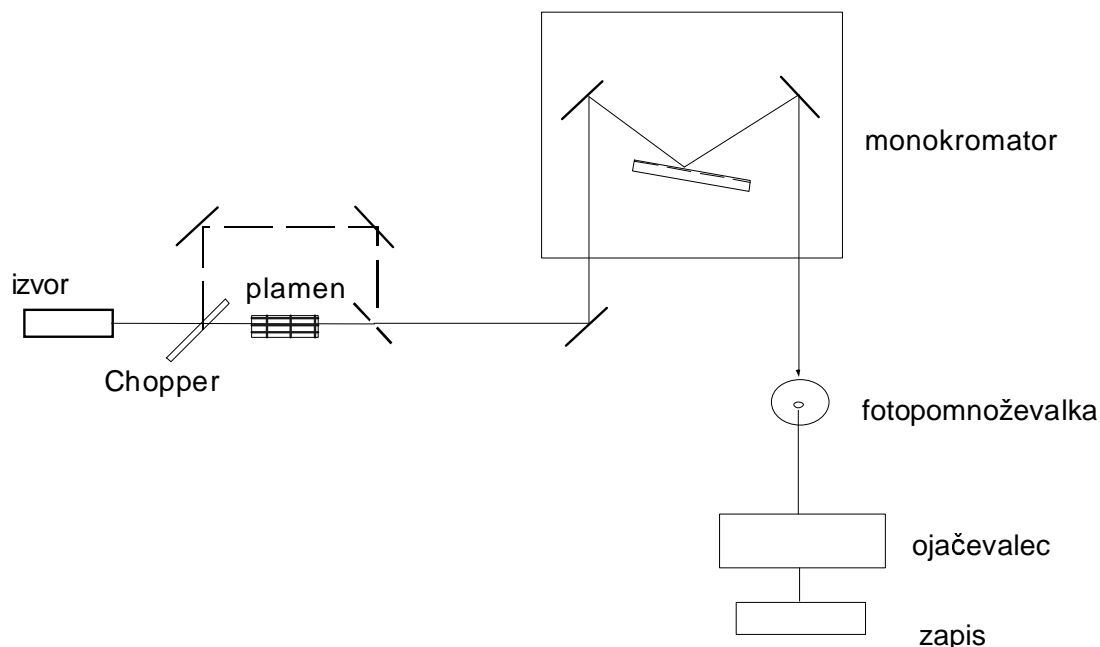
Pri atomski absorpcijski spektrometriji (AAS) prosti nevzbujeni atomi absorbirajo svetlobo in prehajajo v vzbujeno stanje. Valovna dolžina absorbirane svetlobe ustreza energetskega prehodu iz osnovnega v vzbujeno stanje. Vir svetlobe mora zato sevati svetlobo iste valovne dolžine. Energetska razlika med osnovnim in vzbujenim stanjem je značilna za posamezen element, zato lahko uporabljamo valovno dolžino absorbirane svetlobe za identifikacijo prisotnega elementa (kvalitativna analiza). Iz deleža absorbirane svetlobe lahko določimo koncentracijo elementa v raztopini (kvantitativna analiza).

Absorbanca (A) je podobno kot pri molekularni absorpcijski spektrometriji linearno sorazmerna s koncentracijo elementa v plamenu in s tem tudi v raztopini:

$$A = k \cdot c,$$

kjer je k konstanta in c koncentracija elementa v vzorcu. Koncentracijo elementa lahko določimo z metodo umeritvene krivulje ali metodo standardnega dodatka.

Aparatura za atomsko absorpcijsko spektrometrijo je sestavljena iz izvora svetlobe, generatorja atomov, monokromatorja in detektorja z ustrežno elektroniko (slika 10).



Slika 10: Shema atomskega absorpcijskega spektrometra

Pri plamenski AAS vzorec razpršujemo v plamen, kjer se atomizira - elementi so v atomarni obliki in v plinastem stanju. Atomi so ločeni drug od drugega in med njimi ni dodatnih interakcij. Za plamen največ uporabljamo mešanice acetilen - zrak in acetilen - didušikov(I) oksid. Slednji ima relativno visoko temperaturo in je zato primeren za spojine, ki tvorijo termično stabilne okside in druge spojine.

Kot izvor svetlobe navadno uporabljamo žarnice z votlo katodo, za nekatere elemente (Na, K, Rb, Cs) navadne spektralne žarnice, v zadnjih letih pa tudi visokofrekvenčne žarnice brez elektrod. Žarnice z votlo katodo so napolnjene z inertnim plinom (Ne ali Ar), anoda je iz volframa, na katodi pa je naperjen element, ki ga določamo. Za vsak element tako potrebujemo ločeno žarnico. Svetloba iz žarnice prehaja skozi plamen, kjer atomi elementa, ki ga določamo, absorbirajo svetlobo karakteristične valovne dolžine. Za plamenom je postavljen monokromator, ki odstrani svetlobo plamena. Detektor tako zazna le svetlobo tiste valovne dolžine, ki jo uporabljamo za merjenje absorbanca določenega elementa.

Motnje v atomski spektrometriji so lahko spektralne, fizikalne in kemijske. Medtem ko so prve redkejšje in jih povzročajo predvsem superpozicije absorpcijskih in emisijskih črt oz. trakov, so fizikalne in kemijske motnje bolj pogoste, vendar se lahko izognemo njihovem vplivu na pravilnost rezultata s pravilno pripravljenimi kalibracijskimi raztopinami in z izbiro ustreznih eksperimentalnih pogojev.

Fizikalne motnje povzročajo razlike v fizikalnih lastnostih raztopin, vplivajo pa na procese pri nastanku aerosola in na temperaturo plamena.

Kemijske motnje povzročajo že prej opisane reakcije, ki vplivajo na spremembe ravnotežij v plamenu ter s tem na nepopolno atomizacijo in znižanje absorpcijskega signala. Tovrstne interference so zlasti značilne za snovi z močnimi ionskimi vezmi. Tako npr. prisotnost sulfata ali fosfata močno zmanjša absorpcijski signal kalcija zaradi afinitete med kalcijem in fosfatom oziroma sulfatom. Pri teh pogojih se zmanjša število prostih atomov kalcija v plamenu. Vplive sulfata oziroma fosfata lahko znatno zmanjšamo z dodatkom lantanovih ionov, ki vežejo fosfatne oziroma sulfatne ione ter tako sproščajo kalcijeve, omilimo pa jih tudi z uporabo metode standardnega dodatka.

Eksperimentalni del

- Snemanje emisijskega spektra kalcijeve žarnice z votlo katodo
- Določitev vsebnosti Ca in Fe v elektrofiltrskem pepelu z metodo umeritvene krivulje
- Določitev vsebnosti Ca in Fe v elektrofiltrskem pepelu z metodo standardnega dodatka
- Odstranitev vpliva morebitnih interferenc

a) Reagenti

dušikova(V) kislina (1+1)

standardna raztopina Fe s koncentracijo 1 mg/mL

standardna raztopina Ca s koncentracijo 1 mg/mL

5 % raztopina LaNO₃

b) Priprava vzorca

V 150 mL čašo zatehtajte 0,1 g vzorca, dodajte 40 mL HNO₃ (1+1) in previdno segrevajte, da odparite polovico volumna kisline. Raztopino filtrirajte skozi filtrirni papir z oznako beli trak v 100 mL merilno bučko. Oborino sperite z vročo deionizirano vodo. Raztopino v bučki ohladite in razredčite do oznake z deionizirano vodo. Pred meritvijo vzorec dodatno razredčite in sicer za merjenje kalcija 1 mL raztopine v 50 mL in za železo 5 mL v 50 mL bučko.

c) Priprava raztopin za umerjanje z metodo umeritvene premice

V 100 mL bučke pripravite raztopine Fe in Ca z naslednjimi koncentracijami:

Fe: 2, 4, 6, 8 µg/mL

Ca: 1, 2, 3, 4 µg/mL

Kalibracijske raztopine pripravite iz osnovnih standardnih raztopin Fe in Ca s koncentracijama 1 mg/mL in deionizirane vode.

d) Priprava raztopin za umerjanje z metodo standardnega dodatka

Kalcij

V tri 50 mL bučke odpipetirajte po 1 mL raztopine vzorca iz 100 mL bučke. Nato dodajte take volumne osnovne standardne raztopine kalcija, da bodo po razredčenju do oznake koncentracije dodanega kalcija 1, 2 in 3 µg/mL. Z deionizirano vodo razredčite do oznake.

Železo

V tri 50 mL bučke odpipetirajte po 5 mL raztopine vzorca iz 100 mL bučke. Nato dodajte take volumne osnovne standardne raztopine železa, da bodo po razredčenju do oznake koncentracije dodanega železa 2, 4 in 6 µg/mL. Z deionizirano vodo razredčite do oznake.

e) Snemanje emisijskega spektra kalcijeve žarnice z votlo katodo in merjenje absorbanc

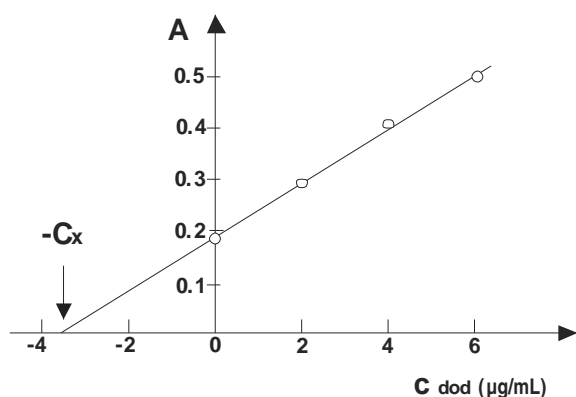
Posnemite emisijski spekter kalcijeve žarnice z votlo katodo in določite valovno dolžino za merjenje absorbance kalcija. Valovno dolžino za merjenje absorbance železa odčitajte s tabele. Izmerite absorbance za vse pripravljene raztopine.

Določite vsebnost Ca in Fe z metodo umeritvene premice in metodo standardnega dodatka (grafični način, prikazan na sliki 11). Primerjajte obe metodi in ocenite, ali imate v vzorcu prisotne interference.

f) Odprava interferenc

Za element, pri katerem ste opazili prisotnost interferenc, ponovite točke od b) do d) na tak način, da odpravite njihov vpliv: vsem končnim raztopinam, za katere boste izmerili absorbanco, pred razredčenjem do oznake dodajte 5 mL 5 % LaNO₃.

Raztopina	Konc. dodanega standarda Fe po razredčenju ($\mu\text{g/mL}$)	A
5 mL vzorca razredčimo na 50 mL (konc. Fe po razredčenju je c_x)	0	0,191
5 mL vzorca + 1 mL stand. razt. Fe s konc. $100 \mu\text{g/mL}$ razredčimo na 50 mL	2	0,295
5 mL vzorca + 2 mL stand. razt. Fe s konc. $100 \mu\text{g/mL}$ razredčimo na 50 mL	4	0,408
5 mL vzorca + 3 mL stand. razt. Fe s konc. $100 \mu\text{g/mL}$ razredčimo na 50 mL	6	0,498



$$-c_x = -3,73 \mu\text{g/mL}$$

$$c_x = 3,73 \mu\text{g/mL}$$

$$c_{vz} = 50/5 \cdot 3,73 \mu\text{g/mL} = 37,3 \mu\text{g/mL}$$

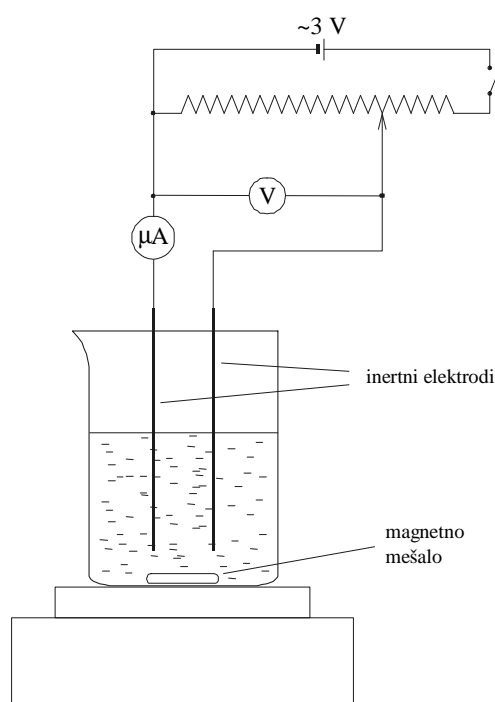
Slika 11: Metoda standardnih dodatkov – primer grafičnega načina določitve.

Poročilo naj vsebuje:

- umeritveno krivuljo - odvisnost absorbance od koncentracije Fe in Ca (na milimetrskem papirju ali v programu Excel),
- grafa za Ca in Fe po metodi standardnih dodatkov,
- emisijski spekter kalcijeve žarnice z votlo katodo in podatek o izbranih valovnih dolžinah za merjenje absorbance Ca in Fe,
- oceno o prisotnih interferencah,
- izračun masnih deležev Fe in Ca v vzorcu (v %) za oba načina umerjanja (umeritvena krivulja in standardni dodatek),
- izračun vsebnosti elementa po odpravi interferenčnih vplivov (umeritvena krivulja in standardni dodatek).

7a. Določitev vode v tekočih vzorcih

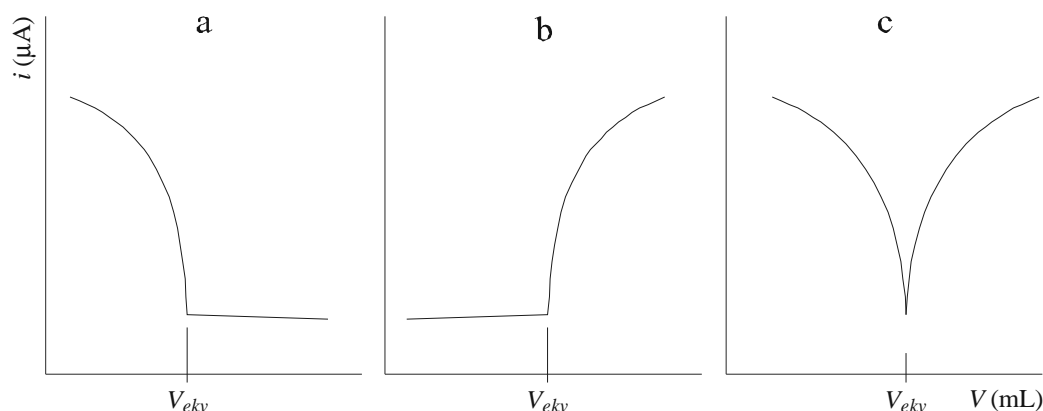
Titracije z amperometrično indikacijo z dvema polariziranimi elektrodama, imenovane tudi dead-stop titracije, so zaradi enostavne instrumentacije in natančnosti pri določitvi končne točke titracije posebno zanimive. Aparatura je shematsko predstavljena na sliki 12. V raztopino sta potopljeni dve enaki inertni elektrodi z majhno površino, največkrat iz platine. Med njima vzpostavimo neko majhno napetost (10 do največ 100 mV), tako da sistem elektrod ne prevaja toka, razen v primeru, ko v raztopini obstaja reverzibilen redoks par.



Slika 12: Shema aparature za biamperometrično titracijo.

Poglejmo primer titracije Fe^{+2} s $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$. Med elektrodama teče majhen tok le tako dolgo, dokler sta v raztopini prisotna tako Fe^{+3} kot Fe^{+2} . Ko je titracija končana in je porabljen ves Fe^{+2} , tok skozi sistem preneha teči (od tod tudi izhaja ime dead-stop titracija), ker je redukcija dikromata ireverzibilna reakcija. Primer titracijske krivulje je prikazan na sliki 13a.

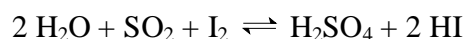
Obraten primer je titracija $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ s standardno raztopino Fe^{+2} . Tok skozi raztopino ne teče, vse dokler ne dodamo presežka Fe^{+2} , s čimer je v raztopini vzpostavljen reverzibilen redoks par (slika 13b). Tretji primer titracijske krivulje je titracija Fe^{+2} s Ce^{+4} . Tako pred ekvivalentno točko kot po njej je v raztopini prisoten reverzibilen par, najprej $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$, nato $\text{Ce}^{+3}/\text{Ce}^{+4}$ in tok teče ves čas titracije, razen v ekvivalentni točki, ko sta v raztopini prisotna zgolj Fe^{+3} in Ce^{+3} (slika 13c).



Slika 13: Primeri titracijskih krivulj pri biamperometričnih titracijah.

Pomemben postopek za določevanje vsebnosti vode v snoveh je biamperometrična titracija po postopku Karl-Fischer. Karl-Fischerjev reagent vsebuje jod (oksidant), žveplov dioksid (reducent) in organsko bazo (označimo z B), ki so raztopljeni v alkoholu (označimo z ROH). Pred leti sta bila v uporabi piridin (B) in metanol (ROH), večina današnjih reagentov pa vsebuje imidazol (B) in dietilenglikol monometil eter (ROH).

Jod oksidira žveplov dioksid le v prisotnosti vode:

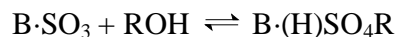


Reakcija je ravnotežna in poteka tudi z desne proti levi, vendar šele ko koncentracija žveplove(VI) kisline preseže 0,05 %. Ko je v vzorcu porabljena vsa voda, je v raztopini prisoten reverzibilen redoks par I_2/I^- in tok med elektrodama steče. Titracijska krivulja je enaka primeru na sliki 2b.

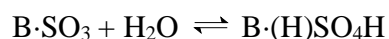
V praksi se pokaže, da se za redukcijo enega mola joda ne porabita dva mola vode, temveč se pod optimalnimi pogoji vzpostavi stehiometrično razmerje 1:1. Pri tem odločilno vlogo igra prisotnost organske baze (imidazola). Spremenjeno stehiometrijo razlagamo z naslednjo reakcijo, v kateri zaradi presežka baze nastopajo njeni adukti:



in dalje:



Namesto alkohola lahko v spodnji reakciji nastopa tudi voda:



kar preprečimo z velikim presežkom alkohola v sistemu. Ker v reakciji redukcije joda vodo deloma lahko nadomesti molekula alkohola, ima pripravljena titrna raztopina omejen rok uporabe, saj ji titer zlagoma pada, zato ga moramo pred vsako uporabo določiti eksperimentalno.

Tipične vrednosti titra so 2-5 mg vode na mililiter reagenta. Določamo ga od nekajkrat dnevno do nekajkrat tedensko s titracijo znane množine vode ali trdnega vzorca z znano množino kristalno vezane vode (običajno je to natrijev tartrat dihidrat).

Končno točko titracije lahko določimo na več načinov, pri vseh se zanesemo na detekcijo presežka joda oziroma njegovega imidazolskega adukta, ko se porabi vsa voda. Ta je temno rjave barve, tako da lahko že s prostim očesom prehod zaznamo relativno natančno, a v najboljšem primeru na $\pm 0,2$ mL. Največkrat, tudi v primeru popolnoma avtomatiziranih aparatov, pa gre za titracije z biamperometrično indikacijo. Nekateri dead-stop titratorji delujejo tako, da kažejo tok pri titraciji po Karl-Fischerju pred dosego končne točke, po njej pa je tok nič, kar je sicer ravno obratno od dejanskega dogajanja, olajša pa odločitev o koncu titracije.

Ekperimentalni del

- Določitev titra reagenta po Karl-Fischerjevem postopku
- Določitev vsebnosti vode v tekočem vzorcu

a) Reagenti

Karl-Fischerjev reagent
metanol

b) Določitev titra reagenta po Karl-Fischer postopku

V titracijsko celico, kjer je metanol (kazalec titratorja je na ničli), nakapajte 3-4 kapljice vode iz plastičnega kapalnika. Maso kapljic določite z diferenčnim tehtanjem. Titrirajte, dokler kazalec titratorja ponovno ne obstane na ničli. Titracijo trikrat ponovite.

c) Določitev vsebnosti vode v tekočem vzorcu

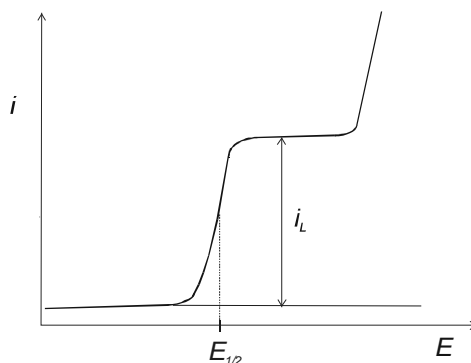
V pripravljeno titracijsko celico odpipetirajte 5 mL vzorca. Počakajte minuto in titrirajte. Postopek trikrat ponovite.

Poročilo naj vsebuje:

- izračun povprečnega titra (v mg H₂O / mL reagenta),
- izračun posameznih vsebnosti vode v tekočem vzorcu (v mg H₂O / mL vzorca) in njihovo povprečje.

7b. Določitev arzena v grodlju

Voltametrične metode so osnovane na merjenju tokovno-napetostne odvisnosti (spreminjamo napetost in merimo tok). Na sliki 14 je prikazan primer tokovno-napetostne krivulje.



Slika 14: Tokovno-napetostna krivulja (polarografski val); $E_{1/2}$ - polvalni potencial, i_L - limitni difuzijski tok.

Pri voltametričnih meritvah običajno uporabljamo trielektrodni sistem: indikatorsko, referenčno in pomožno elektrodo. Na indikatorski elektrodi poteka oksidacija ali redukcija analita. Na pomožni elektrodi poteka druga polovica redoks procesa. Velika večina toka v raztopini teče med indikatorsko in pomožno elektrodo. Potencial referenčne elektrode je med merjenjem konstanten in neodvisen od sestave raztopine v celici. Napetost na indikatorski elektrodi uravnavamo glede na referenčno elektrodo.

Poglejmo si primer, ko na indikatorski elektrodi poteka redukcija kationov analita. Pri majhni napetosti teče majhen tok, ki mu pravimo osnovni tok. Z večanjem negativne napetosti se začnejo kationi analita na indikatorski elektrodi reducirati, zato skozi celico steče tok (na anodi poteka oksidacija). Jakost toka se z nadaljnjim večanjem napetosti povečuje. Koncentracija kationov analita se ob indikatorski elektrodi zmanjšuje. Če želimo, da reakcija poteka, morajo kationi iz raztopine prihajati do elektrode, kar lahko poteka na več načinov:

- z mešanjem raztopine (konvekcijski tok),
- z gibanjem proti površini elektrode zaradi električnega polja med obema elektrodama (migracijski tok),
- zaradi razlik med koncentracijo ionov v raztopini in na površini elektrode (difuzija).

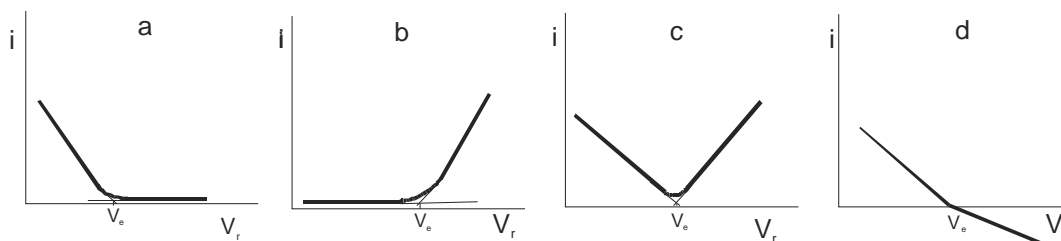
Kadar ioni analita potujejo zgolj z difuzijo, velja, da je limitni difuzijski tok (i_L) linearno sorazmeren s koncentracijo analita (c):

$$i_L = k \cdot c.$$

Da dosežemo take pogoje, raztopine ne mešamo, migracijski tok pa preprečimo z dodatkom nosilnega elektrolita.

Pri dovolj negativni napetosti se vsi kationi, ki dospejo do elektrode, takoj reducirajo, zato je njihova koncentracija v bližini elektrode enaka nič. Z nadaljnjim povečevanjem negativne napetosti se tok ne povečuje več. Tokovno-napetostna krivulja se izravna – dobimo plato (stopnico).

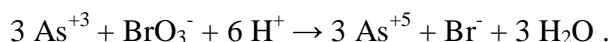
Pri amperometriji, ki sodi v skupino voltametričnih metod, je napetost na indikatorski elektrodi konstantna. Napetost izberemo v območju limitnega toka, kjer je tok linearno sorazmeren koncentraciji. Od amperometričnih tehnik se največ uporabljajo titracije z amperometrično določitvijo končne točke, uporabljamo pa jih takrat, kadar je potrebna velika točnost določitve, vsaj ena izmed komponent pa je elektroaktivna. Jakost limitnega toka merimo po vsakem dodatku reagenta, s katerim titriramo. Titracijske krivulje imajo značilne prelome v ekvivalentni točki. Njihova oblika je odvisna od elektrokemijskih lastnosti zvrsti, ki jih določamo, reagenta in vsiljene napetosti (slika 15).



Slika 15: Primeri titracijskih krivulj pri amperometričnih titracijah:

- analit se reducira/oksidira,
- reagent se reducira/oksidira,
- analit in reagent sereducirata/oksidirata,
- analit se reducira, reagent pa oksidira, ali pa obratno.

Na vajah boste določili vsebnost arzena v grodlju. As^{+3} titriramo z raztopino bromata. V kislem poteka naslednja redoks reakcija:

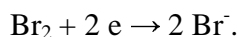


Končno točko titracije lahko določimo potenciometrično ali amperometrično. Pri amperometričnem načinu, ki ga boste uporabili na vajah, v raztopino vzorca pred titracijo

dodamo presežek Br^- ionov. Na začetku titracije tok ne teče. Po ekvivalentni točki presežni BrO_3^- ioni reagirajo s Br^- ioni, pri čemer nastaja brom:



Nastali Br_2 se na indikatorski elektrodi reducira (na elektrodi je nastavljen primeren potencial za redukcijo Br_2), zato tok steče:



Eksperimentalni del

- Titracija standardne raztopine As^{3+} s standardno raztopino KBrO_3
- Določitev vsebnosti arzena v grodlju

a) Reagenti

dušikova(V) kislina (1+1)
mešanica žveplave(VI) in fosforne(V) kisline (1:2)
mravljinčna kislina
klorovodikova kislina (koncentrirana)
nasičena raztopina ZnCl_2
KBr
hidrazinsulfat
standardna raztopina KBrO_3 s konc. 0,00167 mol/L
standardna raztopina As^{3+} s konc. 1 mg/mL

b) Priprava vzorca

Približno 3 g vzorca natehtajte v destilacijsko bučo. Skozi lij postopoma dolivajte 30 mL dušikove(V) kisline (1+1). Ko se začetna burna reakcija umiri, raztopino vzorca segrevajte 15 minut na majhnem plamenu. Nato raztopino ohladite, dodajte steklene kroglice in 15 mL mešanice žveplene in fosforne kisline. Raztopino ponovno močno segrejte in pričnite dodajati mravljinčno kislino po kapljicah, da razkrojite presežek dušikove(V) kisline - do pojava brezbarvne pare. Po končani reakciji raztopino ohladite. Dodajte 10 mL ZnCl_2 in 10 mL konc. HCl, sperite lij s čim manj vode, dodajte 1 g KBr in toliko hidrazinsulfata, kolikor je bila zatehta vzorca (s hidrazinsulfatom arzen reduciramo do As^{+3}). Sestavite aparaturo za destilacijo. V visoko 150 mL čašo nalijte 10 mL deionizirane vode in vanjo predestilirajte arzen v obliki AsCl_3 . Destilacijo končajte, ko dosežete temperaturo med 130 in 135 °C. Destilatu dodajte še 10 mL konc. HCl.

c) Titracija standardne raztopine As^{3+} s standardno raztopino KBrO_3

Da bi preverili stehiometrično razmerje med As^{3+} in BrO_3^- , titrirajte standardno raztopino As^{3+} s standardno raztopino KBrO_3 . V 150 mL čašo odpipetirajte 1 mL standardne raztopine As^{3+} s koncentracijo 1 mg/mL, dodajte približno 60 mL deionizirane vode in 10 mL konc. HCl. Čašo postavite na mešalnik ter v raztopino potopite dve platinasti elektrodi in referenčno elektrodo (SCE). Raztopino med mešanjem titrirajte s standardno raztopino KBrO_3 s koncentracijo 0,00167 mol/L. Dodajajte po 0,2 mL reagenta, po vsakem dodatku počakajte, da se tok ustali, in ga odčitajte. Ko bodo vrednosti odčitane toka začele naraščati, dodajte vsaj še 6 dodatkov reagenta. Narišite titracijsko krivuljo. Skozi ravne dele krivulje načrtajte dve premici (kot na sliki 15b) in odčitajte končni volumen reagenta. Izračunajte stehiometrijsko (množinsko) razmerje med As^{3+} in BrO_3^- .

d) Določitev vsebnosti arzena

Na enak način kot standardno raztopino arzena titrirajte tudi destilat in določite vsebnost arzena v vzorcu.

Poročilo naj vsebuje:

- titracijsko krivuljo – tok v odvisnosti od volumna dodanega KBrO_3 (na milimetrskem papirju ali v programu Excel) ter določitev končne točke za standardno raztopino arzena,
- titracijsko krivuljo – tok v odvisnosti od volumna dodanega KBrO_3 ter določitev končne točke za destilat,
- izračun stehiometrijskega razmerja med As^{3+} in BrO_3^- ,
- izračun masnega deleža arzena v vzorcu (v %).

7c. Določitev vitamina B2 v pivu

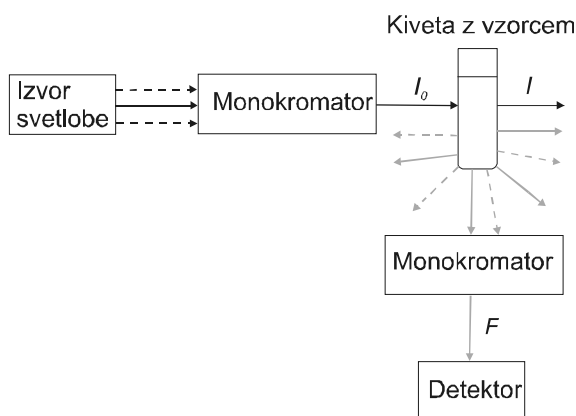
Pri vzbujanju molekul s svetlobo le-te preidejo iz osnovnega v vzbujeno stanje, ki je nestabilno, zato molekule težijo k relaksaciji v osnovno stanje. Pri tem morajo oddati odvečno energijo. Večina molekul odda odvečno energijo v obliki toplote. Pri nekaterih molekulah pa se del energije odda v obliki toplote, pri čemer preidejo v vmesno metastabilno stanje, od koder se relaksirajo do osnovnega stanja z oddajanjem svetlobe. Pojav imenujemo fluorescenca.

Za raztopine z nizko koncentracijo analita velja, da je intenziteta fluorescence linearno sorazmerna koncentraciji analita in intenziteti vzbujevalne svetlobe. Če so vsi eksperimentalni parametri konstantni, velja zveza:

$$F = k \cdot c$$

pri čemer je F intenziteta fluorescence, k je konstanta, c pa koncentracija analita. Pri višjih koncentracijah zveza ni več linearna, saj molekule analita znatno absorbirajo emitirano svetlobo (samoabsorpcija).

Aparatura za molekulsko fluorescenčno spektroskopijo je sestavljena iz izvora svetlobe, monokromatorja za izbiro valovne dolžine vzbujevalne svetlobe, kivete, monokromatorja za izbiro valovne dolžine fluorescirane svetlobe in detektorja. Intenziteto fluorescence merimo pod kotom 90° glede na vpadni žarek.



Slika 16: Shema aparature za molekulsko fluorescenčno spektroskopijo.

Selektivnost pri molekularni fluorescenčni spektroskopiji dosežemo z izbiro primerne valovne dolžine vzbujevalne in emitirane svetlobe. Intenziteta fluorescence je odvisna od eksperimentalnih pogojev in kemijske oblike, v kateri se analit nahaja.

Eksperimentalni del

- Določitev vsebnosti vitamina B2 (riboflavina) v pivu

a) Reagenti

standardna raztopina riboflavina s konc. 50 µg/mL
ocetna kislina (5 %)

b) Določitev vsebnosti vitamina B2

V pet 25 mL bučk odpipetirajte ustrezen volumen standardne raztopine riboflavina s konc. 50 µg/mL za pripravo standardnih raztopin s koncentracijami 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 in 1 µg/mL. Do oznake razredčite s 5 % očetno kislino.

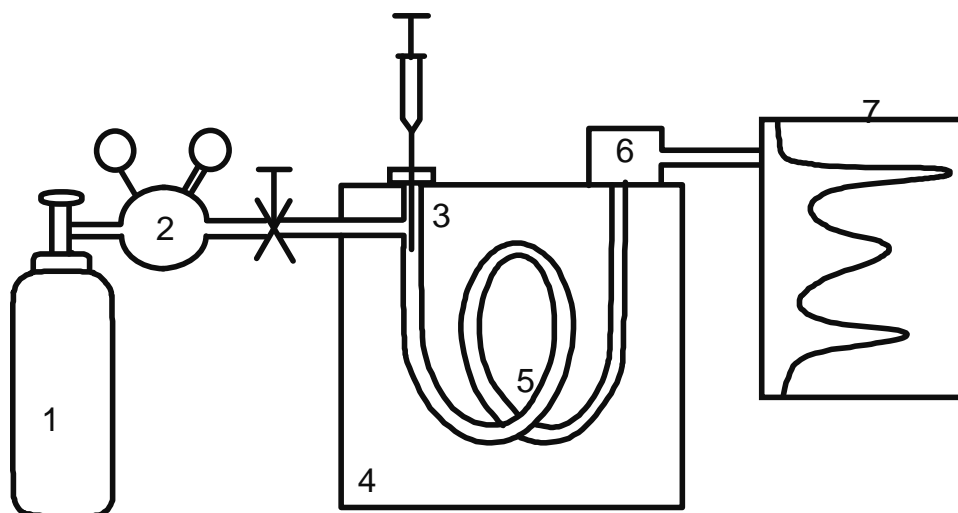
Vzorec piva 10-krat razredčite s 5 % očetno kislino (v 25 mL bučki). Valovno dolžino vzbujevalne svetlobe nastavite na 430 nm, intenziteto fluorescence pa merite pri 480 nm. Določite koncentracijo vitamina B2 v vzorcu.

Poročilo naj vsebuje:

- umeritveno premico - odvisnost intenzitete fluorescence od koncentracije riboflavina,
- izračun vsebnosti riboflavina v pivu (v µg/mL).

8. Določitev ftalatov v vodi

Plinska kromatografija je separacijska tehnika, pri kateri kot mobilno fazo uporabljamo nosilni plin, običajno He ali N₂. Spojine, ki jih ločujemo s plinsko kromatografijo, morajo biti termično stabilne in imeti ustrezen parni tlak, saj poteka ločitev v plinski fazi. Na sliki 17 je prikazana shema plinskega kromatografa.



Slika 17. Shema plinskega kromatografa (1-nosilni plin, 2 ventil, 3-injektor, 4-kromatografska pečica, 5-separacijska kolona, 6-detektor, 7- računalnik/rekorder)

Kromatografska kolona je običajno kvarčna kapilara dolžine nekaj deset metrov (tipično 30 ali 60 m), ki ima na notranji steni kemijsko nanešen tanek film stacionarne faze. Spojine se na koloni ločijo zaradi različnega porazdeljevanja med stacionarno fazo in nosilnim plinom. Stacionarna faza je lahko nepolarna (npr. na osnovi polisiloksana) ali polarna (npr. poliglikoli). Izberemo jo glede na lastnosti spojin, ki jih želimo ločevati; tako bomo za nepolarne spojine izbrali nepolarno stacionarno fazo, za polarne pa polarno.

Ločbo pri plinski kromatografiji lahko dosežemo z izotermnimi pogoji (kromatografsko kolono ves čas analize termostatiramo na enaki temperaturi) ali bolj običajno s temperaturnim programom (med analizo spreminjamo temperaturo kromatografske kolone, da dobimo optimalno ločbo).

Spojine po separaciji določimo z enim od detektorjem. Najbolj univerzalni je plamensko ionizacijski detektor (FID – Flame Ionisation Detector), kjer po analizi spojine zažgemo in merimo ionski tok, ki pri tem nastane. Pogosto uporabljeni so še detektor na zajetje elektronov

(ECD – Electrone Capture Detector), detektor na toplotno prevodnost (TCD - Thermal Conductivity Detector), dušik-fosforjev detektor (NPD – Nitrogen Phosphorous Detector) in masnospektrometrični detektor (MS).

Ftalati so estri ftalne kisline (1,2-benzendikarboksilne kisline). Uporabljajo se predvsem kot mehčalci v različnih polimernih materialih (plastiki), kot topila v kozmetični industriji in v drugih proizvodih (otroške igrače, vrečke...). V okolje sorazmerno lahko prehajajo, saj v polimernih materialih niso kemično vezani, ampak so dodani kot dodatki. Študije kažejo, da so nekateri od njih kancerogeni, poškodujejo lahko jetra, pljuča, ledvice, delujejo pa tudi kot motilci endokrinega sistema.

Eksperimentalni del

- Priprava standardnih raztopin dibutil ftalata (DBP) in dioktil ftalata (DOP) za umeritveni premici in določitev kromatografskih parametrov
- Določitev izkoristka ekstrakcije tekoče-tekoče
- Določitev vsebnosti ftalatov v vzorcu z metodo umeritvene krivulje
- Določitev vsebnosti ftalatov v vzorcu z metodo standardnega dodatka – grafični način

a) Reagenti

standardna raztopina dibutil ftalata (prib. 1 mg/mL)
standardna raztopina dioktil ftalata (prib. 1 mg/mL)
heksan
brezvodni Na_2SO_4

b) Določitev kromatografskih parametrov in umeritvenih premic za DBP in DOP

V 10 mL bučkah pripravite mešane standardne raztopine DBP in DOP (v eni bučki prisotni obe spojini) s koncentracijami 20, 40, 80 in 100 $\mu\text{g/mL}$. Raztopine pripravite z razredčevanjem osnovnih standardnih raztopin DBP in DOP (pribl. 1 mg/mL), do oznake razredčite s heksanom.

Za določitev retencijskega časa si posebej pripravite še standardni raztopini DBP in DOP s koncentracijo 50 $\mu\text{g/mL}$ v ločenih 10 mL merilnih bučkah.

Injicirajte po 1 μL vsake standardne raztopine.

Izberite enega od kromatogramov in za obe spojini izračunajte kromatografske parametre: retencijski faktor k , separacijski faktor α , višino teoretskega poda H , število teoretskih podov N in ločljivost R (podrobno opisano pri 9. vaji).

c) Določitev izkoristka ekstrakcije tekoče-tekoče

V lij ločnik odmerite 200 mL deionizirane vode, ki ste ji dodali toliko DBP in DOP, da bi bila v primeru 100 % izkoristka ekstrakcije koncentracija obeh 50 $\mu\text{g/mL}$ (to je po ekstrakciji in ponovnem raztapljanu v 0,1 mL heksana). Tako pripravljene sintetični vodni raztopini dodajte 10 mL heksana in lij ločnik stresajte 5 minut. Počakajte, da se fazi ločita, nato pa heksansko fazo lovite v čisto 50 mL čašo. Dodajte ji 2-3 žličke brezvodnega Na_2SO_4 , pustite nekaj minut, nato pa bistri heksan prelijte v epruvetko z obrusom. Epruvetko dajte v čašo z vročo vodo in s tokom dušika iz jeklenke odparite ekstrakt do suhega. Ostanek ponovno raztopite v 0,1 mL heksana, prelijte v vialo in injicirajte 1 μL raztopine. S primerjavo ploščin kromatografskih vrhov za DBP in DOP, ki ste jih dobili pri injiciranju standardnih raztopin s koncentracijo 50 $\mu\text{g/mL}$ in pri injiciranju sintetične vodne raztopine, izračunajte izkoristek ekstrakcije.

d) Določitev vsebnosti ftalatov v vzorcu

Po enakem postopku kot v točki c ekstrahirajte 200 mL vzorca vode. Določite ploščini vrhov za DBP in DOP in z upoštevanjem izkoristka ekstrakcije izračunajte koncentraciji obeh ftalatov v vzorcu.

Poročilo naj vsebuje:

- določitev kromatografskih parametrov za DBP in DOP (retencijski čas t_r , retencijski faktor k , separacijski faktor α , višina teoretskega poda H , število teoretskih podov N in ločljivost R),
- določitev izkoristka ekstrakcije za DBP in DOP (v %),
- umeritveni premici - odvisnost ploščine kromatografskih vrhov od koncentracije DBP oz. DOP (na milimetrskem papirju ali v programu Excel),
- določitev vsebnosti DBP in DOP v vodi (v $\mu\text{g/mL}$).

9. Določitev saharina in benzamida v nikljevi kopeli

Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) je separacijska tehnika, pri kateri kot mobilno fazo uporabljamo tekočino. Ta je ponavadi mešanica organskega topila in vodnih raztopin (kislina, baz, pufrov). Mobilno fazo pod visokim tlakom (več 100 bar) s pomočjo črpalke potiskamo skozi jekleno analitsko kolono, ki je napolnjena z delci silikagela, na katerega je nanešena stacionarna faza. Separacijo spojin dosežemo zaradi različnega porazdeljevanja spojin med stacionarno in mobilno fazo. Delci silikagela s stacionarno fazo so lahko različne velikosti (premera med 1,7 in 10 μm). Ločbo lahko dosežemo s črpanjem mobilne faze z enako sestavo (t.i. izokratsko spiranje) ali pa med analizo spreminjamo sestavo mobilne faze (gradientno spiranje).

Proces ločbe na kromatografski koloni opišemo z različnimi parametri, ki so opisani v nadaljevanju. Eksperimentalno te parametre določimo iz kromatograma, ki ga dobimo tako, da po injiciranju vzorca časovno spremljamo signal na detektorju, ki je nameščen na izhodu kolone. Serijo kromatografskih vrhov uporabimo za kvalitativno (retencijski čas) in kvantitativno (površina ali višina vrha) določitev.

Vzrok za zadrževanje določene komponente na koloni je njena porazdelitev med stacionarno (delci v koloni) in mobilno (tekočo) fazo na poti skozi kolono. Ravnotežno konstanto, ki nam pove, kako se komponenta x porazdeljuje med stacionarno in mobilno fazo, imenujemo **porazdelitveni koeficient K** za to komponento x :

$$K_x = \frac{[X]_s}{[X]_m}$$

Visok porazdelitveni koeficient pomeni, da se komponenta zadržuje pretežno v stacionarni fazi ter skozi kolono potuje počasneje, K je torej merilo za zadrževanje (retencijo) komponente na koloni.

Namesto porazdelitvenega koeficienta uporabljamo v HPLC običajno **retencijski faktor k** (staro ime je kapacitivni faktor), ki je definiran z molarnim razmerjem topljenca v stacionarni in mobilni fazi:

$$k = \frac{V_s [X]_s}{V_m [X]_m}$$

kjer je V_s volumen stacionarne faze, V_m pa volumen mobilne faze.

Če oba volumna izrazimo kot produkt pretoka mobilne faze skozi kolono in retencijskega (zadrževalnega) časa topljenca na koloni, dobi gornja enačba obliko:

$$k = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

Retencijski čas t_r komponente je čas, ki ga le-ta potrebuje za potovanje skozi kromatografsko kolono. **Mrtvi čas** t_0 (imenujemo ga tudi retencijski čas za mobilno fazo) pa je čas, potreben za prehod same mobilne faze, ki se na koloni ne zadržuje. **Retencijski volumen** V_r je volumen mobilne faze, ki je potreben, da se komponenta izpere iz kolone. V_0 je **mrtvi volumen** oz. retencijski volumen mobilne faze.

Kot visok porazdelitveni koeficient tudi visok retencijski faktor pomeni, da se komponenta na koloni zadržuje dalj časa. Visoke vrednosti k izboljšajo ločbo komponent, vendar se s tem podaljša čas analize, kromatografski vrhovi pa so tudi bolj razširjeni. Optimalne vrednosti k ležijo med 1,5 in 4.

Mrtvi čas določimo eksperimentalno iz kromatograma tako, da na kolono injiciramo snov, ki se na koloni ne zadrži, ali pa, da opazujemo nihanje bazne linije, ki je posledica različne sestave mobilne faze in topila, v katerem je raztopljen vzorec.

Učinkovitost kolone razumemo kot hitrost razširjanja pasov posameznih komponent med potovanjem skozi kolono. Kvantitativno jo izražamo s **številom teoretskih podov** N , ki pomeni, kolikokrat se topljenec porazdeli med mobilno in stacionarno fazo pri potovanju skozi kolono:

$$N = \frac{L}{H} = 16 \left(\frac{t_r}{w} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_r}{w_h} \right)^2$$

kjer je L dolžina kolone, H višina teoretskega poda, t_r retencijski čas komponente, w širina kromatografskega vrha na osnovni črti in w_h širina kromatografskega vrha na polovični višini (w in w_h podajamo v minutah).

Višina teoretskega poda H je karakteristika kromatografske kolone. Čim manjši je H , tem bolj učinkovita je kolona.

V koloni vse molekule komponente ne potujejo enako hitro, zato imajo kromatografski vrhovi (signali na detektorju) običajno obliko Gaussove krivulje, kjer center predstavlja srednjo vrednost hitrosti molekul določene komponente.

Širino kromatografskega vrha na osnovni črti w določimo grafično iz presečišča tangent v prevojni točki krivulje z osnovno črto (slika 18), v praksi pa je lažje meriti **širino vrha na polovični višini** w_h .

Separacijski faktor α (tudi selektivnost kolone oz. selektivnostni faktor) izračunamo za dva sosednja vrhova kot:

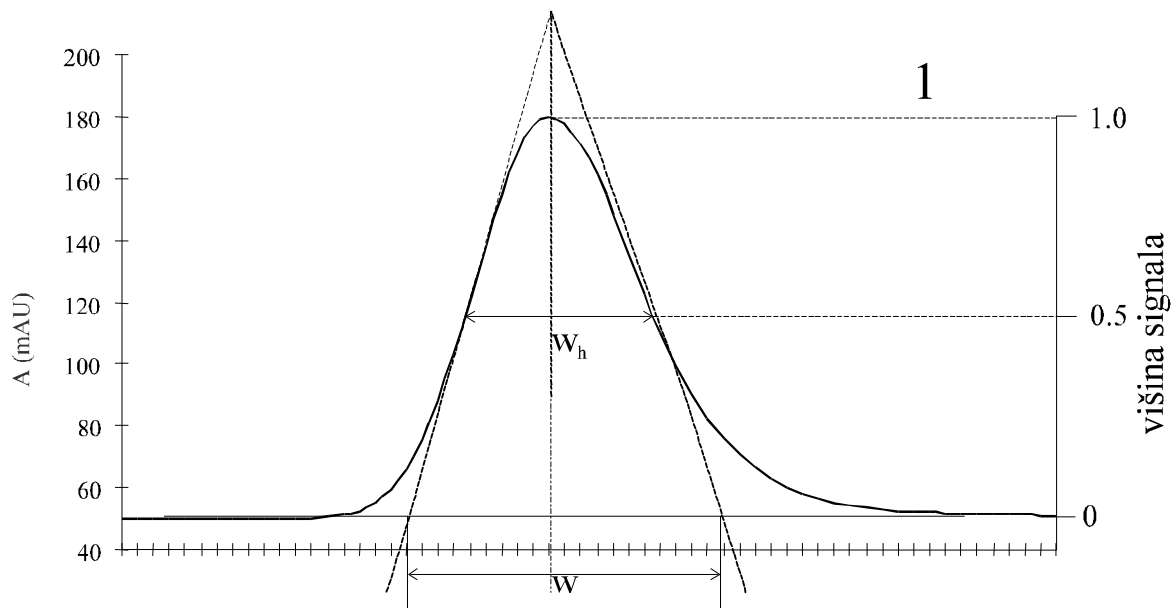
$$\alpha = \frac{V_{r2} - V_0}{V_{r1} - V_0} = \frac{t_{r2} - t_0}{t_{r1} - t_0} = \frac{k_2}{k_1} \quad ,$$

pri čemer je $t_{r2} > t_{r1}$.

Ločljivost med dvema kromatografskima vrhovoma R je definirana kot:

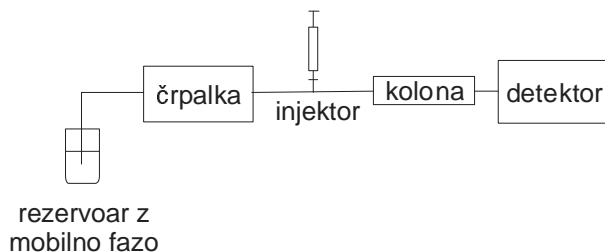
$$R = 2 \frac{(t_{r2} - t_{r1})}{(w_2 + w_1)}$$

Za popolno ločitev kromatografskih vrhov na osnovni črti je potrebna ločljivost 1,5. Enačba velja za kromatografske vrhove, ki so približno enako visoki in široki.



Slika 18: Grafično določevanje širine kromatografskega vrha.

Po separaciji spojine določimo z ustreznim detektorjem. Ker so spojine raztopljene v mobilni fazi, pridejo v poštev v glavnem detektorji za raztopine. Najpogosteje se uporablja spektrofotometrični (UV-VIS) detektor, s katerim merimo absorbanco mobilne faze na iztoku iz kolone. Od ostalih velja omeniti še fluorimetrični detektor, detektor na lom svetlobe (RID – Refractive Index Detector) in masnospektrometrični detektor.

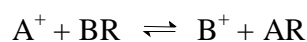


Slika 19: Shema tekočinskega kromatografa

Ionske izmenjevalce imenujemo tiste naravne (gline, zeoliti) in visokomolekularne polimerne organske substance, ki imajo v svoji strukturi aktivne ione. Ti se lahko reverzibilno zamenjajo z ioni v preiskovanem vzorcu. Bistvo ionske izmenjave je, da so zvrsti, ki jih med seboj ločujemo, vedno ioni, ki tvorijo z izmenjevalcem na osnovi elektrostatičnega privlaka bolj ali manj stabilne vezi. Glede na stabilnost vezi med ionskim izmenjevalcem in določevanim ionom lahko z različnimi eluirnimi raztopinami ločimo med seboj posamezne vrste vezanih ionov.

Ionske izmenjevalce delimo na **kationske** in **anionske**. Kationski izmenjevalci so močno kisli z aktivno skupino $-\text{SO}_3^-\text{H}_3\text{O}^+$ ali slabo kisli z aktivno skupino $-\text{COOH}$. Anionski izmenjevalci so močno bazični z aktivno skupino $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$ ali slabo bazični z aktivno skupino sekundarnih ali terciarnih aminov. Značilno za izmenjalne reakcije je, da so stehiometrične in ravnotežne.

Splošna reakcija:



pomeni, da preide za vsak mol ionov A^+ , ki jih izmenjevalec veže, v raztopino ekvivalentna množina ionov B^+ . Reakcija bo močno pomaknjena v desno le v primeru, če ima izmenjevalec večjo afiniteto do ionov A^+ oz. če je koncentracija ionov A^+ v raztopini izredno velika, večja od koncentracije ionov B^+ .

Saharin je umetno sladilo (E 954), ki je približno 300 do 500-krat bolj sladko kot saharoza. Kljub temu, da je ameriška agencija za hrano in zdravila (FDA) že leta 1977 saharin uvrstila na seznam potencialnih kancerogenih spojin, so kasnejše študije pokazale, da obstaja ta nevarnost samo ob izjemno velikih dozah (ekvivalent 10.000 tablet saharina dnevno). Leta 2000 so ga umaknili s seznama in danes je dovoljen kot umetno sladilo v več kot 90 državah po svetu.

Manj znano je, da saharin uporabljajo tudi v galvanizaciji, in sicer kot dodatek h kopelim za elektrodepozicijo, na primer k nikljevim kopelim. Delovanje še ni v celoti raziskano, dejstvo pa je, da dodatek saharina bistveno izboljša kakovost nanosa niklja na kovinske izdelke. V nikljevih kopelih najdemo poleg saharina tudi njegove razgradne produkte, tako da bi lahko tudi ti sodelovali pri procesu elektrolize.

Saharin in njegov razgradni produkt benzamid dobro absorbirata svetlobo valovne dolžne 270 nm, zato boste (po separaciji na kromatografski koloni) za njuno določitev uporabili spektrofotometrični detektor.

Ekspperimentalni del

- Določitev retencijskih časov za saharin (SAH) in benzamid (BA) ter mrtvega časa
- Priprava umeritvenih premic za SAH in BA ter izračun nekaterih kromatografskih parametrov
- Določitev SAH in BA v nikljevi kopeli po predhodni odstranitvi Ni^{2+} ionov
- Določitev SAH in BA v standardni raztopini po prehodu skozi ionski izmenjevalec

a) Reagenti

saharin (1 g/L)

benzamid (1 g/L)

mešana standardna raztopina SAH in BA (konc. posamezne spojine je 2 g/L)

NaNO_3 (1 g/L)

HCl (10 %)

mobilna faza: acetonitril in acetatni pufer s pH 4,6 (15:85, v/v)

b) Določitev retencijskih časov za SAH in BA ter mrtvega časa

Iz osnovnih standardnih raztopin SAH in BA s koncentracijama 1 g/L si v dve 50 mL bučki pripravite standardni raztopini SAH in BA s koncentracijama 50 mg/L. Za razredčevanje pri tej vaji vseskozi uporabljajte prečiščeno vodo (MQ). Po 20 μL raztopin injicirajte na kolono. Spojini detektirajte z UV-VIS detektorjem pri valovni dolžini 270 nm. Določite retencijska časa za obe spojini. Za določitev mrtvega časa injicirajte raztopino NaNO_3 , ki se na koloni ne zadrži.

c) Priprava umeritvenih premic za SAH in BA ter izračun nekaterih kromatografskih parametrov

V 50 mL bučkah pripravite mešane standardne raztopine SAH in BA s koncentracijami 20, 40, 60, 80 in 100 mg/L. Po 20 μL teh raztopin injicirajte na kolono. Narišite umeritveni premici za obe spojini (odvisnost ploščine kromatografskega vrha od koncentracije spojine). Za enega izmed kromatogramov izračunajte tudi kromatografske parametre, in sicer retencijski faktor (k_{SAH} , k_{BA}), separacijski faktor (α), višino teoretskega poda (H_{SAH} , H_{BA}), število teoretskih podov (N_{SAH} , N_{BA}) in ločljivost (R).

d) Določitev vsebnosti SAH in BA v nikljevi kopeli po predhodni odstranitvi Ni²⁺ ionov

Ionski izmenjevalec Amberlite® pred uporabo kondicionirajte oz. regenerirajte. Pred nanosom vzorca mora biti ionski izmenjevalec v kationski obliki, kar pomeni, da morajo biti na vezavnih mestih na izmenjevalcu vezani H₃O⁺ ioni. Izmenjevalec najprej sperite z 10 % raztopino HCl. Stišček na iztoku odprite toliko, da izteče približno 30 kapljic raztopine v minuti. Raztopini na iztoku občasno preverite pH, tako da na urno steklo kanete kapljico indikatorja metiloranž in nato še kapljico iztekajoče se raztopine. Ko raztopina na iztoku postane kisla, končajte s spiranjem. Nato na enak način spirajte s prečiščeno vodo toliko časa, da raztopina na iztoku postane nevtralna. S pipeto na ionski izmenjevalec nanosite 1,5 mL vzorca in ga spirajte s prečiščeno vodo. Stišček odprite toliko, da naštejete približno 15 kapljic v minuti. Zberite cca. 45 mL raztopine, dopolnite do oznake s prečiščeno vodo in injicirajte na kolono (tri ponovitve). Določite ploščini vrhov, ki pripadata SAH in BA. Izračunajte vsebnost SAH in BA v nikljevi kopeli. Za paralelne določitve izračunate povprečno vrednost koncentracije, standardni odmik in relativni standardni odmik.

e) Določitev vsebnosti SAH in BA v standardni raztopini po prehodu skozi ionski izmenjevalec

Ionski izmenjevalec Amberlite® regenerirajte, kot je opisano pri točki d. S pipeto na ionski izmenjevalec nanosite 1,5 mL mešane standardne raztopine SAH in BA (koncentracija posamezne spojine je 2 g/L) in ga spirajte s prečiščeno vodo. Stišček odprite toliko, da naštejete približno 15 kapljic v minuti. Zberite cca. 45 mL raztopine, dopolnite do oznake s prečiščeno vodo in injicirajte na kolono (tri ponovitve). Izračunajte vsebnosti SAH in BA v raztopini po prehodu skozi ionski izmenjevalec in jih primerjajte z vsebnostjo spojin v izhodni standardni raztopini.

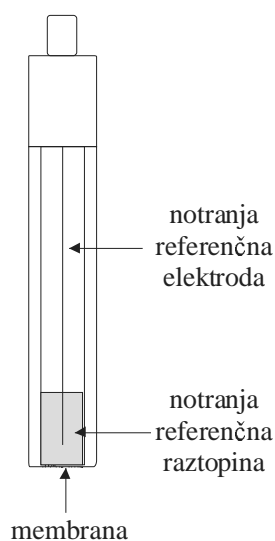
Poročilo naj vsebuje:

- podatke o retencijskih časih za SAH in BA ter o mrtvem času,
- umeritveni premici - odvisnost ploščine kromatografskega vrha od koncentracije spojine (na milimetrskem papirju ali v programu Excel) za SAH in BA,
- izračun vsebnosti SAH in BA v standardni raztopini po prehodu skozi ionski izmenjevalec (povprečna vrednost treh določitvev) in njihova primerjava z vsebnostjo spojin v izhodni standardni raztopini,
- izračun vsebnosti SAH in BA v nikljevi kopeli za vsako posamezno določitev ter izračun povprečne vrednosti, standardnega odmika in relativnega standardnega odmika.

10. Določitev fluorida v ustni vodici

Najpomembnejšo skupino ionoselektivnih elektrod predstavljajo trdne elektrode, ki jih delimo na homogene (npr. fluoridna elektroda, kjer je membrana iz monokristala LaF_3) in heterogene (membrana je sestavljena iz nosilne neaktivne mase, npr. silikonska guma, v kateri je dispergirana ionsko selektivna membranska komponenta, npr. AgJ ali AgCl).

Ionoselektivno elektrodo sestavljajo membrana, notranja referenčna elektroda in notranja referenčna raztopina (slika 20).



Slika 20: Shema ionoselektivne elektrode

Odvisnost potenciala ionoselektivne elektrode od koncentracije ionov v analizni raztopini lahko prikažemo na primeru fluoridne elektrode. Membrana je iz monokristala LaF_3 , ki je zaradi večje prevodnosti dopiran z La ali drugimi elementi iz skupine redkih zemelj. Notranja referenčna raztopina je mešanica raztopin z določeno koncentracijo Na^+ , F^- in Cl^- ionov (npr. 0,1M NaF in 0,1M NaCl). Notranja referenčna elektroda je srebrova elektroda, katere potencial določa koncentracija kloridnega iona v notranji referenčni raztopini.

Ko elektrodo pomočimo v raztopino z določeno koncentracijo (aktivnostjo) fluoridnih ionov, je potencial elektrode odvisen od koncentracije fluoridnih ionov v analizni raztopini. Potential fluoridne elektrode merimo proti zunanji referenčni elektrodi (npr. SCE). Elektroda ima 1000-krat večjo občutljivost za F^- kot za ostale anione.

Celico ponazorimo na naslednji način:

$\text{Ag} / \text{AgCl}, \text{Cl}(0,1\text{M}), \text{F}^-(0,1\text{M}) / \text{LaF}_3 / \text{analizna raztopina} / \text{SCE}$

Napetost člana definira Nernstova enačba:

$$E = K + \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{a_{F^- \text{ razt.}}}{a_{F^- \text{ vzorec}}}$$

Ker je aktivnost F^- v notranji raztopini konstantna, lahko enačbo pišemo v obliki:

$$E = E' - \frac{RT}{F} \cdot \ln a_{F^- \text{ vzorec}}$$

Enačba kaže, da je merjena napetost člana odvisna od aktivnosti F^- v analizirani raztopini. Če poznamo E' in izmerimo E , lahko torej določimo aktivnost – koncentracijo F^- v vzorcu. Ker vrednosti E' ne moremo točno izračunati, običajno uporabljamo za določevanje koncentracije (aktivnosti) metodo umeritvene krivulje.

Potencial ionoselektivne elektrode pa pogosto ni odvisen samo od aktivnosti iona, ki ga določujemo, ampak vplivajo na njegovo vrednost tudi nekateri ostali ioni. Za vsako ionoselektivno elektrodo moramo zato poznati konstanto selektivnosti. Selektivnostna konstanta je merilo za spremembo elektrodnega potenciala ionoselektivne elektrode v prisotnosti interferenčnega iona v raztopini. Razen tega je potencial ionoselektivne elektrode odvisen še od ionske moči raztopine ter kemijskih reakcij v raztopini. Vse te vplive moramo pri praktičnem delu upoštevati.

Ionska kromatografija je zvrst tekočinske kromatografije (glejte 9. vajo), pri kateri pride do separacije molekul zaradi ionskih interakcij med njimi in stacionarno oziroma mobilno fazo. Stacionarno fazo pri ionsko izmenjevalni kromatografiji predstavljajo pozitivno ali negativno nabite molekule, ki v stiku z mobilno fazo nase reverzibilno adsorbirajo nasprotno nabite delce. Do kromatografske separacije pride, ker se komponente vzorca različno dolgo zadržujejo na stacionarni fazi. Sestavni deli ionskega kromatografa so enaki kot pri klasični tekočinski kromatografiji (z manjšimi variacijami). Najpogosteje uporabljen detektor pri ionski kromatografiji je detektor na električno prevodnost.

Ionsko izmenjevalno kromatografijo uporabljamo za ločevanje širokega spektra analitov, od majhnih anorganskih ionov do makromolekul (proteinov).

Eksperimentalni del

- Potenciometrična določitev vsebnosti fluoridnih ionov v ustni vodici – z metodo umeritvene krivulje
- Potenciometrična določitev vsebnosti fluoridnih ionov v ustni vodici – z metodo standardnega dodatka
- Določitev vsebnosti fluoridnih ionov v ustni vodici z ionsko kromatografijo

a) Reagenti

standardna raztopina F⁻ ionov (0,1 M)

standardna raztopina F⁻ ionov (1 g/L)

mobilna faza: 8,0 mM Na₂CO₃ + 10 mM NaHCO₃

b) Potenciometrična določitev vsebnosti fluoridnih ionov v ustni vodici – z metodo umeritvene krivulje

Pripravite po 100 mL standardnih raztopin z naslednjimi koncentracijami fluoridnih ionov: 10⁻² M, 10⁻³ M, 10⁻⁴ M, 10⁻⁵ M in 10⁻⁶ M. Osnovna raztopina fluorida s koncentracijo 10⁻¹ M je že pripravljena, razredčujte z deionizirano vodo. Raztopino s koncentracijo 10⁻² M pripravite z 10-kratnim redčenjem osnovne raztopine, raztopino s koncentracijo 10⁻³ M pripravite z 10-kratnim redčenjem raztopine s koncentracijo 10⁻² M itd. (stopenjsko redčenje). Nato približno 30 mL posamezne raztopine prelijte v polietilensko čašo, postavite na magnetno mešalo in po 5 minutah odčitajte potencial. Meritve začnite s standardno raztopino najnižje koncentracije.

V 100 mL bučko odpipetirajte 1 mL ustne vode in dopolnite do oznake z deionizirano vodo. Približno 30 mL raztopine prelijte v polietilensko čašo, postavite na magnetno mešalo in odčitajte potencial po 5, 10, 15, 20 in 25 minutah. Izračunajte povprečno vrednost potenciala. Na logaritemski papir narišite odvisnost potenciala od desetiškega logaritma koncentracije in odčitajte koncentracijo fluoridnih ionov v razredčenem vzorcu.

c) Potenciometrična določitev vsebnosti fluoridnih ionov v ustni vodici – z metodo standardnega dodatka

V 100 mL bučko odpipetirajte 1 mL ustne vodice in dodajte toliko osnovne standardne raztopine fluorida, da bo po dodatku sprememba potenciala fluoridne elektrode približno 50 mV (primeren volumen standardne raztopine določite na osnovi umeritvene krivulje za fluoridni ion). Z deionizirano vodo razredčite do oznake. Potential odčitajte po 5, 10, 15, 20 in 25 minutah. Izračunajte povprečno vrednost potenciala.

Za izračun vsebnosti fluoridnih ionov uporabite naslednji enačbi:

$$E_x = E^{\circ} - s \cdot \log \frac{V_x \cdot c_x}{V},$$

$$E_s = E^{\circ} - s \cdot \log \frac{V_x \cdot c_x + V_s \cdot c_s}{V},$$

kjer je

E_x.....izmerjen potencial za raztopino vzorca (mV),

E_s.....izmerjen potencial za raztopino vzorca z dodatkom standardne raztopine (mV),

V_x.....volumen vzorca (mL),

V_s.....volumen dodane standardne raztopine (mL),

C_s.....koncentracija fluorida v standardni raztopini (mol/L),

C_x.....koncentracija fluorida v raztopini vzorca,

s.....strmina krivulje, ki jo določimo grafično iz umeritvene krivulje, ΔE/Δlog c.

Med seboj primerjajte oba rezultata in ugotovite pravilnost postopkov glede na vsebnost fluorida, ki je navedena na steklenici!

d) Določitev vsebnosti fluoridnih ionov v ustni vodici z ionsko kromatografijo

V vzorcu ustne vodice določite vsebnost fluorida z ionsko kromatografijo z metodo umeritvene krivulje. V 50 mL bučke si iz osnovne standardne raztopine fluorida s koncentracijo 1 g/L pripravite standardne raztopine fluorida s koncentracijo 0.5, 1, 2, 3, 4 $\mu\text{g/mL}$. Razredčujte s prečiščeno vodo (MQ). Vsako standardno raztopino injicirajte dvakrat. Vzorec ustne vodice razredčite tako, da bo meritev v sredini umeritvene krivulje. Vzorec injicirajte petkrat. Izračunajte povprečno vrednost, standardni odmik in interval zaupanja (95 % verjetnost).

Poročilo naj vsebuje:

- umeritveno premico - odvisnost potenciala fluoridne elektrode od desetiškega logaritma koncentracije (na semilogaritmskem papirju),
- izračun vsebnosti fluorida v ustni vodici (potenciometrični način) z metodo umeritvene premice in metodo standardnega dodatka; rezultata podajte v mol/L, mg/mL in ppm; gostota ustne vodice pri 25° C je 1,02 g/mL,
- umeritveno premico - odvisnost ploščine kromatografskega vrha od koncentracije fluorida,
- izračun vsebnosti fluorida v ustni vodici (kromatografski način) z metodo umeritvene premice; rezultat podajte v mol/L, mg/mL in ppm,
- primerjavo dobljenih rezultatov z vsebnostjo fluorida, navedeno na steklenici.