

### 3. MOLEKULARNA ABSORPCIJSKA SPEKTROMETRIJA

Molekularna absorpcijska spektrometrija je zelo obsežno področje analizne kemije, ki omogoča določanje številnih anionov, kationov in spojin. Temelji na absorpciji svetlobe ob prehodu skozi raztopino snovi. Glede na valovno dolžino uporabljene svetlobe ločimo infrardečo spektrometrijo, spektrometrijo v vidnem delu spektra in spektrometrijo v ultravijoličnem delu spektra. Pri vajah se bomo omejili le na spektrometrijo v vidnem delu spektra. Snovi, ki absorbirajo svetlobo v tem delu spektra, so obarvane. Večina sestavin, ki so analizno zanimive, ni obarvanih. Tudi te lahko določimo spektrometrično, če jih s primernim reagentom vežemo v obarvano spojino.

Za spektrometrično določanje pa moramo poleg obarvanja raztopine doseči smiselno zvezo med absorbanco in koncentracijo. Najbolj zaželen je linearen odnos. Zavedati pa se moramo, da ta vedno velja le za neko omejeno koncentracijsko območje.

Že iz kvalitativne analize veste, da je potek kemijskih reakcij zelo odvisen od pogojev. Ti so zato v vseh spektrometričnih postopkih natanko predpisani in se moramo tudi v celoti ravnati po njih. Pogosto moramo poleg primerne koncentracijskega razmerje med vzorcem in reagentom, definirane pH, pravilnega zaporedja dodajanj posameznih reagentov zagotoviti tudi termostatiranje raztopin pri zahtevani temperaturi ali pa celo v času, ko reakcija poteka, zaščititi raztopine pred svetlobo iz okolice.

Ker je za nastanek obarvanega produkta potreben neki določen čas, merimo absorbanco raztopin šele po predpisanem času. Nastali produkti so pogosto obstojni le določen čas, zato je pomembno, da tega časa pri meritvi ne prekoračimo. Meriti pa moramo pri natančno predpisani valovni dolžini.

Ponovite teoretične osnove spektrometrije in pojasnite pojma: transmitanca in molarna absorptivnost ter jima pripišite ustrezni enoti!



Napišite formulo za transmitanco in formulo za absorbanco ter zvezo, ki povezuje transmitanco in absorbanco! Pojasnite vse uporabljene simbole! Katero od napisanih zvez imenujemo Beerov zakon?



**Računanje enačbe premice po metodi najmanjših kvadratov**

Pri tej vaji boste morali vedeti, kako iz znane koncentracije snovi v raztopinah in rezultatov meritev absorbanca izračunamo enačbo najustrežnejše premice in rezultat določitve. Rabili boste matematične zveze iz Dodatka A. Izračunajte enačbo najustrežnejše premice in korelacijski koeficient za podatke iz tabele 4! Te podatke smo dobili tako, da smo raztopinam z različno, a znano koncentracijo kobaltovega iona izmerili absorbanco. Neodvisna spremenljivka ( $x$ ) je torej koncentracija, odvisna ( $y$ ) pa absorbanca.

Tabela 4. Absorbance raztopin z različno koncentracijo kobaltovega iona

$c$ (g/L)	2,982	5,964	8,946	11,928	14,910
$A$	0,245	0,492	0,735	1,00	1,30

Napišite splošno obliko enačbe premice ter formulo za izračun odseka na ordinatni osi ( $a$ ), formulo za izračun smernega koeficienta ( $b$ ) in formulo za izračun korelacijskega koeficienta ( $r$ )!



Poimenujte parametre  $s_a$ ,  $s_b$ ,  $s_{y/x}$  in napišite matematične zveze!



Razložite uporabo parametrov  $s_a$ ,  $s_b$ ,  $s_{y/x}$  in  $r$ !



Izračunajte  $a$ ,  $b$ ,  $s_a$ ,  $s_b$ ,  $s_{y/x}$  in  $r$ !

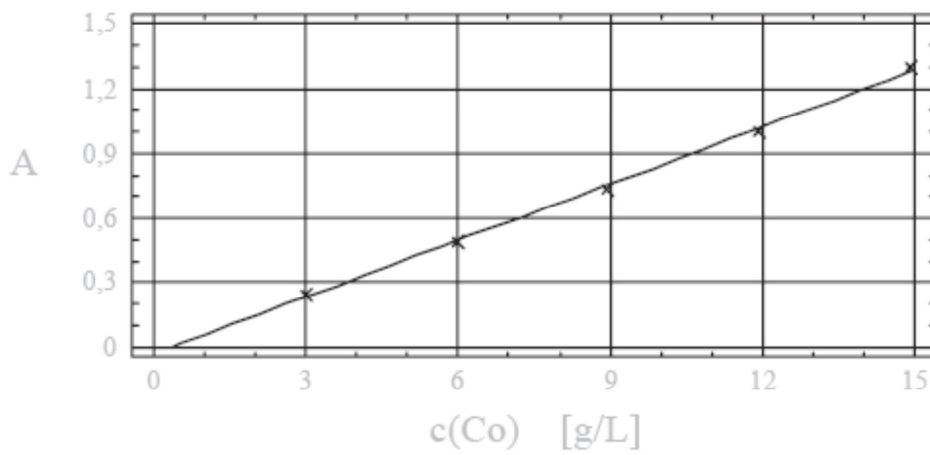


$n$	$x_i$	$y_i$	$x_i y_i$	$x_i^2$	$y_i^2$
1					
2					
3					
4					
5					
$\sum_i$					

Napišite enačbo izračunane premice! Namesto  $x$  in  $y$  uporabite simbola za koncentracijo in absorbanco!



Grafični prikaz premice, katere enačbo ste izračunali, je na sliki 19.

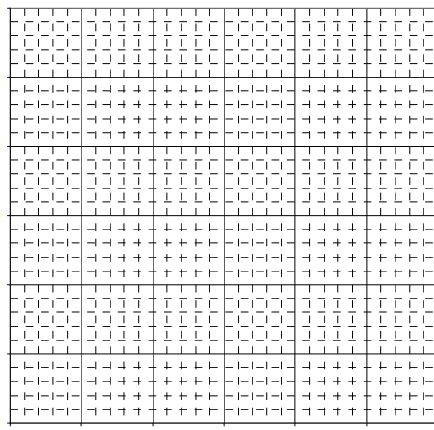


Slika 17. Najustreznejša premica za podatke iz tabele 4

Izračunajte ostanke in narišite graf ostankov!



$n$	$x_i$	$y_i$	$\hat{y}_i$	$y_i - \hat{y}_i$
1				
2				
3				
4				
5				



Komentirajte graf ostankov.

V literaturi ste zasledili dva različna postopka za spektrometrično določanje železa. Pri prvem je molarna absorptivnost reda velikosti  $1000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , pri drugem pa reda velikosti  $10000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Po vseh drugih značilnostih sta postopka primerljiva. Kateri postopek bi izbrali in zakaj?



### Primerjalna raztopina ali tako imenovana slepa

V spektrometriji poteka merjenje vedno v odnosu do primerjalne raztopine. Kot primerjalno raztopino najpogosteje uporabimo tako imenovano slepo. To je raztopina, ki je bila pripravljena po povsem enakem postopku kot vzorec in kalibracijske raztopine, le da ne vsebuje sestavine, ki jo določamo. To v praksi pomeni, da smo predpisani odmerek vzorca oz. kalibracijske raztopine nadomestili z enakim odmerkom prečiščene vode.

Pomen slepe je, da tako pri primerjalnem merjenju izničimo tisto, kar bi sicer h končni absorbanci doprinesle stene kivete, topilo in druge sestavine, ki so tudi prisotne v raztopini poleg obarvane spojine, katere absorbanco želimo ugotoviti. Proti slepi pomerimo vsako raztopino, zato moramo slepo ohraniti ves čas merjenja. Če bi to raztopino prezgodaj pomotoma zavrgli, bi nadaljnjega merjenja ne mogli opraviti.

### Spektrometrično merjenje

Glavne stopnje, ki jih je treba opraviti pri merjenju, so pri spektrometrih podobne, le da jih pri starejših instrumentih opravimo ročno, pri novejših pa nekatere od njih po predpisanem programu

instrument opravi samodejno. Da bi te stopnje lahko razumeli, si bomo zelo na kratko osvežili spomin na to, katere osnovne enote sestavljajo spektrometer. Najpomembnejše so svetilo, monokromator, nosilec za kiveto in detektor s prikazom, ki omogoča odčitavanje absorbance oz. transmittance.

Z blokovno shemo predstavite, kako je grajen spektrometer!



Svetilu, ki seva vidno ali kot tudi rečemo belo svetlobo, sledijo optične komponente, ki usmerijo pravilno oblikovan svetlobni snop na prizmo ali uklonsko mrežico spektrometra. Prizma ali uklonska mrežica, ki je glavni del monokromatorja, razkloni belo svetlobo v svetlobe posameznih barv, kar praktično pomeni, da ko na spektrometru nastavimo oz. izberemo neko valovno dolžino, povzročimo, da izstopa skozi režo monokromatorja svetloba te valovne dolžine. Če torej vrtimo gumb za nastavitev valovne dolžine in opazujemo snop svetlobe, ki izstopa iz monokromatorja, bomo spreminjanje valovne dolžine vidne svetlobe zaznali kot spreminjanje obarvanosti svetlobe. Seveda pa svetlobe ne smemo nikoli opazovati, če delamo v ultravijoličnem delu spektra, saj nam lahko UV svetloba poškoduje oči.

Svetloba, ki prihaja iz reže monokromatorja, potuje skozi kiveto z raztopino in pade na svetlobni senzor detektorja ter povzroči elektronski signal, ki se na kazalčnem ali digitalnem prikazu odrazi kot ustrezna vrednost absorbance oz. transmittance.

Postopek merjenja obsega tele stopnje:

- Vstavitev kivete s primerjalno raztopino - slepo in kivete s preiskovano raztopino na ustrezni mesti v nosilec za kivete, ki je v spektrometru.
- Nastavitev valovne dolžine.
- Uravnanje ničelne vrednosti, ko zaslonka zapira izstopno režo monokromatorja in senzor ni osvetljen.
- Uravnanje 100 % prepustnosti, ko svetloba prehaja skozi primerjalno raztopino.
- Meritev absorbance oz. transmittance preiskovane raztopine.

Način merjenja bomo v nadaljevanju natančno opisali za enožarkovni spektrometer Spekol, zato si najprej oglejmo, kakšen je videti (slika 18).



Slika 18. Enožarkovni spektrometer Spekol (**SV** – enota, v kateri je svetilo, **SE** - enota, v kateri je senzor in v katero vstopa svetloba skozi izstopno režo monokromatorja, **PN** - pomični nosilec za dve kiveti, **Z** - stikalo za zaprtje (**0**) in odprtje (**1**) zaslonke, katera prepušča svetlobo skozi izstopno režo monokromatorja, **V** – gumb za nastavitev valovne dolžine, **KP** - kazalčni prikaz, na katerem odčitavamo vrednosti absorbance ali transmitance, **0** – gumb za uravnanje ničelne vrednosti, **100** – gumb za elektronsko ojačitev signala, s katerim uravnamo 100 % prepustnost – transmitanco).

Pri spektrometričnem merjenju ves čas spoštujemo osnovno pravilo, da mora biti v vseh vmesnih stopnjah, ko ni treba, da svetloba presvetljuje kiveto, zaslonka zaprta, sicer svetloba neutemeljeno osvetljuje senzor, ki se tako hitreje iztroši, hkrati pa se tudi raztopina v kiveti po nepotrebnem greje. To pa lahko vpliva na rezultat merjenja. Zaslonka je zaprta, ko je stikalo Z v položaju 0.

Prva stopnja v postopku merjenja je, da v nosilec za kiveti vstavimo kiveto s primerjalno raztopino in kiveto s preiskovano raztopino. Navadno vstavljamo prvo v levo, drugo pa v desno stran nosilca. Kivete vselej vstavljamo v nosilec na enak način, bodisi z oznakami proti opazovalcu bodisi s stranjo, ki ima oznake, obrnjeno stran od opazovalca. Sami se odločimo za enega od načinov in se nato vedno ravnamo po njem.

Nosilec za kivete premaknemo tako, da pride v optično pot kiveta s primerjalno raztopino. Nosilec vedno premikamo z obema rokama. S tem premike nosilca dobro nadzorujemo in preprečimo, da bi se zaradi nenadnih sunkovitih gibov tekočina razlila iz kivet.

Z gumbom V nastavimo želeno valovno dolžino.

Pred uravnavanjem ničelne vrednosti preverimo, če je zaslonka zaprta (stikalo Z je v položaju 0) in tako senzor ni osvetljen. Z rahlim vrtenjem gumba 100 v smeri urinega kazalca nastavimo elektronsko ojačitev signala na maksimalno vrednost, kar pomeni, da gumb zavrtimo do konca. Pri tem pa pazimo, da ne delamo s silo, sicer lahko gumb poškodujemo.

Pred meritvijo moramo uravnati ničelno vrednost, ker svetlobni senzorji pogosto tudi, ko niso osvetljeni, oddajajo majhen signal. Ta bi popačil rezultat meritve, saj bi kazal, kot da je pri meritvi na svetlobni senzor padlo več svetlobe, kot je v resnici, zato moramo pred merjenjem ta signal, ki ga pogosto imenujemo tudi temni tok, elektronsko izničiti. To pa dosežemo tako, da z vrtenjem gumba 0 uravnamo kazalec na skali za transmitanco natančno na vrednost 0 %. Pomembno je, da pri tem kazalec gledamo v pravilni smeri, kar je izpolnjeno takrat, ko sta kazalec in njegova slika v zrcalu na skali pokrita med seboj in se kazalec hkrati pokriva z oznako, ki pripada zahtevani vrednosti.

Naslednja stopnja v postopku merjenja je uravnanje 100 % prepustnosti, ko svetloba izbrane valovne dolžine presvetljuje kiveto s primerjalno raztopino. Zavedati se namreč moramo, da svetilo v določenih spektralnih območjih (pri določenih valovnih dolžinah) seva bolj intenzivno, pri drugih pa manj intenzivno. Tudi svetlobni senzor ni v vsem spektralnem področju enako občutljiv. Raztopine, ki jih pri posameznih spektrometričnih postopkih uporabljamo v funkciji slepe, tudi absorbirajo različen delež svetlobe, delno pa ga lahko absorbira tudi kiveta. Iz vsega tega bi za slepo sledili pri različnih spektrometričnih postopkih različno veliki elektronski signali. Da pa bi pri vseh postopkih vendarle lahko uporabili isto skalo, moramo odzive med seboj izravnati. To naredimo tako, da s pravim gumbom na skali instrumenta uravnamo prepustnost (transmitanco) na vrednost 100 %. Pri tem povzročimo bodisi elektronsko ojačitev signala, kot je to pri instrumentu Spekol, bodisi z odpiranjem (razširjanjem) reže, skozi katero iz monokromatorja izstopa svetloba, dosežemo povečanje električnega signala zaradi povečanja količine svetlobe, s katero presvetlujemo kiveto.

Pred uravnanjem 100 % prepustnosti moramo zmanjšati elektronsko ojačitev signala, sicer bi kazalec ob odprtju zaslonke zelo verjetno zabilo. Elektronsko ojačitev signala zmanjšamo z vrtenjem gumba z oznako 100 v smeri, ki je nasprotna smeri urinega kazalca. Nato odpremo zaslonko, in sicer s preklopom stikala Z iz položaja 0 v položaj 1. Da stikalo ob preklopu ne udari trdo, ga med preklopom rahlo zaviramo z roko.

Z odprtjem zaslonke smo dosegli, da svetloba presvetljuje raztopino in pada na svetlobni senzor. Z gumbom za elektronsko ojačitev signala (gumb z oznako 100), uravnamo kazalec na skali za transmitanco na vrednost 100 %. Ko smo to dosegli s stikalom Z, zaslonko ponovno zapremo.

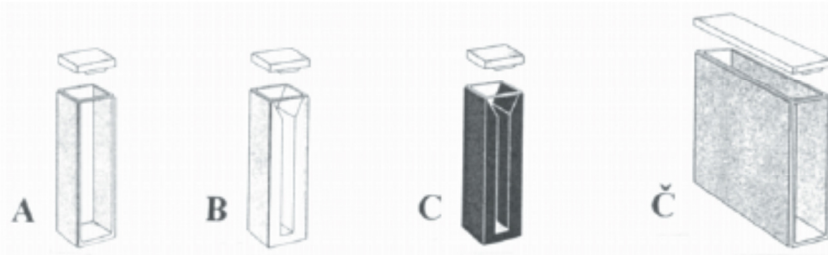
Ko smo z vsemi prejšnjimi stopnjami zagotovili pravilne pogoje meritve, premaknemo nosilec za kivete tako, da pride v optično pot kiveta s preiskovano raztopino. Zaslonko odpremo in na skali instrumenta odčitamo absorbenco ali transmitanco. Nato zaslonko ponovno zapremo. Kiveto s primerjalno raztopino pustimo v nosilcu za kivete, kiveto s preiskovano raztopino pa napolnimo z drugo raztopino.

Za vsako naslednjo preiskovano raztopino ponovimo vse stopnje postopka merjenja, tako uravnanje ničelne vrednosti kot tudi uravnanje 100 % prepustnosti.

### **Kako pravilno ravnamo s kivetami**

Za meritev prelijemo raztopino v posebno merilno posodo – kiveto (slika 19). Ta določa dolžino poti svetlobe skozi raztopino. Optični ploskvi kivete morata biti med seboj povsem vzporedni ali kot pravimo plan-paralelni. Kivete so narejene iz posebnega optičnega stekla, za merjenje v

ultravijoličnem in bližnjem IR področju pa morajo biti iz kvarčnega stekla. Za ravnanje s kivetami veljajo ista pravila kot za vse druge optične komponente: leče, svetila, zrcala ipd. Najosnovnejše je, da optičnih površin nikoli ne prijemljemo s prsti, saj bi to na njih pustilo sled, ki bi spremenila njihove lastnosti. Stene kivet, skozi katere prehaja pri meritvi svetloba, morajo biti povsem čiste. Kivete prijemljemo vedno za stranski steni, ki nista prozorni, temveč imata mat površino. Kot leč fotografskih kamer ne brišemo z navadnim vpojnim papirjem, ker je pregrob in pušča raze, to velja tudi za kivete. Brišemo jih lahko le s posebnim papirjem za leče ali pa s krpicami za leče. Če je zunanja stran kivete oblita s tekočino, lahko z navadnim vpojnim papirjem tekočino le odpivnemo s površine, nikakor pa ne smemo površine kivet s tem papirjem drgniti.



Slika 19. Nekaj primerov kivet. Kivete A, B in C so enocentimetrski, kiveta Č je petcentimetrski.

Za meritev v kivetah B in C je treba manj raztopine kot v kiveti A. Nevarnost pri kivetah B je, da del svetlobnega snopa pade na odebeljeni rob kivete in je zato meritev nepravilna. To pa težko opazimo, ker so robovi prosojni, zato tudi rezultat ne odstopa tako izrazito, da bi bila napaka očitna. V tem pogledu so boljše kivete vrste C, ki imajo počrnjen rob, saj pri njih omenjeno napako zagotovo opazimo, ker se izrazito zmanjša intenziteta svetlobe in je rezultat povsem nelogičen.

Kivete moramo z raztopino napolniti dovolj visoko, da bo ves svetlobni snop prehajal skozi raztopino. Ustrezno je, če jih napolnimo približno do  $2/3$  višine, nikakor pa ne više kot do  $3/4$ , sicer tekočino pri premikanju nosilca za kivete pogosto polivamo.

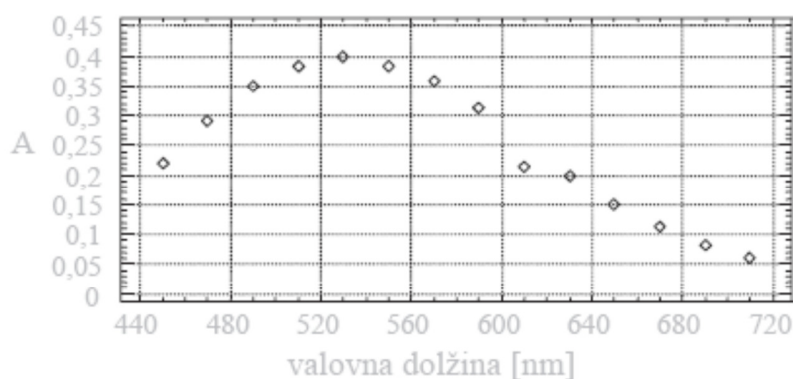
Ko kiveto napolnimo, preverimo, če so zunanje stene čiste in suhe. Če so polite s tekočino, jo rahlo odpivnemo (ne obrišemo!) s površine. Na notranjih stenah ne sme biti mehurčkov zraka.

Zelo pomembno je, da kivete po meritvi pravilno izpraznimo, sicer bomo imeli zelo veliko nepotrebne dela s čiščenjem njihovih sten. Vsebino kivete odlijemo v pripravljeno čašo, ki jo postavimo levo od spektrometra. Pozor! Ko izlijemo tekočino, kivete ne smemo obrniti navzgor, sicer se bo po stenah poredila raztopina. Tekočino moramo z ustja kivete odpivnati tako, da kiveto, ki je obrnjena navzdol, pritisnemo ob debelejši sloj vpojnega papirja, s katerim je prekrito večje urno steklo. Šele nato lahko kiveto brez škode spet obrnemo navzgor. Preden pa kiveto napolnimo z novo raztopino, z nekaj te raztopine oplaknemo njeno notranjost.



### 3.1 Absorpcijski spekter

Če postopno presvetljujeemo raztopino neke snovi s svetlobo različnih valovnih dolžin in merimo, za koliko se pri prehodu skozi raztopino zmanjša intenziteta svetlobe posamezne valovne dolžine, lahko za to snov narišemo absorpcijski spekter. Absorpcijski spekter neke snovi prikazuje odvisnost absorbance ali transmittance od valovne dolžine svetlobe. Tako dobljena krivulja nam pove, kako intenzivno snov absorbira vidno svetlobo v različnih predelih spektra. Potek krivulj, ki predstavljajo absorpcijski spekter, je za različne snovi različen in je značilnost posamezne snovi. Spektre pogosto posnamemo zato, da ugotovimo, pri kateri valovni dolžini snov najmočneje absorbira svetlobo. To točko na krivulji imenujemo tudi absorpcijski maksimum ali maksimum absorpcije, pripadajočo valovno dolžino pa pogosto označujemo z  $\lambda_{\text{maks}}$ . Ta je značilnost posamezne snovi in podatek, ki ga moramo poznati, da lahko koncentracijo neke snovi v vzorcu določimo spektrometrično.

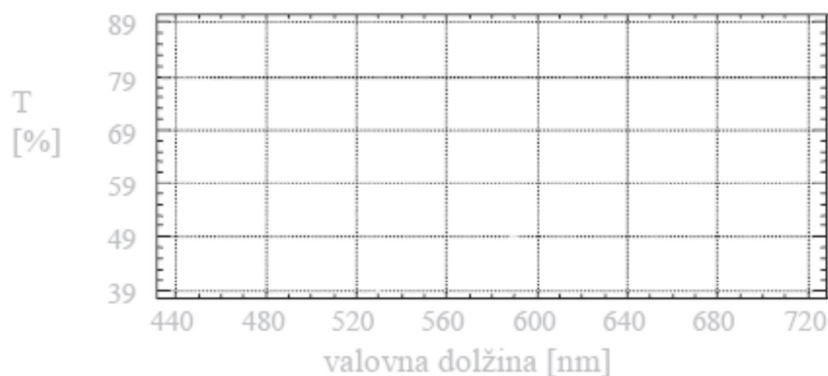


Slika 20. Primer absorpcijskega spektra za barvni kompleks med Fe(III) in salicilno kislino. Rezultati meritev so povzeti v tabeli 5. Sami povežite točke s krivuljo tako, da bo potek čimbolj zvezen! ⌚

Tabela 5. Rezultati meritev za snemanja spektra kompleksa Fe(III) s salicilno kislino

$\lambda$ / nm	450	470	490	510	530	550	570
A	0,220	0,290	0,350	0,385	0,400	0,384	0,358
$\lambda$ / nm	590	610	630	650	670	690	710
A	0,314	0,214	0,200	0,149	0,114	0,083	0,059

Uporabite podatke iz tabele 5 in izračunajte transmittance pri posameznih valovnih dolžinah ter rezultate izrazite v odstotkih! Narišite spekter, ki kaže odvisnost transmittance od valovne dolžine!



Primerjajte dobljeni spekter s tistim na sliki 20. Razložite razlike med obema spektroma istega barvnega kompleksa!



### 3.1-1/2 Obarvanost svetlobe različnih valovnih dolžin

V začetku bo spektrometer razstavljen tako, da boste lahko neposredno opazovali svetlobo, ki bo pri različnih nastavitvah valovne dolžine izstopala skozi režo.

Režo prekrijte z listom prosojnega papirja. Valovno dolžino nastavite na 450 nm. Nastavitve valovne dolžine boste povečevali za 10 nm in ves čas zelo natančno opazovali in opisovali obarvanost svetlobe pri različnih nastavitvah. Bodite natančni pri opisovanju manj čistih vmesnih barv, npr. zelenorumene, rumenozelene, oranžnorumene, oranžnordeče in podobnih. Lahko uporabite barvne svinčnike. Valovno dolžino povečujte toliko časa, dokler lahko še kaj opazite.



Meritve:

Ročico, ki je na levi sprednji strani instrumenta preklpite iz položaja 1 v položaj 0. Kaj opazite? Kaj uravnavamo s to ročico?



### 3.1-2/2 Absorpcijski spekter indikatorja timol modro

Indikator timol modro poznate že iz kvalitativnega dela vaj. Kakšna je obarvanost tega indikatorja v zelo kisli raztopini in kakšna v zmerno kisli ali nevtralni raztopini?



Najprej boste posneli spekter tiste oblike timol modro, ki je rumeno obarvana, nato pa še spekter oblike, ki je rdeče obarvana. Oba spektra boste prikazali grafično.

Prvo kiveto napolnite s prečiščeno vodo in jo vstavite v levo stran nosilca za kivete. V drugo kiveto dajte tri kapljice 0,1 % alkoholne raztopine timol modro in dolijte prečiščeno vodo, a ne več kot do 3/4 višine. Vsebino kivete premešajte in preverite, če so zunanje stene čiste in suhe in, če na notranjih stenah ni zračnih mehurčkov.

Kiveto vstavite v nosilec za kivete. Absorpcijski spekter posnamite tako, da odčitavate absorbanco v območju med 450 nm in 650 nm, valovno dolžino povečujete za 20 nm. Za spektrometer Spekol smo postopek merjenja že opisali v poglavju Spektrometrično merjenje.



Obarvanost indikatorja:

Meritve:

Pri kateri valovni dolžini raztopina indikatorja najmočneje absorbira svetlobo?

R

V katerem delu območja valovnih dolžin (približno v sredini / na zgornjem robu / na spodnjem robu) je ta valovna dolžina?

R

Ali lahko z gotovostjo trdite, da je valovna dolžina, pri kateri ste ugotovili največjo absorbanco, res maksimum absorpcije? Odgovor utemeljite!

R

Poskusite opraviti dodatne meritve, s katerimi bi se čim bolj približali resnični  $\lambda_{\max}$  !



Meritve:

Ali ste pri pravkar opravljenih eksperimentih naleteli na kakšno oviro, zaradi katere nadaljnje merjenje ni bilo več mogoče? Če ste, pri kateri valovni dolžini se je to zgodilo, do česa je prišlo in kako si to razlagate?

R

Kiveto z raztopino indikatorja vzemite iz nosilca za kivete. Raztopini dodajte tri kapljice raztopine HCl s koncentracijo 2 mol/L in vsebino kivete premešajte. Preverite, če so zunanje stene kivete čiste in suhe in postavite kiveto nazaj v nosilec za kivete. Na enak način kot prej posnamite absorpcijski spekter.



Obarvanost indikatorja:

Meritve:

V bližini katere valovne dolžine je najverjetneje  $\lambda_{\max}$ ?

R

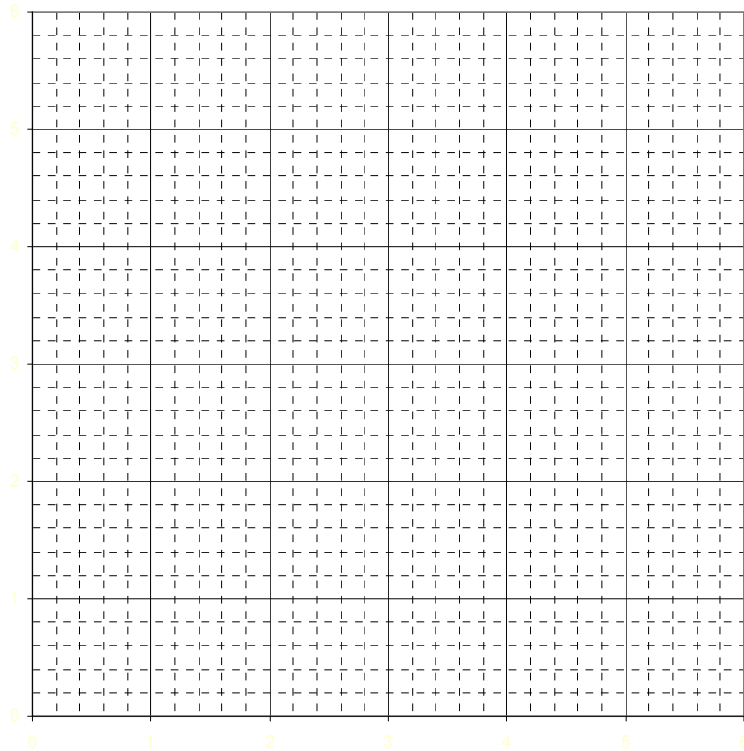
V bližini te vrednosti opravite dodatne meritve, da boste natančno ugotovili  $\lambda_{\max}$  !



Meritve:

Na istem grafu prikažite absorpcijska spektra obeh oblik indikatorja timol modro. Pod abscisno osjo z barvnimi svinčniki ponazorite, kako je obarvana svetloba posameznih valovnih dolžin!

R



Pri kateri valovni dolžini je maksimum absorpcije rumene oblike indikatorja in pri kateri rdeče? Kako je obarvana svetloba, ki jo posamezna oblika najmočneje absorbira? Katerih barv svetlobo posamezna oblika indikatorja absorbira v bistveno manjši meri? Razložite povezavo med barvo raztopine in njenimi absorpcijskimi lastnostmi.

R

Poleg maksimumov absorpcije je na absorpcijskih spektrih pomembna tudi tako imenovana izobestična točka. Torej točka, v kateri se sekata krivulji dveh spektrov. Pri valovni dolžini izobestične točke imata obe obliki neke spojine enako absorbanco. Ker je valovna dolžina izobestične točke zelo natančno določena, lahko izobestično točko nekaterih indikatorjev uporabimo pri spektrometrih za preverjanje pravilnosti valovne dolžine, kar bomo uporabili v nadaljevanju.

Na osnovi grafa poiščite za indikator timol modro valovno dolžino izobestične točke!

R

### 3.2 Preverjanje spektrometra

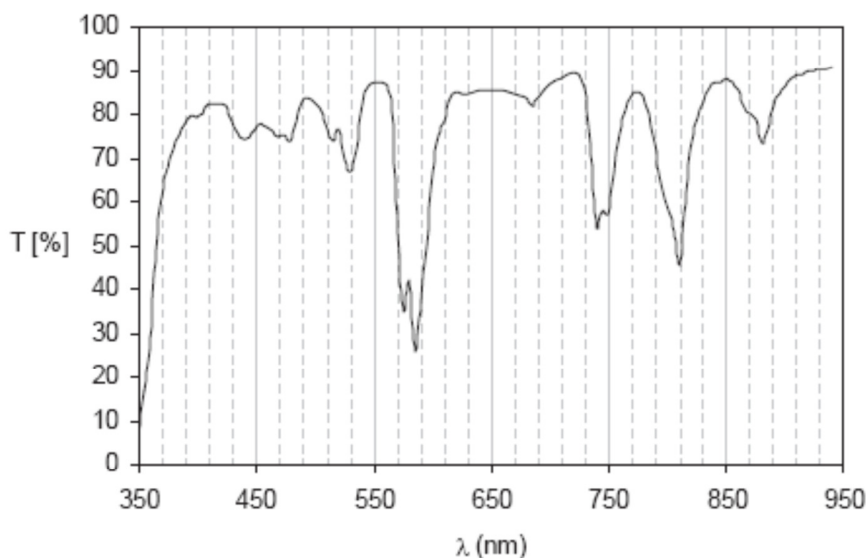
Za pravilno spektrometrično določitev ne zadošča, da smo le pravilno pripravili kalibracijske raztopine in pravilno izvedli ves postopek, temveč mora tudi spektrometer delovati pravilno. Tega pa ne moremo vedeti, če spektrometra občasno ne preverimo.

Preverjanje spektrometra zajema:

- preverjanje pravilnosti valovne dolžine;
- preverjanje linearne odvisnosti absorbance od koncentracije;
- preverjanje pravilnosti merjenja absorbance;
- ugotavljanje prisotnosti tako imenovane tuje svetlobe.

Pri preverjanju pravilnosti valovne dolžine ugotovimo, če valovna dolžina svetlobe, ki izstopa skozi režo monokromatorja, res ustreza valovni dolžini, ki smo jo nastavili na spektrometru. Če bomo opazili odstopanje, bomo sicer lahko nastavili valovno dolžino, ki je predpisana za neko snov, meritev pa ne bo potekala pri tej valovni dolžini. To pa praktično pomeni, da ne bomo merili pri valovni dolžini absorpcijskega maksimuma. Kvaliteta dobljenih rezultatov bo zato slabša.

Za **preverjanje pravilnosti valovne dolžine** je znanih več načinov. Zelo pogosto uporabljamo holmijev oksidni filter ali filter iz didimium stekla. Značilnost teh filtrov je, da so v njihovih spektrih vrhovi zelo ostro izraženi. Prav zato pa je mogoče valovne dolžine maksimumov absorpcije zelo natančno določiti, saj že majhen odmik od te valovne dolžine povzroči izrazito zmanjšanje absorbance oz. povečanje transmitance. Primer spektra za didimium steklo je prikazan na sliki 21. Za preverjanje spektrometrov uporabljamo vrhove z valovno dolžino 809, 586 in 573 nm. Ustrezne vrhove označite na sliki!



Slika 21. Absorpcijski spekter didimium stekla

Medsebojno odvisnost katerih dveh fizikalnih veličin prikazuje absorpcijski spekter, ki je prikazan na sliki 21? Pri valovnih dolžinah, ki smo jih navedli, so lokalni minimumi te krivulje. Kaj ti minimumi povedo o tem, kako pri teh valovnih dolžinah snov absorbira svetlobo?



Poleg različnih filtrov lahko za preverjanje pravilnosti valovne dolžine uporabimo tudi drugačne metode. Mi bomo uporabili metodo z indikatorjem bromfenol modro. Za to metodo izkoristimo izobestično točko tega indikatorja, ki je zelo natančno določena.

**Linearnost** pri spektrometru preverjamo s serijo kalibracijskih raztopin. Kot zelo primerne so priporočene raztopine  $K_2CrO_4$  z bazičnim pH. Merjenje poteka pri valovni dolžini 370 nm. To pa je za naš spektrometer prenizko, zato bomo delali z raztopinami  $CoSO_4$ , ki so tudi primerne za preverjanje linearnosti. Merimo pa pri valovni dolžini 512 nm.

Za **preverjanje pravilnosti izmerjene absorbance** uporabljamo steklene filtre ali pa tekočinske standarde za absorbanco. Uporabili bomo drugi način, absorbanco pa bomo preverjali z raztopino  $CoSO_4$ .

**Tuja svetloba** je vsaka svetloba, katere valovna dolžina je drugačna od tiste, ki smo jo za neko meritev nastavili na spektrometru. Če iz monokromatorja skozi režo uhaja tuja svetloba, se bo to odražalo na rezultatu meritve, ker te svetlobe vzorec sploh ne absorbira ali pa je ne absorbira v tolikšni meri kot svetlobo, ki ima valovno dolžino maksimuma absorpcije. Zato bo na senzor padlo več svetlobe, kot bi je sicer. Absorbanca bo tako navidezno nižja.

Prisotnost tuje svetlobe preverjamo z raztopinami obarvanih snovi, ki so zelo koncentrirane. Značilnost teh raztopin je, da se vsa svetloba nastavljene valovne dolžine v raztopini absorbira in je nič ne pride skozi raztopino. Če torej zaznamo kakršnokoli, tudi zgolj minimalno transmitanco, je ta lahko edino posledica tuje svetlobe, ki jo snov bodisi sploh ne absorbira bodisi pa jo, a v bistveno manjši meri.

Za preverjanje prisotnosti tuje svetlobe uporabljamo raztopine  $K_2CrO_4$  v bazičnem mediju in vodno raztopino  $CuSO_4$ .

Kako sta obarvani ti dve raztopini?



### 3.2.-1/4 Preverjanje pravilnosti valovne dolžine

Za preverjanje pravilnosti nastavitve valovne dolžine na spektrometru bomo izkoristili izobestično točko indikatorja bromfenol modro, ki je pri 25 °C pri valovni dolžini 496,2 nm. Valovna dolžina izobestične točke je sicer nekoliko odvisna od temperature. Ker pa je pri

temperaturah, ki so blizu 25 °C, spreminjanje valovne dolžine s temperaturo linearno, tega ni težko upoštevati, saj velja zveza:

$$\lambda = 496,2 \text{ nm} + (25 \text{ °C} - t) 0,16 \text{ nm} / \text{°C}$$

( $t$  je temperatura v °C)

Raztopina bromfenol modro, ki jo boste uporabljali, je bila pripravljena iz 400 mg indikatorja, ki smo mu dodali med 0,5 in 1 mL raztopine NaOH s koncentracijo 1 mol/L. Raztopino smo razredčili s prečiščeno vodo na 500 mL in jo prefiltrirali.

Indikator poznate že iz kvalitativnega dela vaj, zato napišite, kako je obarvana raztopina indikatorja, katere pripravo smo ravnokar opisali! V katerem pH intervalu se spremeni obarvanost tega indikatorja in kakšna je ta sprememba?



Za preverjanje pravilnosti valovne dolžine boste v dve suhi posodi z isto polnilno pipeto natančno odmerili 2 mL raztopine indikatorja bromfenol modro. V prvo posodo boste s pipeto dodali 20 mL raztopine HCl s koncentracijo 0,1 mol/L, v drugo pa z isto, a dobro sprano pipeto 20 mL prečiščene vode. Obe raztopini premešajte!

Zakaj v obeh primerih uporabimo za oba dodatka isto pipeto?



Pripravimo dve kiveti, ki sta bili prej primerjalno preverjeni v spektrometru, razlika v absorbanci med njima pa ni večja od 0,002. Preverimo, koliko je temperatura v prostoru in za to temperaturo po enačbi, ki smo jo že navedli, izračunamo valovno dolžino izobestične točke.



Na spektrometru nastavimo to valovno dolžino. Kiveti napolnimo z raztopinama indikatorja in ju vstavimo v nosilec za kivete. Način merjenja je pri tem eksperimentu povsem drugačen od vsakdanjega, saj nas absolutna vrednost absorbance ne zanima, ugotoviti želimo le, če je med obema raztopinama pri merjenju razlika ali ne. Ravnamo pa takole: S stikalom Z odpremo zaslonko in z gumbom za nastavitve elektronske ojačitve (gumb z oznako 100) uravnamo na kazalnem instrumentu kazale, in to natančno na neko vrednost, ki je navadno v bližini oznake za transmitanco 30 %. Zaželeno je, da je ta vrednost čim višja, ne sme pa biti tako visoka, da bi bil kazalec v skrajni legi, do katere ga je s tem gumbom sploh še mogoče potisniti. Zapišite nastavljeno vrednost!





Nosilec za kivete premaknete (z obema rokama!) tako, da pride v optično pot druga kiveta. Zapišite vrednost, ki jo v tem primeru odčitate na skali!



Ali je ta vrednost enaka prejšnji? Kaj lahko sklepate iz tega?



Če se kazalec za drugo raztopino odkloni v eno ali drugo smer iz prvotnega nastavljenega položaja, valovna dolžina svetlobe, ki izhaja iz monokromatorja, ni enaka nastavljeni valovni dolžini. V tem primeru bi morali instrument justirati, da bi skozi režo monokromatorja res izhajala svetloba nastavljenih valovnih dolžin. Pri vajah se v justiranje instrumenta ne boste poglobljali, temveč boste v primeru odklona kazalca iz srednje lege le ugotovili, za koliko valovna dolžina svetlobe, ki izhaja iz monokromatorja, odstopa od nastavljenih valovnih dolžin.

Z majhnimi premiki gumba za nastavitev valovne dolžine in ponavljanji opisanega načina merjenja boste poiskali tisto nastavitev valovne dolžine, pri kateri obe raztopini absorbirata povsem enako.

Pri kateri nastavitvi valovne dolžine ste dosegli izenačenje odzivov za obe raztopini?



Svetloba katere valovne dolžine pri tej nastavitvi izhaja iz reže monokromatorja?



S pojmom absolutne napake ste se seznanili že pri pipetah. Izračunajte, kolikšna je absolutna napaka valovne dolžine svetlobe, ki izhaja iz monokromatorja! Pazite, da boste pravilno upoštevali predznak te napake!



Na koliko bi morali z gumbom nastaviti valovno dolžino, da bi bila valovna dolžina svetlobe, ki bi pri tem izhajala iz reže monokromatorja, enaka 512 nm?



### **3.2-2/4 Preverjanje linearne odvisnosti absorbance od koncentracije**

Linearnost instrumenta boste preverjali s petimi raztopinami kobaltovega sulfata. Mase  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  so bile za posamezne raztopine tele:

Raztopina	I	II	III	IV	V
$m / g$	0,7112	1,4225	2,1337	2,8450	3,5562

V vseh primerih smo pripravili 50 mL raztopine. Vse raztopine so bile pripravljene v raztopini  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ki je bila 1 % (v/v). Kaj pomeni zapis v oklepaju? Kakšno stališče izraža, do tega zapisa NIST v publikaciji Guide for the Use of the International System of Units (SI)?

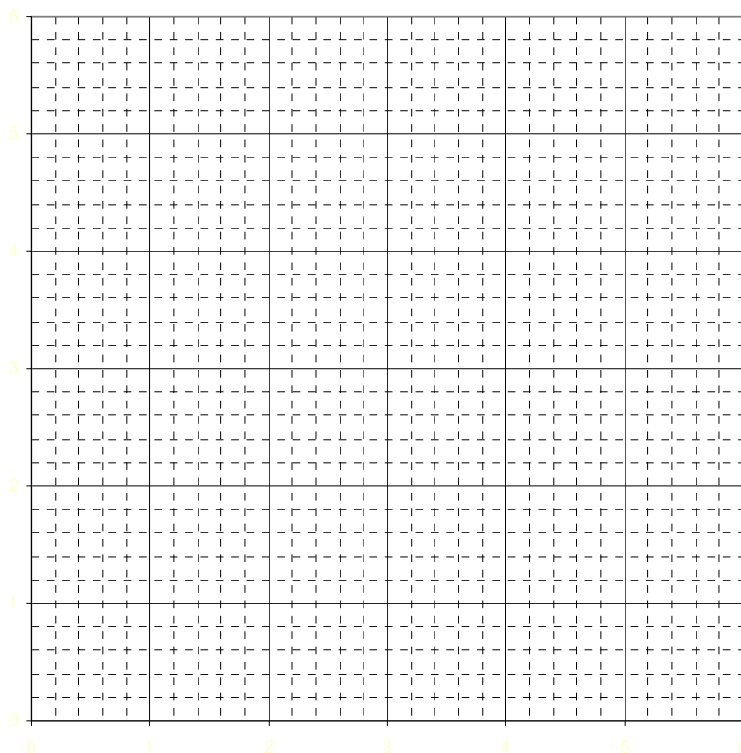


Določite absorbanco vseh petih raztopin! Kot primerjalno raztopino uporabite 1 % raztopino  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Merite pri valovni dolžini 512 nm. Če ste pri prejšnjem eksperimentu ugotovili odstopanje valovne dolžine od prave vrednosti, to ustrezno upoštevajte, ko na instrumentu nastavite valovno dolžino.



Meritve:

Rezultate meritev vrišite v graf, ki prikazuje odvisnost absorbance od koncentracije!

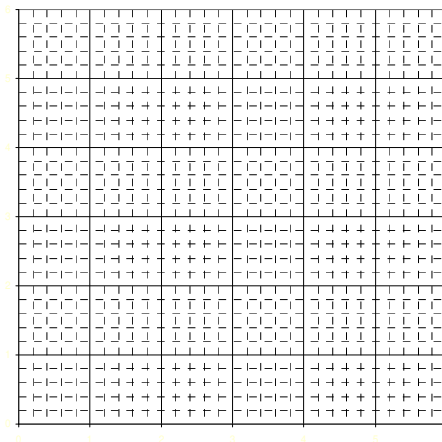


Presodite, ali kažejo vrisane točke na linearno odvisnost med koncentracijo in absorbanco!

*R*

Da boste eksaktnješe ugotovili, kako dobro se dobljene vrednosti prilegajo linearnemu modelu izračunajte enačbo premice, narišite graf ostankov in izračunajte korelacijski koeficient in povzemite ugotovitve!

*R*



### 3.2-3/4 Preverjanje pravilnosti merjenja absorbance

Za preverjanje pravilnosti merjenja absorbance boste uporabili raztopino kobaltovega sulfata s koncentracijo 0,0735 mol/L. Za pripravo 50 mL te raztopine smo natehtali 1,0331 g  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Način priprave raztopine je bil enak kot pri prejšnjem eksperimentu.

Iz literature so za to raztopino poznane naslednje vrednosti absorbance:

$\lambda$ / nm	400	450	500	510	550	600
A	0,026	0,152	0,326	0,346	0,146	0,022

Merite proti 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pri valovnih dolžinah 500 in 510 nm. Za pravilno nastavitev valovnih dolžin velja enako opozorilo, kot pri prejšnjem eksperimentu. Enak je tudi način merjenja.



Meritev:

Pojasnite dobljene rezultate!

R

Če so vaši rezultati drugačni od podanih, izračunajte za vaš spektrometer relativno napako merjenja absorbance. Pravilno upoštevajte predznak napake!

R

### **3.2-4/4 Ugotavljanje prisotnosti tako imenovane tuje svetlobe**

Za ugotavljanje prisotnosti tuje svetlobe boste uporabili nasičeno raztopino bakrovega sulfata, ki smo jo za ta eksperiment prefiltrirali. Pri valovni dolžini 680 nm boste pri merjenju proti prečiščeni vodi preverili, če lahko zaznate neko merljivo transmitanco. Če ste pri preverjanju pravilnosti valovne dolžine ugotovili odstopanje, ga pravilno upoštevajte!

Opišite izid eksperimenta in ga pojasnite!

R

### **3.3 Spektrometrično določanje koncentracije neke sestavine v vzorcu**

Spektrometrično določanje koncentracije neke sestavine v vzorcu lahko poteka na različne načine, najosnovnejši pa je način na temelju kalibracijske oz. umeritvene krivulje – najpogosteje premice.

Ta način določanja koncentracije neke sestavine poteka v praksi tako, da pri valovni dolžini maksimuma absorpcije najprej določimo absorbanco kalibracijskih raztopin. Te raztopine namreč vsebujejo snov, ki jo nameravamo določiti v vzorcu, le da zanje v nasprotju z vzorcem natančno vemo, koliko te snovi vsebujejo. Kalibracijskih raztopin mora biti praviloma vsaj pet, od prve do zadnje raztopine pa se mora koncentracija ves čas povečevati za isto stopnjo. Kalibracijskim raztopinam določimo absorbanco. Rezultate pa prikažemo grafično. Na abscisi podamo koncentracijo, na ordinati pa absorbanco. Na osnovi grafa se prepričamo, če je odvisnost absorbance od koncentracije linearna. Če lahko to potrdimo, izračunamo za dobljene točke po metodi najmanjših kvadratov enačbo najustreznejše premice ter korelacijski koeficient ( $r$ ). Iz absorbance vzorca bomo lahko na osnovi enačbe kalibracijske premice izračunali koncentracijo sestavine, ki jo določamo. Za pravilno določitev koncentracije mora biti absorbanca vzorca znotraj območja absorbanca kalibracijskih raztopin, določitev pa bo najzanesljivejša, če bo absorbanca vzorca čimbolj v sredini tega območja.

Uporabite enačbe premice, ki ste jo izračunali iz podatkov v tabeli 4, ter izračunajte, kolikšna je koncentracija kobaltovega iona v raztopini, ki ima absorbanco 0,758!



Izračunajte tudi standardni odklon rezultata izračunanega z interpolacijo iz enačbe premice ( $s_{x_0}$ ).



Končni rezultat zapišite pravilno in popolno



### 3.3-1/2 Spektrometrično določanje koncentracije klorida v vzorcu

Spektrometrično določanje klorida je primer posrednega določanja. Barvni reagent vsebuje namreč  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  in  $\text{Fe}(\text{NO})_3$ . Ko pride ta reagent v stik s kloridnimi ioni, se klorid veže z živim srebrom, sprosti pa se tiocianat, ki nato z železom zreagira v kompleks, ki je značilno rdečerrjavo obarvan.

Ker ste se s kemijsko osnovo te metode že seznanili pri kvalitativni analizi, sami napišite ustrezne kemijske reakcije!



Ta način spektrometričnega določanja klorida so v laboratorijski biomedicini res uporabljali in je veljal za postopek z dobro ponovljivostjo in dobro pravilnostjo. Med absorbanco in koncentracijo velja linearna zveza v območju med 80 in 125 mmol/L. Merjenje poteka pri valovni dolžini 460 nm, merimo pa proti slepi.

Iz osnovne raztopine klorida s koncentracijo 280 mmol/L si pripravimo v 50 mL bučkah 5 raztopin z različno koncentracijo klorida. Osnovno raztopino odmerjamo s 25 mL bireto, posamezni odmerki pa so: 15,2 mL, 16,4 mL, 17,6 mL, 18,8 mL in 20 mL.

Pri tej vaji boste v nadaljnjem postopku uporabljali batno mikropipeto, ki je prikazana na sliki 22.

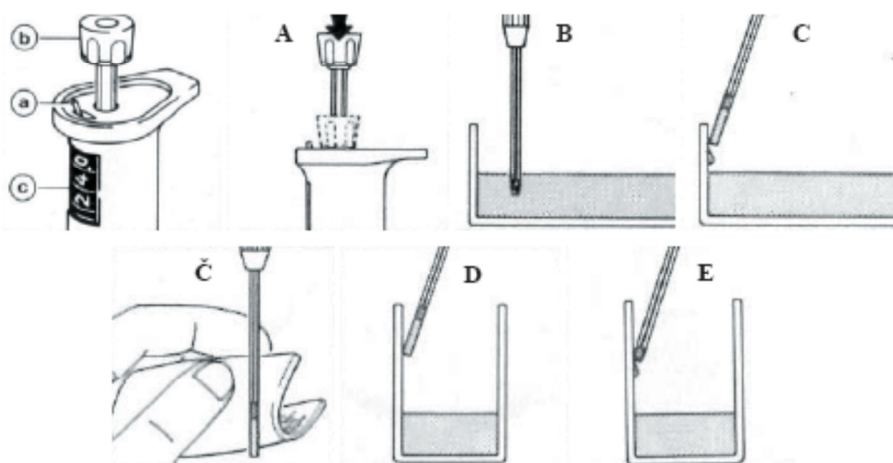


Slika 22. Batna mikropipeta (**K** - kapilara, **T** – teflonsko tesnilo bata, **B** – bat, **P** – telo pipete, **G** - gumb pipete)

Delovanje te vrste batnih pipet temelji na premikih bata, ki potuje v stekleni kapilari. Na koncu bata je teflonsko tesnilo, ki se tesno prilega stenam kapilare. Premik bata po dolžini in notranji premer kapilare določata odmerjeni volumen. Odmerki tovrstnih pipet so tako majhni, da pravilnosti odmerjanja volumnov ne moremo dovolj zanesljivo preveriti s tehtanjem. Za umerjanje – kalibriranje teh pipet uporabimo poseben pripomoček, ki ima natančno določeno dolžino in tako tudi natančno določa končni položaj, ki ga mora doseči bat, da je odmerjeni volumen pravilen. S posebnim vijakom hod bata uravnavaemo toliko časa, da povsem doseže predpisani položaj.

Pravilno uporabo batne mikropipete bomo prikazali na sliki 23.

Z vrtenjem gumba (b) nastavimo želeni volumen (c) in učvrstimo nastavitvev (a). S stiskom gumba, ki je na koncu pipete, potisnemo bat v skrajno lego in iz kapilare iztisnemo vso tekočino ali zrak (slika 23-A). Kapilaro potopimo od 2 do 3 mm globoko v raztopino, ki jo želimo odmeriti (B), in previdno popustimo gumb pipete, da bat vsesa tekočino v kapilaro, ki jo nato izvlečemo iz raztopine. S kapilaro se rahlo dotaknemo stene posode, da stena odtegne odvečno tekočino (C). Pipeto izvlečemo iz posode in previdno obrišemo zunanje stene kapilare, kot je prikazano na sliki 23-Č. Pazimo, da se ne dotaknemo odprtine kapilare in ne odpivnemo tekočine iz nje. Kapilaro naslonimo ob steno posode, v katero bomo prenesli tekočino, ki jo s stiskom gumba iztisnemo (D). S konico kapilare rahlo potegnemo po steni posode, da ostane v njej vsa iztisnjena tekočina (E). Pipeto izvlečemo iz posode in popustimo pritisk na gumb pipete.



Slika 23. Pipetiranje z batno mikropipeto

Da pri delu z batno mikropipeto ne pride do kontaminacije, moramo pred odmerjanjem druge raztopine kapilaro trikrat izprati s prečiščeno vodo in nato vsaj enkrat odpipetiramo novo raztopino in ta odmerek zavržemo. Preden posežemo v to novo raztopino, zunanost kapilare previdno obrišemo z vpojnim papirjem, da ne vnesemo prečiščene vode v raztopino.

Nadaljnji postopek za določanje klorida je prilagojen tako, da za spektrometrično merjenje pripravimo slepo, kalibracijske raztopine in vzorce v epruvetah z zamaški namesto v bučkah.

Taka priprava je hitrejša, saj ni zamudnega redčenja raztopin do oznake, kar je pri bučkah nujno. Postopek v epruvetah temelji na tem, da je končni volumen raztopine v vseh epruvetah enak, ker so volumsko enaki vsi dodatki v posamezne epruvete. Prvi pogoj pa je, da so vse epruvete v začetku postopka suhe. Nadaljnji postopek priprave povzemamo v tabeli. V prvi vrsti tabele je napisano, za katero vrsto raztopine velja postopek, ki je razčlenjen v stolpcu pod imenom raztopine. V posamezno epruveto dodajamo odmerke v takem zaporedju, v kakršnem si sledijo v tabeli. Kaj dodajate v posameznem primeru, je navedeno v skrajnem levem stolpcu tabele.

Tabela 6. Postopek za pripravo raztopin v epruvetah (kot diluent uporabite kar prečiščeno vodo)

	Slepa	Kalibracijske raztopine	Vzorec
Prečiščena voda	25 $\mu$ L	-	-
Raztopina klorida	-	25 $\mu$ L	-
Vzorec	-	-	25 $\mu$ L
Barvni reagent	6 mL	6 mL	6 mL
Diluent	1 mL	1 mL	1 mL

Na koncu vsebino epruvet dobro premešajte. Meriti začnete po 5 minutah, merite pa proti slepi pri valovni dolžini 460 nm.

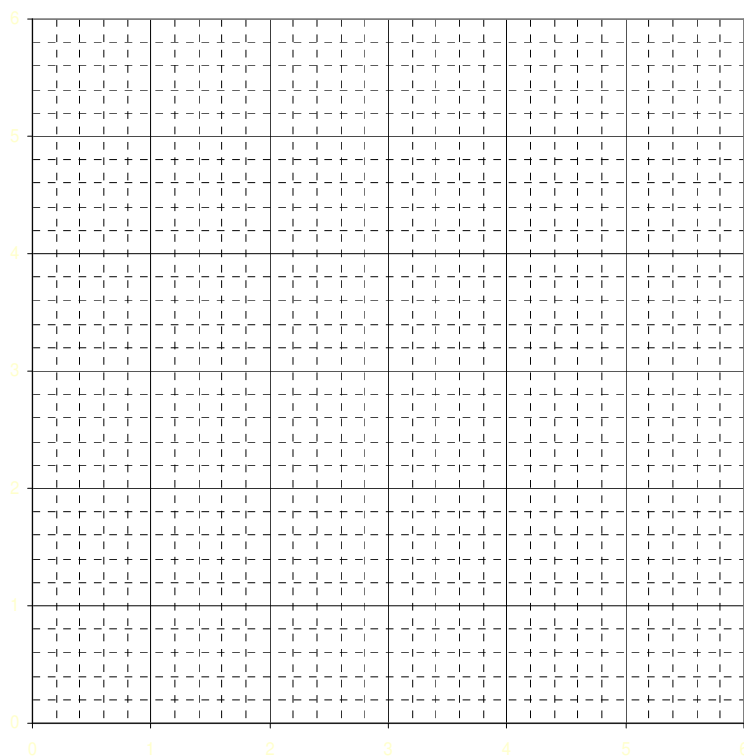


Meritev:

Rezultate meritev vrišite v graf, ki bo prikazoval odvisnost absorbance od koncentracije!

Nasvet: Ker ste v epruvete dodali enake odmerke raztopin z različno koncentracijo klorida in enak odmerke vzorca, nadaljnjega razredčevanja v epruvetah ni treba upoštevati. Za kalibracijski graf in izračun enačbe premice lahko upoštevate kar koncentracije klorida v osnovnih raztopinah, ki ste jih pripravili v bučkah. Tako boste iz enačbe premice neposredno izračunali koncentracijo klorida v vzorcu.

*R*



Presodite, ali kažejo vrisane točke na linearno odvisnost med koncentracijo in absorbanco!

R

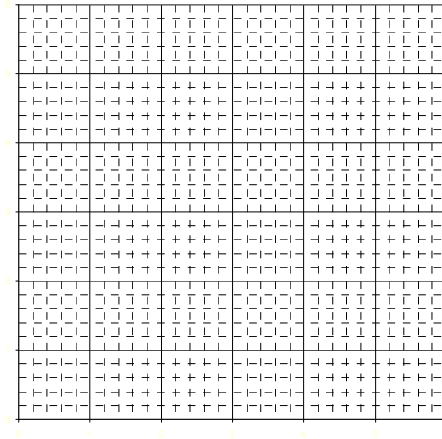
Izračunajte  $a$ ,  $b$ ,  $s_a$ ,  $s_b$ ,  $s_{y/x}$  in  $r$ !

R



Narišite graf ostankov in povzemite ugotovitve!

R



V kalibracijski graf vrišite izračunano premico!

R

Iz absorbance, ki ste jo dobili za svoj vzorec, izračunajte koncentracijo klorida v vzorcu in  $s_{x_0}$  !

R

Pravilno in popolno zapišite rezultat določitve!

R

### 3.3-2/2 Vpliv redčenja na barvni kompleks

Ker ste se s tem srečali že pri kvalitativni analizi, sami pojasnite, kako lahko vpliva redčenje na barvni kompleks!



Eni kapljici raztopine  $\text{FeCl}_3$  dodajte približno 13 mL prečiščene vode in eno kapljico nasičene raztopine  $\text{NH}_4\text{SCN}$ . Raztopino dobro premešajte. V suho plastično posodico odmerite s pipeto 3 mL te raztopine in ji z isto pipeto dodajte 3 mL prečiščene vode in tudi to raztopino dobro

premešajte. Počakajte 5 minut, nato pri valovni dolžini 460 nm ugotovite absorbanco obeh raztopin. Merite proti prečiščeni vodi!



Meritve:

V kakšnem razmerju sta izmerjeni absorbanci? Kakšno razmerje bi pričakovali glede na redčenje?

R

Predpostavimo, da je bila pri določanju klorida koncentracija klorida v vašem vzorcu tako visoka, da je določena absorbanca znatno višja od absorbance kalibracijske raztopine z najvišjo koncentracijo. Ali bo pri meritvi absorbance nastala razlika, če boste raztopino vzorca enkrat razredčili in razredčeno uporabili za pripravo barvnega kompleksa v epruveti, ali pa, če boste z nerazredčenim vzorcem v epruveti pripravili barvni kompleks in nato enkrat razredčili raztopino barvnega kompleksa?

R

S katerim od opisanih načinov boste koncentracijo klorida pravilno določili in v katerem primeru bo izmerjena absorbanca višja?

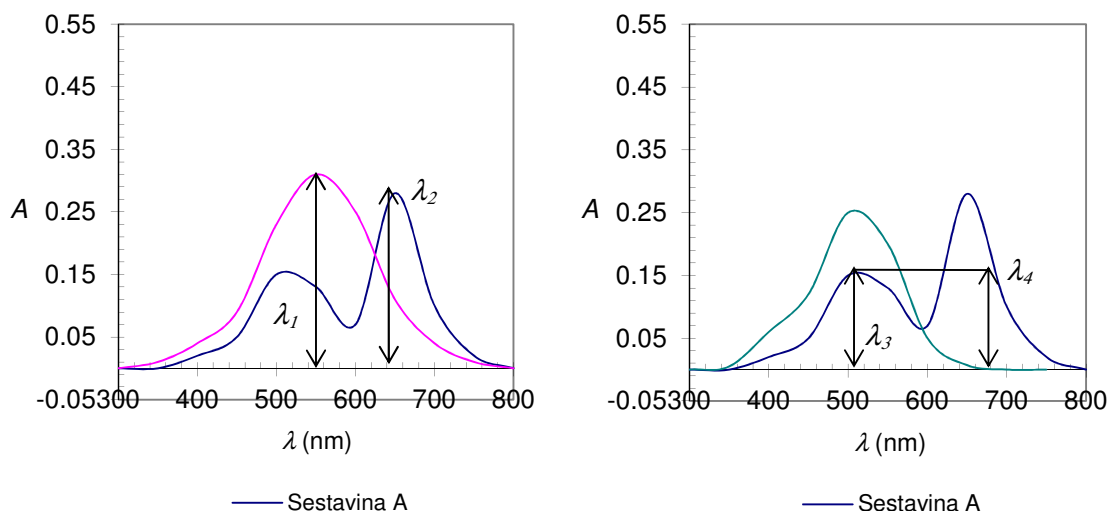
R

### 3.4 Spektrometrično določanje dveh sestavin v zmesi z merjenjem absorbanc pri dveh valovnih dolžinah

Hemoglobin ima zmožnost vezave in s tem prenosa kisika v človeškem telesu. Primarno nastopata v tem procesu hemoglobin in oksihemoglobin. Hemoglobin lahko namesto kisika veže tudi druge molekule oz. ione, ki so zato za nas toksični, kot npr. CO, CN<sup>-</sup>, SO, NO<sub>2</sub>, S<sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>S. Pri kadilcih je npr. lahko tudi do 20 % vezavnih mest hemoglobina blokiranih s CO in tako nezmožnih prenašati kisik, hemoglobin je pretvorjen v derivat karboksihemoglobin. Absorpcijski spektri hemoglobina in njegovih derivatov, kot so npr. oksihemoglobin, karboksihemoglobin, methemoglobin, sulfhemoglobin in drugi, se nekoliko razlikujejo med seboj. Različne oblike hemoglobina v istem vzorcu lahko določamo spektrometrično z merjenjem pri več valovnih dolžinah. Koncentracije  $n$  sestavin v isti raztopini je namreč mogoče določiti z merjenjem absorbanc zmesi pri  $n$  valovnih dolžinah ob predpostavki, da so absorbance aditivne, spektri pa dovolj različni.

Pri tej vaji boste uporabo spektrometrije za analizo zmesi spoznali ob določitvi koncentracije bromidnih in jodidnih ionov ali pa koncentracije nitratnih in jodidnih ionov v vzorcu z merjenjem absorbanc pri dveh valovnih dolžinah. Na sliki 24 sta dva primera izmišljenih spektrov sestavin

A in B oz. A in C, ki omogočajo sočasno določitev obeh sestavin v zmesi z merjenjem pri dveh valovnih dolžinah. Primeri obravnavamo različno.



Slika 24. Dva primera izmišljenih spektrov za dve sestavini v zmesi A in B oz. A in C.

Spektra raztopin A in B se prekrivata v tolikšni meri, da ni mogoče najti valovne dolžine, pri kateri bi v zmesi lahko določili eno od sestavin brez vpliva druge, zato je v tem primeru najbolje meriti pri maksimumu absorpcije posameznih sestavin torej pri  $\lambda_1$  in  $\lambda_2$ , kot je prikazano na sliki 24. Upoštevajte dejstvo, da so absorbance aditivne in na sliki 24 skicirajte potek spektra, ki bi ga dobili, če bi bili obe sestavini A in B v isti raztopini in to v enaki koncentraciji, kot sta jo imeli v vsaki posamični raztopini. Na krivulji označite absorbanci  $A_{zmesi}(\lambda_1)$  in  $A_{zmesi}(\lambda_2)$ .



Za zmes komponent A in B bi pri teh dveh valovnih dolžinah izmerili absorbanci  $A_{zmesi}(\lambda_1)$  in  $A_{zmesi}(\lambda_2)$ , ki ju je mogoče izraziti, kot sledi:

$$A_{zmesi}(\lambda_1) = A_A(\lambda_1) + A_B(\lambda_1) = \epsilon_A(\lambda_1) \cdot c_A \cdot b + \epsilon_B(\lambda_1) \cdot c_B \cdot b$$

$$A_{zmesi}(\lambda_2) = A_A(\lambda_2) + A_B(\lambda_2) = \epsilon_A(\lambda_2) \cdot c_A \cdot b + \epsilon_B(\lambda_2) \cdot c_B \cdot b$$

Pojasnite pomen vseh simbolov!



Molarne absorpcijske koeficiente  $\epsilon_A(\lambda_1)$ ,  $\epsilon_A(\lambda_2)$ ,  $\epsilon_B(\lambda_1)$  in  $\epsilon_B(\lambda_2)$  določimo tako, da raztopinama posamičnih snovi z znano koncentraciji A oz. B izmerimo absorbanci v standardni enocentimetrski celici ( $b = 1$  cm) pri  $\lambda_1$  in  $\lambda_2$ . Tako preostaneta v izrazih za absorbanci zmesi edini spremenljivki koncentraciji komponent A in B in ju zato lahko izračunamo iz sistema obeh enačb.

**Primer:** Absorpcijska spektra raztopin  $K_2Cr_2O_7$  in  $KMnO_4$  pripravljenih v žveplovni kislini koncentracije 1 mol/L se prekrivata. Absorpcijski maksimum  $K_2Cr_2O_7$  je pri 440 nm.  $KMnO_4$  močno absorbira svetlobo pri 545 nm. Da bi določili koncentraciji  $K_2Cr_2O_7$  in  $KMnO_4$  v zmesi, smo pri teh dveh valovnih dolžinah v enocentimetrski kiveti izmerili absorbanci zmesi obeh sestavin ter absorbanci raztopin posameznih snovi z znano koncentracijo. Rezultati vseh meritev so v preglednici.

	$A_{440 \text{ nm}}$	$A_{545 \text{ nm}}$
Zmes	0,405	0,712
Raztopina $K_2Cr_2O_7$ , $c = 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$	0,374	0,009
Raztopina $KMnO_4$ , $c = 2,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$	0,019	0,475

Izračunajte koncentracijo  $K_2Cr_2O_7$  in  $KMnO_4$  v zmesi.



Drugače obravnavamo zmes komponent A in C, ki je prikazana na desni strani slike 24. Tudi za ta primer skicirajte potek spektra, ki bi ga dobili, če bi bili obe sestavini A in C v isti raztopini in to v enaki koncentraciji, kot sta jo imeli v vsaki posamični raztopini. Na krivulji označite absorbanci  $A_{zmesi}(\lambda_3)$  in  $A_{zmesi}(\lambda_4)$ .



Ker se v tem primeru spektra ne prekrivata povsem, lahko s primerno izbiro valovnih dolžin način računanja poenostavimo. Če za  $\lambda_3$  izberemo valovno dolžino levega lokalnega maksimuma spektra komponente A in na desnem vrhu tega spektra poiščemo valovno dolžino  $\lambda_4$ , pri kateri je absorbanca komponente A natanko enaka kot pri  $\lambda_3$ , komponenta C pa pri tej valovni dolžini ne absorbira, se v primerjavi s primerom zmesi A in B, sistem dveh enačb bistveno poenostavi kot sledi:

$$A_C(\lambda_4) = 0$$

$$A_{zmesi}(\lambda_4) = A_A(\lambda_4) = \epsilon_A(\lambda_4) \cdot c_A \cdot b$$

$$A_A(\lambda_3) = A_A(\lambda_4)$$


$$A_{zmesi}(\lambda_3) = A_A(\lambda_3) + A_C(\lambda_3) = A_A(\lambda_4) + A_C(\lambda_3) = \epsilon_A(\lambda_4) \cdot c_A \cdot b + \epsilon_C(\lambda_3) \cdot c_C \cdot b$$

### **3. Določitev koncentracije nitratnih in jodidnih ali bromidnih in jodidnih ionov v isti raztopini vzorca**

V analizo boste dobili vzorec, ki vsebuje nitratne in jodidne ali nitratne in bromidne ione. Vaša naloga je, da spektrometrično določite masno koncentracijo obeh sestavin v vzorcu. Ker nas kot rezultat analize zanimajo masne koncentracije, uporabljate zvezo:  $A = \varepsilon \cdot c \cdot b = \frac{\varepsilon}{M} \cdot \gamma \cdot b = k \cdot \gamma \cdot b$ .

Sicer je način računanja enak, kot smo ga že opisali. Da boste lahko določili sorazmernostni faktor  $k$  za posamezni sestavini pri posameznih valovnih dolžinah, boste imeli na razpolago raztopini z masno koncentracijo posameznih ionov 5 mg/L.

Analize se lotite po stopnjah:

1. Preberite navodila za upravljanje spektrometra Lambda EZ 201, ki so na koncu tega poglavja.
2. Posnemite spekter prve raztopine posamičnih ionov s koncentracijo 5 mg/L v enocentimetrski kiveti iz kvarčnega stekla proti prečiščeni vodi v območju valovnih dolžin 190-300 nm. Shranite spekter. Uporabite navodila, ki so v nadaljevanju, in na kratko povzemite, kako boste to naredili.  

3. Posnemite spekter druge raztopine posamičnih ionov s koncentracijo 5 mg/L v enocentimetrski kiveti iz kvarčnega stekla proti prečiščeni vodi v območju valovnih dolžin 190-300 nm. Shranite spekter pod drugo številko kot prej.
4. Prikažite spektra na istem grafu. Presodite, kateremu primeru na sliki 26 je Vaš primer bolj podoben in na kakšen način sta bili pri tem primeru izbrani valovni dolžini. S sledenjem absorbanc vzdolž spektra pri različnih valovnih dolžinah (Trace) presodite, kateri valovni dolžini sta najprimernejši za analizo zmesi. Smiselnost izbire valovnih dolžin preverite pri asistentu. Za obe sestavini odčitajte absorbanci pri obeh izbranih valovnih dolžinah. Natisnite spektra.
5. Posnemite spekter vzorca v enocentimetrski kiveti iz kvarčnega stekla proti prečiščeni vodi v območju valovnih dolžin 190-300 nm. Odčitajte absorbanci pri obeh prej izbranih valovnih dolžinah. Shranite spekter. Natisnite spekter.
6. Vsaj enkrat ponovite meritve absorbanc vseh treh raztopin pri obeh izbranih valovnih dolžinah tako, da sledite navodilom opisanim pod naslovom **II. Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**.
7. Izračunajte rezultat analize.

**Spektrometrično določanje dveh sestavin v zmesi z merjenjem absorbanč pri dveh valovnih dolžinah**  
**(Poročilo o analizi)**

Priložite kopiji spektrov.



Napišite izbrani valovni dolžini.



$\lambda_1 =$

$\lambda_2 =$

Utemeljite izbiro valovnih dolžin.

*R*

Vpišite rezultate meritev absorbanč v preglednico.



	$A_{\lambda_1}$	$A_{\lambda_2}$
Raztopina _____, $\gamma = 5 \text{ mg/L}$		
Raztopina _____, $\gamma = 5 \text{ mg/L}$		
Vzorec		

Izračunajte koncentracijo obeh ionov v vzorcu in podajte končni rezultat analize.



## Postopek spektrometričnega merjenja s spektrometrom Lambda EZ 201, Perkin Elmer



Spektrometer vklopimo tako, da preklopimo glavno stikalo spektrometra, ki je na sprednji plošči spektrometra, spodaj levo in vklopimo tiskalnik. Spektrometer samodejno opravi začetna preverjanja. Izhodišča za upravljanje spektrometra je glavni meni, ki ga dosežemo s tipko MAIN MENU. Med polji na zaslonu se premikamo s puščicami. Posamezne izbire ali vpise potrjujemo z ENTER. Na možnosti prejšnjih izbir se vračamo z RETURN.

### I. Snemanje spektra

1. Snemanja spektra začnemo tako, da iz glavnega menija izberemo WL SCAN in potrdimo z ENTER, nadalje z ENTER potrdimo DATA MODE, kjer mora biti izbrano merjenje absorbance (1. abs). Če to ni, pri Select Option vpišemo 1 in potrdimo z ENTER.
2. Da določimo pogoje meritve, izberemo TEST SETUP in potrdimo z ENTER. Če so izbrane nastavitve ustrezne, nadaljujemo pri točki 3. Sicer nastavitve popravimo. Območje valovnih dolžin popravimo tako, da v polje Start WL (nm) vpišemo višjo valovno dolžino, potrdimo z ENTER, v polje Stop WL (nm) nato vpišemo nižjo valovno dolžino in ponovno potrdimo z ENTER. Opredelimo meji za prikaz absorbanc. V polje Up scale vpišemo zgornjo, v polje Lo scale pa spodnjo mejo območja npr. 1 in 0, vsak vpis potrdimo z ENTER.
3. Nadaljujemo s pritiskom tipke FORWARD. V nosilec za kiveto, ki je bližji sprednji plošči instrumenta vstavimo kiveto s preiskovano raztopino, v drugi nosilec vstavimo kiveto s slepo. Merjenje sprožimo s tipko START. Na zaslonu se izriše spekter preiskovane raztopine.
4. Spekter lahko nadalje obdelujemo z vpisom številke posameznih izbir, ki so navedene pod spektrom in sicer:
  - Izbira 1-Trace omogoča odčitavanje podatkov s trenutno aktivnega spektra s premikanjem kazalnika vzdolž spektra, kar dosežemo s tipkama s puščicama.
  - Izbira 3-Rescale omogoča spremembo skal obeh osi spektra, če prikaz spektra ni ustrezen oz. sega iz območje.
  - Izbira 4-Print omogoča, da spekter natisnemo z izbiro Printer.
  - Izbira 6-Files omogoča shranitev spektra in pregledovanje shranjenih spektrov. S podizbiro 2-Save scans spekter shranimo tako, da v polje scan num vpišemo številko, pod katero naj se spekter shrani. Za pregledovanje spektrov izberemo 4-Overlay ter vpišemo številko, pod katero je spekter shranjen. S to izbiro lahko prikažemo več spektrov s prekrivanjem. Vrednosti lahko odčitavamo z zadnjega naloženega spektra z že prej opisano izbiro 1-Trace.
5. Nov spekter pri enakih pogojih posnamemo tako, da zamenjamo preiskovano raztopino v kiveti. Kiveto vstavimo nazaj v nosilec in merjenje sprožimo s tipko START.

**II. Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**

Iz glavnega menija izberemo PHOTOMETRY in izbiro potrdimo z ENTER, nadalje z ENTER potrdimo DATA MODE. Pri Select Option izberemo merjenje absorbance (1. abs) tako, da vpišemo 1 in potrdimo z ENTER, nadalje izberemo TEST SETUP in potrdimo z ENTER, vpišemo številko vzorca ter potrdimo z ENTER. V polje WL (nm) vpišemo valovno dolžino in potrdimo z ENTER. Nadaljujemo s pritiskom tipke FORWARD. V prvi nosilec vstavimo kiveto s slepo, v drugi kiveto s preiskovano raztopino. Merjenje sprožimo s tipko START. Na zaslonu se izpiše rezultat meritve.

**Napotki za izvedbo vaje 3.2 Preverjanje spektrometra s spektrometrom Lambda EZ 201, Perkin Elmer**

Preberite navodila za merjenje s spektrometrom Lambda EZ 201, Perkin Elmer, ki so na prejšnji strani.

**3.2.-1/4 Preverjanje pravilnosti valovne dolžine**

Merite tako, da proti slepi posnamete spekter obeh oblik indikatorja v območju valovnih dolžin med 400 in 550 nm, kot je opisano na prejšnji strani pod naslovom **I. Snemanje spektra**. Spektra shranite, prikažite s prekrivanjem in poiščite valovno dolžino izobestične točke ter graf natisnite.

**3.2-2/4 Preverjanje linearne odvisnosti absorbance od koncentracije**

Merite tako, kot je opisano pod naslovom **II. Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**.

**3.2-3/4 Preverjanje pravilnosti merjenja absorbance**

Merite tako, kot je opisano pod naslovom **II. Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**.

**3.2-4/4 Preverjanje prisotnosti tako imenovane tuje svetlobe**

Merite tako, kot je opisano pod naslovom **II. Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**. Razlika je le v tem, da pri Select Option izberete merjenje transmittance (2. %T) in ne absorbance.

**Napotki za izvedbo vaje 3.3 Spektrometrično določanje koncentracije neke sestavine v vzorcu s spektrometrom Lambda EZ 201, Perkin Elmer**

Merite tako, kot je opisano na prejšnji strani pod naslovom **II. Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**.

**VPRAŠANJA**

1. Kaj je absorpcijski spekter in kaj vidimo iz njega? Kako ga dobimo?
2. Kaj je  $\lambda_{\max}$  in zakaj je pomembna?
3. Napišite območja valovnih dolžin za posamezne obarvanosti svetlobe!
4. Če je vrednost transmittance visoka, potem raztopina snovi \_\_\_\_\_ prepušča svetlobo, zato jo \_\_\_\_\_ absorbira in bo absorbanca \_\_\_\_\_.
5. Če je vrednost absorbance visoka, potem raztopina snovi \_\_\_\_\_ absorbira svetlobo, zato jo \_\_\_\_\_ prepušča in bo transmittanca \_\_\_\_\_.



6. Kaj je pri spektrometričnem merjenju tako imenovana slepa? Zakaj jo potrebujemo? Kako jo pripravimo in kako uporabimo ter kaj s tem dosežemo?
7. V petih točkah povzemite, kako poteka merjenje na spektrometru!
8. Zakaj moramo v začetku spektrometričnega merjenja vselej uravnati ničelno vrednost? Na kakšen način to dosežemo? Kakšne bi bile posledice, če tega ne bi naredili? Ali bi bila absorbanca, ki bi jo izmerili za vzorec, prenizka ali previsoka?
9. Navedite štiri vzroke, zaradi katerih moramo pred spektrometričnim merjenjem vedno uravnati 100% prepustnost? Kako to naredimo? Kaj se je v resnici dogajalo v instrumentu, ko ste vrteli gumb za uravnanje 100% prepustnosti? Nekateri instrumenti uporabljajo drugačen način uravnavanja 100% prepustnosti. Kakšen?
10. Kaj vse moramo občasno preverjati pri spektrometru?
11. Na katera dva osnovna načina lahko preverjamo pravilnost valovne dolžine pri spektrometru? Pri vsakem od načinov navedite konkretne primere!
12. Kako preverimo linearnost pri spektrometru in s katerim statističnim parametrom jo ovrednotimo?
13. Kako preverimo pravilnost absorbance in kako jo izrazimo?
14. Kako preverimo prisotnost tako imenovane tuje svetlobe in kaj je tuja svetloba?
15. Kaj je izobestična točka? Prikažite jo na ustreznem grafu! Ne pozabite označiti abscise in ordinate! Od česa je bil odvisen podatek za valovno dolžino izobestične točke?
16. Kako pri spektrometričnem določanju neke sestavine dobimo kalibracijsko premico in kako jo uporabimo? Kaj vzamemo kot odvisno in kaj kot neodvisno spremenljivko? Koliko kalibracijskih raztopin je potrebnih za dovolj zanesljivo kalibracijsko premico in kaj mora za kalibracijske raztopine še veljati? Kdaj je določitev koncentracije neke sestavine v vzorcu najbolj zanesljiva?
17. Napišite kemijske reakcije, na katerih temelji spektrometrično določanje klorida! Predpostavimo, da je koncentracija klorida v vašem vzorcu višja od najvišje koncentracije kalibracijske raztopine. Kako bi ravnali, da bi koncentracijo klorida v vzorcu kljub temu lahko pravilno določili? Kakšno ravnanje pa bi vodilo do napačnega rezultata in še, ali bi bil pri tem rezultat previsok ali prenizek?
18. Kaj je osnovna naloga kivet pri spektrometričnem merjenju? Kateri dve osnovni zahtevi veljata za kivete? Kako vstavljamo kivete v nosilec za kivete? Kako visoko jih napolnimo s tekočino in kaj moramo nato preveriti?
19. Na čem temelji delovanje batnih pipet, ki imajo stekleno kapilaro? Kaj določa odmerjeni volumen? Na kakšen način kalibriramo te pipete?
20. Kako spektrometrično določamo več sestavin v zmesi?
21. Narišite primer spektrov dveh komponent in spekter obeh sestavin v zmesi, če sta njuni koncentraciji enaki kot v raztopinah posamičnih sestavin. Skicirajte še potek spektra zmesi, ki bi ga dobili, če bi združili enaka volumna raztopin posamičnih snovi.
22. Skicirajte spektre in opišite primer, ko se način računanja pri določanju dveh sestavin v zmesi poenostavi. Skice spektrov naj bodo čim bolj različne od primera opisanega pri vaji.

#### 4. POTENCIOMETRIJA

Koncentracijo fluoridnih ionov v pitni vodi je potrebno nadzirati, saj je najvišja dopustna koncentracija zakonodajno predpisana. Zmerne koncentracije fluorida v vodi so koristne za pravilen razvoj zob pri otrocih, redno uživanje vode z višjo koncentracijo fluoridnih ionov je za prebivalstvo škodljivo in vodi v endemično fluorozo.

Potenciometrija je ena od najpogosteje uporabljenih metod za določanje fluoridnih ionov v vodi, saj jo odlikujejo enostavnost in hitrost ter široko dinamično območje. Fluoridno elektrodo uvrščamo med ionsko selektivne elektrode (ISE), natančneje primarne, kristalne s homogeno membrano. Membrana je kristal  $\text{LaF}_3$  dopiran z  $\text{EuF}_2$ .

V katero širšo skupino analiznih metod uvrščamo potenciometrijo in kaj merimo?



Narišite razvejeno shemo, ki ponazarja delitev elektrod v potenciometriji?



V čem je razlika med ionsko selektivnimi in konvencionalnimi elektrodami?



Napišite splošno obliko Nernstove enačbe za polčlen  $\text{M}^{n+}_{(\text{aq})} + n e^- \rightarrow \text{M}_{(\text{s})}$ .



Napišite matematično zvezo za izračun potenciala potenciometrične celice.



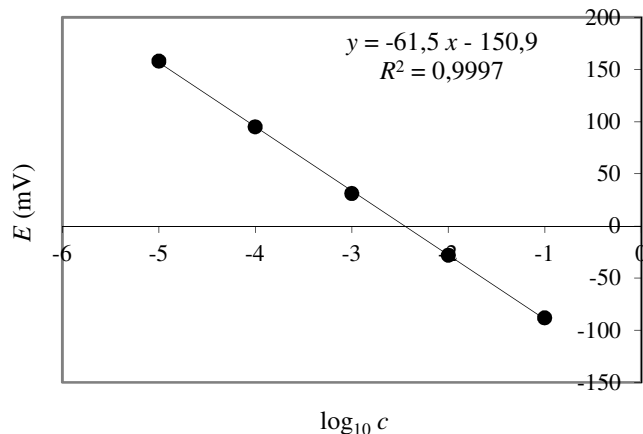
Napišite matematično zvezo, ki povezuje napetost ionsko selektivne elektrode izmerjeno proti referenčni elektrodi ter aktivnost ionske zvrsti za primer fluoridne ISE in kalijeve valinomicinske ISE.



Elektrodni potencial je neposreden odraz aktivnosti ionske zvrsti v raztopini. Zveza med aktivnostjo,  $a_{F^-}$  in koncentracijo,  $c_{F^-}$ , je:  $a_{F^-} = \gamma_{F^-} \cdot c_{F^-}$ , kjer je  $\gamma_{F^-}$  aktivnostni koeficient, ki je odvisen od ionske moči raztopine. Če želimo potenciometrično določiti koncentracijo neke zvrsti v vzorcu, moramo uporabiti posebne prijeme, saj ne sme biti razlik v ionski moči kalibracijskih raztopin in vzorca, do česar bi prišlo, če bi kalibracijske raztopine pripravili zgolj z različnimi koncentracijami NaF in naredili kalibracijo po metodi kalibracijske premice. Katere načine uporabljamo, da potenciometrično pravilno določimo koncentracijo neke ionske zvrsti v raztopini?



Pri instrumentih, ki ne omogočajo kalibracije z vnosom pION oz. pX vrednosti, izvedemo postopek tako, kot je običajno za metodo kalibracijske premice le, da moramo pred tem vsem raztopinam izravnati ionsko moč. To naredimo tako, da najprej odpipetiramo vsako standardno raztopino fluoridnih ionov v suho posodo iz polimerne snovi. K vsakemu standardu nato s pipeto dodamo enak volumen raztopine za uravnanje ionske moči, kot smo pred tem odmerili standarda. Izračunamo koncentracije fluoridnih ionov v tako pripravljenih raztopinah ter dobljene vrednosti logaritmiramo. Za vsako raztopino standarda izmerimo napetost med fluoridno in referenčno elektrodo ter preverimo linearnost zveze tako, da narišemo graf, kot je prikazano na sliki 25. Izračunamo enačbo najustrežnejše premice skozi niz točk. Iz napetosti, ki smo jo izmerili za vzorec, ki smo ga obravnavali enako kot standarde, izračunamo iz enačbe premice logaritem koncentracije fluoridnih ionov.



Slika 25. Kalibracijski graf za potenciometrično določitev fluoridnih ionov.

Uporabite podatke, ki so na sliki 27 in izračunajte množinsko in masno koncentracijo fluoridnih ionov v vzorcu vode, za katerega ste po dodatku raztopine za uravnanje ionske moči izmerili potencial 120,0 mV.  $M_F = 19,00$  g/mol



Pri vajah boste koncentracijo fluoridnih ionov v mineralni vodi določili na osnovi dvotočkovne kalibracije pri uravnani ionski moči raztopin. Uporabili boste način kalibracije, pri kateri opredelimo pION oz. pX vrednosti kalibracijskih standardov; podobno kot pri pH-metriji kalibracijo naredimo na osnovi znanih pH vrednosti kalibracijskih pufrov. S takim načinom dobimo za preiskovano raztopino kot rezultat že pX vrednost, podatek o koncentraciji iona nato izračunamo enako kot iz pH izračunamo koncentracijo  $H^+$  ionov.

Izračunajte pX vrednosti za kalibracijski raztopini s koncentracijo fluoridnih ionov  $5,000 \cdot 10^{-6}$  in  $2,500 \cdot 10^{-4}$  mol/L ter pX vrednosti za primer, ko ste 10 ml posamičnega standarda dodali 10 ml raztopine za uravnanje ionske moči. Rezultata zapišite z ustreznim številom signifikantnih mest. Kašno je pravilo glede signifikantnih mest, če število logaritmiramo?



Koncentracijo fluoridnih ionov v dveh vzorcih vod ste določili tako, da ste 15 ml vzorca vode dodali 15 ml raztopine za uravnanje ionske moči. Odčitani pX vrednosti za tako pripravljene raztopine sta bili 4,301 in 4,602. Izračunajte koncentraciji fluoridnih ionov v prvotnih vzorcih vod in ju podajte z ustreznim številom signifikantnih mest. Kakšno je pravilo glede signifikantnih mest, če število antilogaritmiramo? Rezultata izrazite tudi kot masni koncentraciji.

$M_F = 19,00$  g/mol

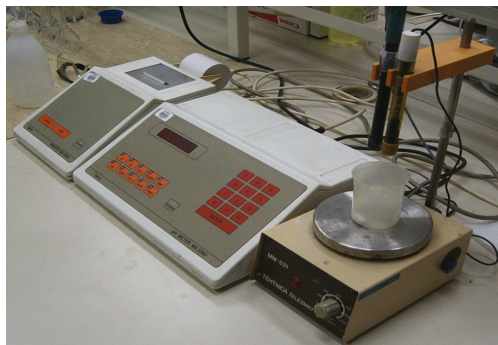


Pri potenciometričnem določanju fluorida razlikujemo med določitvijo koncentracije prostih fluoridnih ionov in določitvijo celotne koncentracije fluoridnih ionov. V prvem primeru uporabimo za uravnanje ionske moči raztopino ISA (Ionic strength adjustor), ki vsebuje elektrolit v dovolj visoki koncentraciji, da je po dodatku ISA vzorcu prispevek vzorca k skupni ionski moči zanemarljiv. Z dodatkom ISA tako vzorcem kot kalibracijskim raztopinam dosežemo izravnavo ionske moči vseh raztopin, zaradi česar lahko potencial fluoridne ISE izmerjen proti referenčni elektrodi povežemo s koncentracijo prostih fluoridnih ionov.

Za določitev celotne koncentracije fluoridnih ionov uporabljamo TISAB (Total ionic strength adjustment buffer), ki se od ISA razlikuje po tem, da poleg elektrolita za uravnanje ionske moči, vsebuje tudi puferske substance za zagotovitev ustreznega pH raztopin ter kompleksant, ki sprosti fluoridne ione iz kompleksov z  $Fe^{3+}$  in  $Al^{3+}$  ioni. Fluoridna ISE zazna namreč le proste fluoridne ione. Raztopina TISAB, ki jo boste uporabljali pri vaji vsebuje natrijev klorid 1 mol/L, natrijev acetat 0,75 mol/L, očetno kislino 0,25 mol/L in natrijev citrat 1 mmol/L. Prvi dve sestavini uravnata ionsko moč, druga in tretja tvorita acetatni pufer in uravnata pH na vrednost 5,00, citrat veže  $Fe^{3+}$  in  $Al^{3+}$ . Uravnanje pH je pomembno, ker je HF srednje močna kislina in je razmerje med  $F^-$  in HF odvisno od pH. Uporabite Henderson – Hasselbalch-ovo enačbo in presodite, katera od ravnotežnih oblik prevladuje pri pH 5,00. Odgovor utemeljite. Konstanta kisline je v Dodatku B.



Cilj vaje je določiti celotno koncentracijo fluoridnih ionov v mineralni vodi in oceniti kolikšno napako naredimo pri določitvi koncentracije, če ionske moči vzorcev in kalibracijskih raztopin ne izravnamo. Instrumentalna oprema, ki jo boste uporabljali pri vaji, je na sliki 26.



Slika 26. pH meter MA 5740 (Iskra) s fluoridno in referenčno elektrodo ter magnetni mešalnik MM-531, (Tehtnica Železniki).

#### **4. Določitev koncentracije fluoridnih ionov v mineralni vodi**

Vaja ima dva dela. Najprej boste opravili določitev koncentracije fluoridnih ionov brez uravnanja ionske moči, ker za to ni potrebna posebna priprava le, da moramo pred analizo iz vzorca mineralne vode odstraniti CO<sub>2</sub>. *To naredimo tako, da približno 200 ml vzorca prelijemo v 250 ml čašo ter jo postavimo v ultrazvočno kopel, nastavimo čas na 20 minut in sprožimo delovanje ultrazvočne kopeli.* Delo si je najbolje razdeliti tako, da prvi študent takoj začne s kalibracijo za postopek 4.1, drugi pa med tem pripravi raztopine za postopek 4.2.

##### **4.1 Določitev koncentracije fluoridnih ionov v mineralni vodi brez uravnane ionske moči**

Elektrodi dvignemo iz raztopine, v kateri smo ju hranili ter ju s prečiščeno vodo oplaknemo nad čašo, ki jo uporabljamo za spiranje. Površino elektrod osušimo tako, da z vpojnim papirjem popivnemo ostanke vode.

Približno 30 ml standarda z nižjo koncentracijo fluoridnih ionov,  $5,00 \cdot 10^{-6}$  mol/L, prelijemo v čašo iz polimernega materiala. Dodamo čisto in suho magnetno mešalo in čašo postavimo na magnetni mešalnik. Hitrost mešanja uravnamo na stopnjo 800 in sprožimo mešanje. Postopek kalibracije začnemo s kalibracijo v eni točki, ki jo nato nadgradimo s kalibracijo v drugi točki.

1. Na instrumentu pritisnemo tipko **CAL 1** in vnesemo vrednost za temperaturo v prostoru (°C), potrdimo z **ENTER**.
2. Pritisnemo tipko **pX**, vnesemo vrednost pX za prvi pufer (pX=5,301), potrdimo z **ENTER**.
3. Vnesemo valenco iona (-1), potrdimo z **ENTER**.
4. Instrument začne spremljati pX vrednost. Nadziramo čas, vrednost bomo potrdili natanko po petih minutah. Vrednosti na zaslonu niso realne, kažejo le stabilnost sistema, zato jih ne odčitamo. Ko preteče pet minut, zaključimo postopek s tipko **ENTER**. Instrument se odzove z dolgim in nato kratkim zvočnim signalom, kar pomeni uspešen zaključek prvega dela kalibracije.

Elektrodi dvignemo iz raztopine, oplaknemo in osušimo. Približno 30 ml standarda z višjo koncentracijo fluoridnih ionov,  $2,5 \cdot 10^{-4}$  mol/L, prelijemo v suho čašo iz polimernega materiala. Elektrodi potopimo v raztopino in sprožimo mešanje.

5. Na instrumentu začnemo kalibracijo v drugi točki s pritiskom tipke **CAL 2**, potrdimo vrednost za temperaturo s tipko **ENTER**.
6. Aktiviramo tipko **pX**. Vnesemo vrednost pX za drugi pufer (pX=3,602), potrdimo z **ENTER**.
7. Instrument začne spremljati pX vrednost. Nadziramo čas, vrednost potrdimo natanko po petih minutah s tipko **ENTER** in tako zaključimo kalibracijo. Zvočni signal instrumenta to potrdi.
8. Po zaključeni kalibraciji pritisnemo tipko **SLOPE** in odčitamo vrednost za relativno strmino elektrode v % in jo vpišemo v zbirno tabelo za dvotočkovno kalibracijo, ki je v nadaljevanju.

Elektrodi dvignemo iz raztopine, oplaknemo in osušimo. Približno 30 ml razplinenega vzorca mineralne vode prelijemo v čašo iz polimernega materiala in vanj potopimo elektrodi.

9. Pritisnemo tipko **pX**, počakamo 5 minut, odčitamo vrednost pX za vzorec ter jo vpišemo v zbirno tabelo za analizo vzorca, ki je v nadaljevanju. Izračunamo vrednosti, ki jih zahteva tabela.

#### **4.2 Določitev koncentracije fluoridnih ionov v mineralni vodi pri izravnani ionski moči**

Tri suhe čaše iz polimernega materiala označimo tako, da bomo razlikovali med standardoma z nižjo oz. višjo koncentracijo fluoridnih ionov ter vzorcem. V vsako čašo odmerimo 15 ml raztopine TISAB s polnilno pipeto. Nato v čaše odmerimo 15 ml ustreznega standarda oz. vzorca s polnilno pipeto, ki jo moramo med odmerjanji različnih raztopin pravilno sprati.

Preberite postopek kalibracije in merjenja v enoti 4.1 in pri 2. oz 6. točki pripišite pX vrednosti, ki veljata za Vaš primer glede na to, da ste z dodatkom raztopine TISAB standarda enkrat razredčili. Ti dve vrednosti ste morali že izračunati med pripravo na to vajo in vpisati v stolpec pX v zbirno tabelo za dvotočkovno kalibracijo, ki je v nadaljevanju. *Z Vašimi raztopinam izvedite postopek dvotočkovne kalibracije in analizo vzorca. V zbirni tabeli vpišite vse zahtevane vrednosti in podajte končni rezultat kot je zahtevano.*

#### **VPRAŠANJA**

1. Na katere načine lahko potenciometrično določimo koncentracijo neke ionske zvrsti v raztopini?
2. Kako izvedemo kalibracijo, če instrument ne omogoča vnosa pX vrednosti kalibracijskih raztopin?
3. Kako poteka kalibracija, če instrument omogoča vnos pX vrednosti kalibracijskih raztopin.
4. Kako izberemo kalibracijski raztopini pri dvotočkovni kalibraciji.
5. Kakšna je razlika med ISA in TISAB raztopino in kakšni sta posledici izbire ene ali druge za določitev koncentracije fluoridnih ionov v vodi?

### Določitev koncentracije fluoridnih ionov v mineralni vodi (Poročilo o analizi)

## Dvotočkovna kalibracija

	$c_{F^-}$ (mol/L)	$c_{F^-}$ (mol/L) v raztopini s TISAB	pX	Strmina elektrode
1. standard brez TISAB	$5,000 \cdot 10^{-6}$			
2. standard brez TISAB	$2,500 \cdot 10^{-4}$			
1. standard s TISAB	$5,000 \cdot 10^{-6}$			
2. standard s TISAB	$2,500 \cdot 10^{-4}$			

## Analiza vzorca

	pX	$c_{F^-}$ (mol/L) v raztopini s TISAB	$c_{F^-}$ (mol/L) v vzorcu	$\gamma_{F^-}$ (mol/L) v vzorcu
Vzorec brez TISAB				
Vzorec s TISAB				

Pravilno in polno podajte rezultata določitve masne koncentracije fluoridnih ionov v mineralni vodi. Pravilno upoštevajte signifikantna mesta.

R

Kolikšno napako naredimo pri določitvi masne koncentracije fluoridnih ionov v mineralni vodi, če ne uporabimo raztopine TISAB?

R

absolutna napaka  $e_i =$

relativna napaka  $e_r =$

Naštete, kaj vse je pri določitvi koncentracije fluoridnih ionov drugače, in prispeva k napaki, če ne uporabimo raztopine TISAB.

R

## 5. pH-METRIJA

Iz kvalitativnega dela vaj že veste, da je pH eden od parametrov, ki vplivajo na potek kemijskih reakcij, hkrati pa tudi podatek, ki lahko že nekaj pove o sestavi vzorca.

V medicini ima pH diagnostičen pomen, pri ugotavljanju nekaterih bolezenskih stanj (npr. ketoacidoze) pa je to ključni parameter. Pri zdravem človeku je pH arterialne krvi oz. plazme med 7,36 in 7,42, torej v zelo ozkem intervalu. Zaradi tega je razumljivo, da morajo biti meritve pH v fizioloških in infuzijskih tekočinah opravljene z upoštevanjem vseh stopenj natančno predpisanega postopka. Zato je pomembno, da se osnov pravilnega merjenja pH naučite že pri vajah iz analizne kemije.

V katero širšo skupino analiznih metod uvrščamo, glede na merjeno fizikalno veličino pHmetrijo?



Katere osnovne enote so potrebne za neko potenciometrično meritev? Z risbo shematsko ponazorite merilni sistem! Poudarite zahteve, ki jih morajo izpolnjevati posamezne enote!



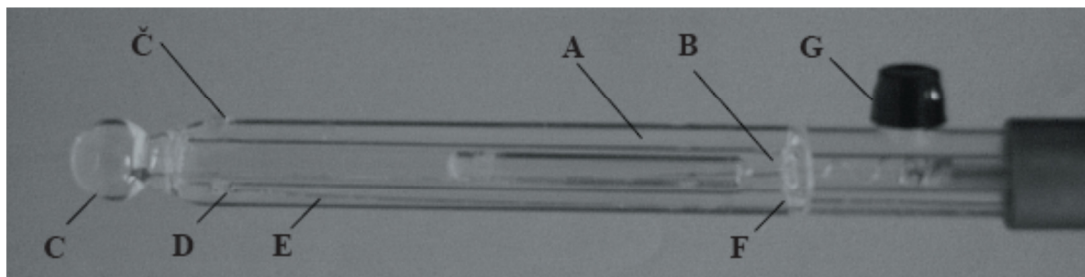
Najosnovnejše, kar potrebujemo za pH-metrijo, je: steklena pH elektroda, referenčna elektroda, pH-meter, pufri z natančno znanim pH ter termometer.

Navedite dva temeljna vzroka, ki utemeljujeta, zakaj moramo za pravilno merjenje pH poznati temperaturo!



Meritve pH boste pri vaji opravili s kombinirano pH elektrodo, katere značilnost je, da v enem kosu združuje tako indikatorsko oz. ionoselektivno kot tudi referenčno elektrodo. Ravnanje s tako elektrodo je enostavnejše, ponazorjena pa je na sliki 27. Telo elektrode v grobem sestavljata dve stekleni koaksialni cevi. Osrednji del, ki se ob koncu razširi v stekleno membrano (C), pripada pH elektrodi (B). Referenčna elektroda (A), ki izpolnjuje prostor med obema steklenima cevema, pa je vrste Ag-AgCl (E,D). Napolnjena je z nasičeno raztopino KCl, ki je hkrati nasičena tudi glede na AgCl (F). To raztopino po potrebi dolivamo v notranjost elektrode skozi odprtino, ki jo zapira čep (G). Med referenčno elektrodo in merjeno raztopino nastane stik skozi keramično frito (Č).





Slika 27. Kombinirana pH elektroda

Elektrodo moramo za merjenje ustrezno pripraviti. V našem primeru jo za nekaj ur postavimo v prečiščeno vodo. Neposredno pred začetkom merjenja moramo odpreti čep, ki zapira odprtino, skozi katero v elektrodo občasno dolijemo predpisano raztopino elektrolita. S tem dosežemo, da lahko raztopina, s katero je elektroda napolnjena, odteka skozi keramično frito. Odtekanje je sicer zelo počasno, pri elektrodi, ki jo uporabljate, ni hitrejša od  $20 \mu\text{L/h}$ , a mora biti za pravilno delovanje elektrode in s tem za pravilno merjenje pH zagotovljeno.

Nadalje moramo pri merjenju pH poskrbeti, da je keramična frita potopljena v preiskovano raztopino. Utemeljite!



Poleg tega moramo paziti, da je raven elektrolita v referenčnem delu elektrode višja od gladine raztopine, katere pH merimo. Zakaj?



Opozoriti moramo, da je stekleni del elektrode zelo občutljiv. Med posameznimi meritvami moramo konec elektrode oplakovati s prečiščeno vodo. Da pa raztopine, v kateri bomo merili pH, ne razredčimo z vodo s površine elektrode, moramo njen konec pred tem osušiti. Elektrode nikoli ne brišemo! Tekočino z njene površine previdno odpivnemo tako, da ji pazljivo približamo košček vpojnega papirja.

Kombinirano pH elektrodo priključimo na pH-meter. Instrument, ki ga boste uporabljali pri vajah, je prikazan na sliki 28 in ima kazalčni prikaz, ki omogoča odčitavanje pH na dveh različnih skalah. Srednja skala je okvirna. Na njej odčitavamo vrednosti pH med 0 in 14. Natančneje lahko neko vrednost pH odčitamo na zgornji skali instrumenta, ki pokriva ožje območje pH, in to  $\pm 1,4$  pH enote. S položajnim stikalom C, ki ima stopnje od 1 do 13, določimo, okrog katere osrednje vrednosti pH bo veljal omenjeni interval.

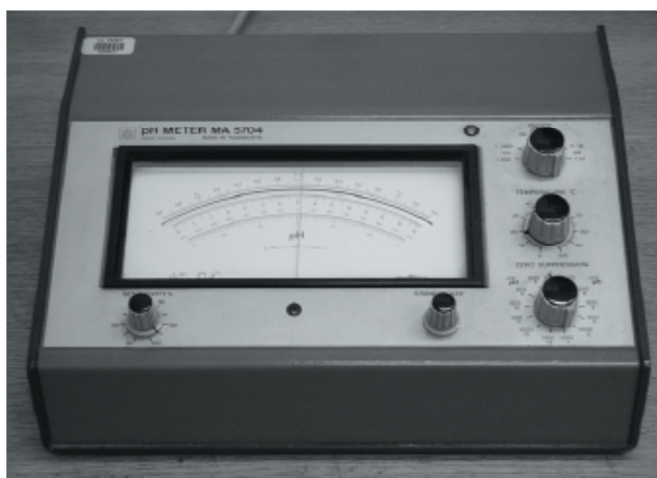
Z gumbom B upravljamo vrtljivi potenciometer, ki nam omogoča, da pri meritvi pravilno upoštevamo temperaturo.

S položajnim stikalom A izberemo stanje, v katerem je trenutno instrument. Če stikalo iz osrednjega položaja (OFF) preklopimo za eno stopnjo v desno, povzročimo elektronski vklop

naprave. V tem položaju instrument ne spremlja spreminjanja potenciala na vhodu, je pa pripravljen na začetek merjenja. Merjenje pH je mogoče, če stikalo preklopimo še za en položaj proti desni. V tem primeru lahko na srednji skali instrumenta odčitamo katerokoli vrednost pH med 0 in 14. Natančnejše odčitavanje pH vrednosti nam ob prejšnji ustrezni nastavitvi stikala C omogoči preklon stikala A še za en položaj v desno. Ob tem stopi v veljavo zgornja ožja pH skala ( $\pm 1,4$  pH).

Z gumbom D upravljamo vrtljivi potenciometer, ki omogoča, da pri kalibraciji pH-metra odklon kazalca na skali instrumenta uravnamo na pravilno pH vrednost.

Za kalibracijo pH-metra potrebujemo dve standardni kalibracijski raztopini pufrov. Osnovni podatki o obeh kalibracijskih pufrih so na sliki 29.



Slika 28. pH-meter MA 5704

### 5.1 Dvotočkovna kalibracija pH-metra

Za pravilno merjenje pH moramo razumeti in upoštevati nekatera osnovna dejstva. Prvi pogoj za pravilno merjenje je, da imajo vsi pufri in vse merjene raztopine enako temperaturo. V klinični kemiji pogosto merimo pH pri 37 °C, sicer pa pH večinoma merimo pri sobni temperaturi. Kemijska ravnotežja so odvisna od temperature. Zato moramo vedno iz podatkov o pufri najprej razbrati pravo pH vrednost za dane pogoje in jo nato pravilno uporabiti v postopku kalibracije pH-metra.

Temperaturo moramo pravilno nastaviti tudi na samem pH-metru, saj bo samo tako izmerjenemu potencialu na skali instrumenta pravilno prirejena pH vrednost.

Ob tem pa se zastavlja vprašanje, zakaj je sploh treba pH-meter kalibrirati, če pa je teoretično poznana zveza med pH in potencialom ter tudi, kako opravimo kalibracijo?

Če začnemo z zadnjim omenjenim, velja splošno pravilo, da rabimo za pravilno kalibracijo pH-metra dva standardna kalibracijska pufra, ki imata tak pH, da bodo vrednosti, ki jih bomo izmerili

za vzorce, ležale med obema. Postopek kalibracije začnemo s pufrom, katerega pH je bližje nevtralnemu.

BECKMAN®		FOR LABORATORY USE	
<p><b>pH 7.00</b></p> <p>Salts for pH BUFFER SOLUTION</p> <p>REORDER NO. 3007</p> <p>PHOSPHATE pH BUFFER</p> <p>39.6 g powder (12 TUBES)</p>	TEMP (°C)	pH	<p><b>Directions for Mixing:</b></p> <p>±0.03 pH relative accuracy*:</p> <p>Dissolve entire contents of one tube in distilled water with minimum resistivity of 2.0 megohm-cm. Dilute to 500 ±2 ml. Mix well.*</p> <p>*Use a good grade of distilled water which has been boiled for 10 minutes minimum. Protect from atmospheric CO<sub>2</sub> while cooling and storing. Store solution in a capped bottle under normal ambient conditions. Do not return used buffer to bottle. Buffer solution is stable for a minimum of 6 months after preparation.</p> <p>STORAGE: Store powder under normal ambient conditions.</p> <p>LOT NO.:</p> <p>BECKMAN INSTRUMENTS, INC. FULLERTON, CA 92634 270-061750-E Made and Printed in U.S.A.</p>
	0	7.12	
	5	7.09	
	10	7.06	
	15	7.04	
	20	7.02	
	25	7.00	
	30	6.99	
	35	6.98	
	40	6.98	
	50	6.97	
	60	6.98	
	70	6.99	
	80	7.00	
90	7.02		
95	7.03		

BECKMAN®		FOR LABORATORY USE	
<p><b>pH 4.00</b></p> <p>Salts for BUFFER SOLUTION</p> <p>REORDER NO. 3005</p> <p>PHTHALATE pH BUFFER</p> <p>61.2 g powder (12 TUBES)</p>	TEMP (°C)	pH†	<p><b>Directions for Mixing:</b></p> <p>For ±0.01 pH relative accuracy†:</p> <p>Dissolve the contents of one tube in distilled water with minimum resistivity of 2.0 megohm-cm. Dilute to 500 ±5 ml. Mix well.*</p> <p>*Store solution in a capped bottle under normal ambient conditions. Do not return used buffer to bottle. Buffer solution is stable for a minimum of 6 months after preparation.</p> <p>†Ref., Standardization of pH Measurements, NBS Special Publication 260-53 (1975).</p> <p>STORAGE: Store powder under normal ambient conditions.</p> <p>LOT NO.:</p> <p>BECKMAN INSTRUMENTS, INC. FULLERTON, CA 92634 270-061746-E Made and Printed in U.S.A.</p>
	0	4.00	
	5	4.00	
	10	4.00	
	15	4.00	
	20	4.00	
	25	4.00	
	30	4.01	
	35	4.02	
	37	4.02	
	40	4.03	
	45	4.04	
	50	4.06	
	55	4.07	
60	4.09		
70	4.12		
80	4.16		
90	4.19		
95	4.21		

Slika 29. Podatki o standardnih raztopinah pufrov, ki jih boste uporabili za kalibracijo pH-metra

Prvi del vprašanja bomo razjasnili ob opisu postopka kalibracije. Najprej na pH-metru odčitamo pH prvega kalibracijskega pufru. Ker realna elektroda navadno ne daje povsem enakega potenciala, kot bi ga za dani pufer pri dani temperaturi morala teoretično dajati, vrednost, ki jo za prvi pufer odčitamo na pH-metru, navadno odstopa od pravilne vrednosti. Zato imajo pH-metri vgrajeno možnost, da to vrednost elektronsko uravnamo na predpisano (v našem primeru uporabimo gumb D). Ko smo to naredili, pa še vedno ne moremo trditi, da bodo vrednosti pH za merjene raztopine pravilne, saj te raztopine ne bodo imele povsem enakega pH kot kalibracijski pufer. Edino, kar lahko merilni instrument v osnovi upošteva, ko posameznim potencialom prireja pH, je teoretična strmina elektrode. Ker pa resnična strmina elektrod navadno odstopa od teoretične, ena sama točka, ki izhaja iz prve stopnje kalibracije, pa o strmini premice še ne pove ničesar, moramo uporabiti še drugo kalibracijsko raztopino. Pri tem pufru vrednost pH samo odčitamo, ne da bi jo kakorkoli popravljali. Če odčitana vrednost odstopa od pravilne, pomeni, da resnična strmina elektrode odstopa od teoretične, zato bomo morali za pravilno določitev pH vzorcev odčitane vrednosti pozneje uravnati. Korekcijo lahko opravimo tudi grafično, ker pa so odstopanja pogosto relativno majhna, je ustrežnejša računsko korekcija, ki jo opravimo tako, da iz podatkov za dve točki izračunamo enačbo premice. V splošnem velja, da vzamemo tisto, kar poznamo, kot spremenljivko  $x$ , drugo, kar želimo ugotoviti, pa kot  $y$ . V našem primeru bodo vrednosti, ki jih bomo za vzorce odčitali na pH-metru, ustrezale  $x$ , pravilne vrednosti za pH teh vzorcev pa  $y$ . Zato bomo za korekcijski graf ali za izračun korekcijske premice vzeli pravilne vrednosti pH pufov kot  $y$ , odčitane pa kot  $x$ . Pri prvem pufru bo  $x$  kar enak  $y$ , saj smo tu prvotno odčitano vrednost elektronsko uravnali na pravo vrednost.

Dodajmo še, da večina pH-metrov korekcijo, ki jo boste vi opravili ročno, naredi samodejno in kot rezultat posreduje že pravo vrednost pH. Namen te vaje pa je, da boste imeli predstavbo in da boste razumeli to, kar je že vgrajeno v sodobnejše naprave.

### **5.1-1/1 Kalibracija pH-metra**

Izmerite temperaturo, ki jo boste nadalje upoštevali v postopku kalibracije! Ker so vse raztopine uravnane na sobno temperaturo, lahko pomerite kar temperaturo v prostoru.



Na pH-metru ustrezno naravnajte gumb B.

Pomagajte si s sliko 29 in napišite, kakšen je pH obeh pufov pri dani temperaturi!



Kaj bosta pomenili ti dve vrednosti,  $x$  ali  $y$ ?



Elektrodo dvignite iz raztopine, v kateri jo ohranjamo med posameznimi vajami. Po končanem delu boste elektrodo ponovno potopili v to raztopino. Snemite čep, ki zapira odprtino, skozi katero v elektrodo občasno dolijemo predpisani elektrolit. Čep odložite na pladenj. Po končanem delu ga boste namestili na prvotno mesto.

Pod elektrodo postavite plastično posodo, ki je namenjena prestrezanju prečiščene vode med oplakovanjem elektrode. Elektrodo oblijte z vodo iz puhalke. Nato vodo s površine elektrode previdno odpivajte z vpojnim papirjem. S počasnim obračanjem posode premešajte raztopino prvega pufera za kalibracijo pH-metra. Kateri pufer bo to?



Elektrodo potopite v raztopino tega pufera. Pazite, da pri spuščanju elektrode ne zadenete ob steno posode!

Na pH-metru preklopite položajno stikalo A iz položaja ON za eno stopnjo v desno (pH od 0 do 14). Katera skala bo na instrumentu pri tem začela veljati in kakšno vrednost pH pričakujete?



Prepričajte se, ali je položajno stikalo C nastavljeno na 7 in približno odčitajte vrednost pH na srednji skali.

Kolikšen del pH enote pomeni najmanjši razdelek na tej skali? Ali bi bilo na omenjeni skali mogoče vrednosti pH krvi oz. plazme dovolj natančno odčitati?



Postopno preklaplajte stikalo C in opazujte, kako se pri tem odčitek na srednji skali instrumenta spreminja. Zapišite nekaj odčitkov pri različnih nastavitvah!



Kateri odčitek je realen glede na uporabljeni pufer? Kakšna nastavitvev stikala C je torej predpogoj za pravilno odčitavanje pH vrednosti na srednji skali instrumenta?



Stikalo C vrnite v položaj 7.

Stikalo A preklopite v položaj za odčitavanje vrednosti pH v ožjem intervalu ( $\pm 1,4$  pH). Katera skala pri tem postane veljavna?



Vrednost pH za osrednji položaj na tej skali (označen je s kvadratom) določa stikalo C. Kolikšen pH torej ustreza kvadratu na skali?

R

Kolikšen pH pa ustreza skrajnemu desnemu robu zgornje skale?

R

Kolikšna je torej vrednost, ki ustreza desnemu, in kolikšna tista, ki ustreza levemu trikotniku na skali, ter kolikšen je skrajni levi rob zgornje skale?

R

Kolikšen del pH enote je najmanjši razdelek na zgornji skali instrumenta? Ali bi bilo na tej skali mogoče vrednosti pH krvi oz. plazme dovolj natančno odčitati?

R

Natančno odčitajte pH! Vrednost spremljajte, dokler ne ugotovite, da se ne spreminja več!



Uporabite gumb D in uravnajte kazalec na pH skali na vrednost, ki je pri dani temperaturi ustrezna za uporabljeni pufer. To je v vsem postopku merjenja edina stopnja, pri kateri uporabite gumb D. Če bi kdaj kasneje nastavitev tega gumba pomotoma spremenili, boste morali ponoviti ves postopek kalibracije.



Vrednost pH, ki ste jo naravnali na pH-metru: \_\_\_\_\_

Naslednje, kar morate storiti, je, da pripravite pH-meter na zamenjavo raztopine. Najprej zmanjšate občutljivost, tako da preklopite stikalo A v položaj za merjenje v širšem obsegu (od 0 do 14). Nato preverite, ali je stikalo C v položaju 7 in stikalo A preklopite nazaj v položaj ON, s čimer boste dosegli, da se pH-meter med menjavo raztopine ne bo odzival na spremembe v pH raztopine.

Elektrodo dvignite iz raztopine. Posodico z uporabljenim pufrom zaprite. Elektrodo oplaknite in jo osušite z vpojnim papirjem. Premešajte drugi kalibracijski pufer. Elektrodo potopite v posodico s tem pufrom. Stikalo A preklopite v položaj za orientacijsko merjenje pH. Preverite, če je stikalo C v položaju 7. Odčitajte približno vrednost pH. Ker je ta odčitek v bližini pH 4, boste za natančnejše merjenje pH na to vrednost nastavili stikalo C. Preklopite stikalo A v položaj za natančnejše merjenje pH.

Katera skala velja od tega trenutka dalje? Kolikšen pH ustreza kvadratu na skali?

R

Kolikšen pH pa ustreza skrajnemu desnemu robu zgornje skale?

R

Kolikšna je torej vrednost, ki ustreza desnemu, in kolikšna tista, ki ustreza levemu trikotniku na skali, ter koliko je skrajni levi rob zgornje skale?

R

Odčitajte vrednost za drugi pufer! Pozor! Tukaj ne smete več uporabiti gumba D. Ko se vrednost pH ustali, jo zapišite!



Vrednost pH, ki ste jo odčitali na pH-metru: \_\_\_\_\_

Kaj pomeni ta vrednost x ali y?

R

Ali dejanska strmina elektrode odstopa od teoretične?

R

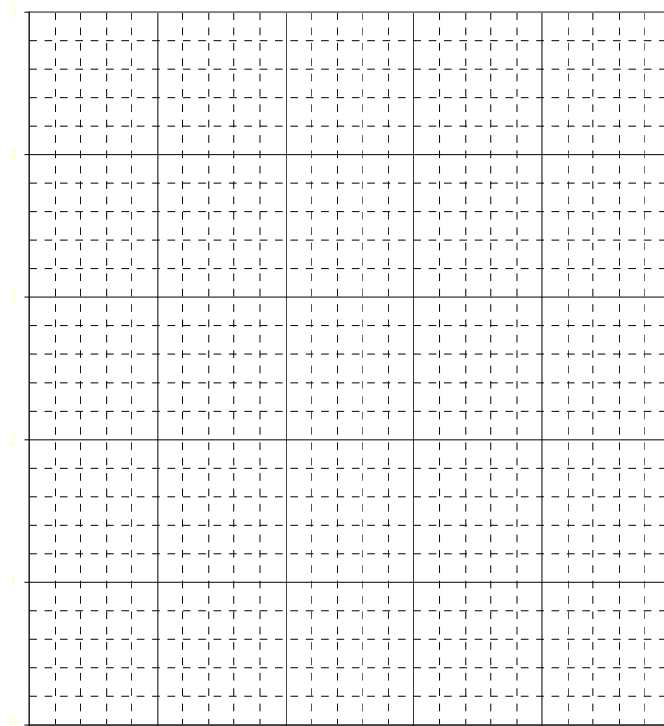
Zapišite podatke, ki ste jih za dve točki pridobili v postopku kalibracije!

R

$T_1 =$

$T_2 =$

Narišite graf, ki bi omogočal, da bi na osnovi kalibracije lahko grafično skorigirali vrednosti pH, ki jih boste odčitali za vzorce. (Abscisa pripada odčitanim vrednostim pH, ordinata pa pravim vrednostim)



R

Izračunajte enačbo premice, ki vam bo omogočala natančnejše korigiranje odčitanih pH vrednosti za vzorce!



Pripravite pH-meter za menjavo raztopine! Najprej zmanjšajte občutljivost merjenja s preklopom stikala A v položaj za merjenje v območju od 0 do 14. Stikalo C vrnite v položaj 7. Stikalo A preklopite v položaj ON.

## 5.2 Pravilna določitev pH vzorcev

V tem delu boste izmerili pH štirih vzorcev. Način merjenja je tak, kot ste ga že spoznali pri postopku kalibracije. Ponovno opozarjamo, da ne smete več uporabiti gumba D, sicer boste morali postopek kalibracije ponoviti. Za pravilno določitev pH vzorcev boste morali odčitane vrednosti kasneje računsko korigirati.

Stopnje v postopku merjenja, če na kratko ponovimo, so:

1. Stikalo A preklopite v položaj za orientacijsko merjenje pH (od 0 do 14).
2. Ocenite, v bližini katere vrednosti je pH vašega vzorca.
3. Ustrezno prilagodite nastavitve stikala C.
4. Preklopite stikalo A v položaj za natančnejše merjenje ( $\pm 1,4$  pH).
5. Natančno odčitajte pH vrednost.

Postopek za pripravo instrumenta na zamenjavo raztopine pa je :

1. Stikalo A preklopimo v položaj za merjenje v celotnem pH območju.
2. Stikalo C preklopimo v položaj 7.
3. Stikalo A preklopimo v položaj ON.

### 5.2-1/1 Pravilna določitev pH vzorcev

Elektrodo dvignite iz raztopine pufra. Posodico s pufrom zaprite. Elektrodo oplaknite s prečiščeno vodo in osušite njeno površino. Vsebino plastične epruvete, ki vsebuje vzorec, premešajte in epruveto podstavite pod elektrodo. Elektrodo previdno uvedite v epruveto. Pazite, da s koncem epruvete ne zadenete ob rob epruvete in da izpodrinjena tekočina ne steče čez njen rob.

Natančno izmerite pH vzorca. Po končani meritvi vrnite zaprto epruveto na njeno mesto v stojalu in tako, kot smo opisali, izmerite še pH preostalih vzorcev. Odčitane vrednosti korigirajte s pomočjo enačbe premice, ki ste jo izračunali v prejšnji enoti!



Oznaka vzorca: \_\_\_\_\_

Meritev: \_\_\_\_\_

Pravilen rezultat: \_\_\_\_\_



### 5.3 Merilno območje elektrode

V dozrajšem besedilu ste zasledili že veliko dejavnikov, od katerih je odvisno pravilno merjenje pH. Navedite jih čimveč!



Za pravilno merjenje pH moramo poleg navedenega upoštevati merilno območje elektrode. Pri pH elektrodah namreč ne moremo kar privzeti, da lahko z njimi merimo v območju od pH 0 do pH 14. V splošnem je znano, da je merjenje pH zelo kislih in zelo bazičnih raztopin lahko vprašljivo. Mnoge elektrode imajo torej ožje merilno območje. Merilno območje elektrode je torej eden od osnovnih podatkov, s katerim se moramo seznaniti, kadar izbiramo elektrodo. Pri tej vaji boste izmerili pH dveh raztopin z znanim pH in poskušali na tej osnovi oceniti, kako je z merilnim območjem vaše elektrode.

#### 5.3-1/1 Merilno območje elektrode

Izmerite pH raztopin z znanim pH!



Znana vrednost pH: \_\_\_\_\_

Izmerjena vrednost pH: \_\_\_\_\_

Kaj lahko glede merilnega območja elektrode sklepate iz teh dveh meritev?



Kakšen je predznak napake pri merjenju pH zelo kislih raztopin in kakšen pri merjenju pH zelo bazičnih raztopin?



### 5.4 Priprava pufru in preverjanje njegovega pH

Za kalibracijo pH-metra uporabljamo standardne kalibracijske pufre, za katere proizvajalec zagotavlja, da je njihov pH v resnici tak, kot je navedeno v deklaraciji. Nabor standardnih kalibracijskih pufrov, ki jih ima neki laboratorij, je navadno zelo omejen. V praksi pa, za zagotavljanje pogojev pri neki kemijski reakciji pogosto rabimo pufer s pH, ki je drugačen od pufrov, ki so nam na voljo. Zato si moramo znati pufer z zahtevanim pH pripraviti sami.

Pripravili si boste pufer, ki bo zmes  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Za obe soli napišite reakciji disociacije! Kateri par ionov bo tisti, ki bo v raztopini deloval puferno?



Kateri od obeh ionov bo ob dodatku baze zmanjševal vpliv baze na pH raztopine tako, da bo z njo reagiral. Napišite reakcijo!



Napišite še reakcijo, ki kaže, kako bo drugi ion ob dodatku kisline zmanjšal njen vpliv na pH raztopine.



Za pripravo pufra boste imeli na voljo raztopino  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , katere koncentracija bo 1/15 mol/L. Enako koncentracijo bo imela tudi raztopina  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . V vsakem primeru boste pufra pripravili 20 mL, in to tako, da boste z 20 mL bireto odmerili ustrezen odmerek prve raztopine in mu dodali z drugo 20 mL bireto še primeren odmerek druge raztopine.

Za ravnotežje:  $\text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}_3\text{O}^+$  je  $K_a = 6,3 \cdot 10^{-8}$ .

Izračunajte, kakšen bi bil pH pufra, ki bi ga pripravili iz 15 mL prve raztopine in 5 mL druge raztopine!



Izračunajte še pH pufra, ki bi ga pripravili iz 8 mL prve raztopine in 12 mL druge raztopine!



Naloga, ki jo boste dobili pri vaji, bo ravno nasprotna. Predpisali bomo pH pufra, ki ga morate pripraviti. Vi pa boste morali pravilno izračunati odmerek prve raztopine in odmerek druge raztopine, ki bo potreben za pripravo 20 mL predpisanega pufra. Zato za vajo izračunajte, koliko mL prve in koliko mL druge raztopine bi morali odmeriti, da bi dobili 20 mL pufra s pH 7,03!



#### **5.4-1/1 Priprava pufra in preverjanje njegovega pH**

Iz raztopine  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , katere koncentracija je 1/15 mol/L, in raztopine  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , ki ima enako koncentracijo, pripravite v plastični posodici 20 mL pufra s pH \_\_\_\_\_.



*Izračun:*

Odmerek prve raztopine bo: \_\_\_\_\_

Odmerek druge raztopine bo: \_\_\_\_\_

Pred začetkom priprave pufra napolnite obe bireti in uravnajte ničlo. Posodo s pripravljenim pufrom zaprite s pripadajočim pokrovčkom in pufer premešajte s počasnim obračanjem posode. Izmerite pH raztopine!



Odčitana vrednost: \_\_\_\_\_

Dejanski pH pufra (ob upoštevanju korekcije): \_\_\_\_\_

Zahtevani pH: \_\_\_\_\_

Ali je dejanski pH pufra enak zahtevanemu?

R

Ali se pri pripravi pufrov lahko zanesemo na teoretični izračun pH ali pa moramo nasprotno vedno z meritvijo preveriti dejanski pH pripravljene raztopine in nato ustrezno uravnati sestavo pufra, dokler ne dosežemo zahtevanega pH?

R

Ali je imel pufer, ki ste ga pripravili, preveč bazičen ali preveč kisel pH?

R

Katero od raztopin, iz katerih ste pripravili pufer, bi morali postopoma še dodajati, da bi v pripravljenem pufri dosegli zahtevani pH?

R

### 5.5 Ugotavljanje sestave puferne raztopine s potenciometrično titracijo

Pri prejšnji vaji ste spoznali, kako pripravimo pufer z zahtevanim pH. V praksi pa je pogosto koristno tudi, da znamo ugotoviti sestavo nekega pufra in prav to bo namen te vaje.

Kolikšen bi bil pH fosfatnega pufra, če bi 20 mL raztopine vsebovalo 33,3 mmol  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ter 33,3 mmol  $\text{HPO}_4^{2-}$ ?



Kolikšen pa bi bil pH, če bi 20 mL raztopine vsebovalo 3,33 mmol  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  in 3,33 mmol  $\text{HPO}_4^{2-}$ ?



Kaj nam o sestavi pufra pove podatek o pH in česa nam ta podatek ne pove?



Napišite reakcijo, ki bi potekla, če bi navedenemu fosfatnemu pufru dodali NaOH!



Predpostavimo, da smo prvemu pufru dodali 40 mg trdnega NaOH, kar je ravno 1 mmol. Kakšna bi bila po tej reakciji množina  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  in kakšna množina  $\text{HPO}_4^{2-}$  v prvem pufru? Kolikšen bi bil po tem dodatku pH prvega pufra?



Izračunajte še, kakšna bi bila po dodatku 40 mg NaOH sestava drugega pufra in kakšen njegov pH!



Kateri puffer je uspešneje izravnal vpliv dodane baze na pH raztopine? Utemeljite zakaj?



Na kratko povzemimo glavne ugotovitve: pH pufra pove množinsko razmerje med sestavinama, na katerih temelji puffer, ničesar pa še ne pove o koncentracijski ravni obeh sestavin. Da bi lahko ugotovili resnično sestavo pufra, moramo poleg pH določiti še eno od sestavin. To pa nam že omogoči, da izračunamo še edini manjkajoči podatek – koncentracijo druge sestavine.

Pri pufrih, kot ste že ugotovili v prejšnji enoti, ena od sestavin v reakcijah prevzema vlogo kisline, druga pa vlogo baze. Kisline oz. baze pa lahko, če le niso preveč šibke, določamo z nevtralizacijskimi titracijami. Pri titracijah šibkih kislin oz. baz ugotavljanje končne točke na osnovi spremembe obarvanosti indikatorja ni najbolj zanesljivo. Boljša rešitev je, da s pomočjo pH-metra spremljamo spreminjanje pH v odvisnosti od volumna, kisline oz. baze, ki jo pri titraciji dodajamo raztopini. Če rezultate meritev prikažemo grafično, dobimo titracijsko krivuljo. Volumen, ki ustreza končni točki titracije, je tisti, ki ga odčitamo v prevojni točki krivulje, kjer je hkrati tudi najstrmejši del krivulje. Končno točko titracije pa lažje kot na osnovi same titracijske krivulje določimo na osnovi grafa, ki ponazarja njen prvi odvod. Za del krivulje okrog končne

točke titracije bomo v primeru padajoče krivulje dobili največjo negativno vrednost odvoda, v primeru rastoče krivulje pa največjo pozitivno vrednost odvoda.

Če primerjamo kislinsko-bazičen značaj fosforjeve kisline in njenih ionov, ugotovimo, da je  $\text{H}_3\text{PO}_4$  izrazita kislina,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  pa ima bolj kislinski kot bazičen značaj ( $K_a > K_b$ );  $\text{HPO}_4^{2-}$  ima nasprotno bolj bazičen kot kislinski značaj ( $K_b > K_a$ ),  $\text{PO}_4^{3-}$  pa je že izrazita baza.

Na sliki 30 je prikazana titracijska krivulja za titracijo raztopine  $\text{PO}_4^{3-}$  z raztopino HCl koncentracije 100 mmol/L. Kolikšen je bil pH raztopine, preden smo ji začeli dodajati kislino?



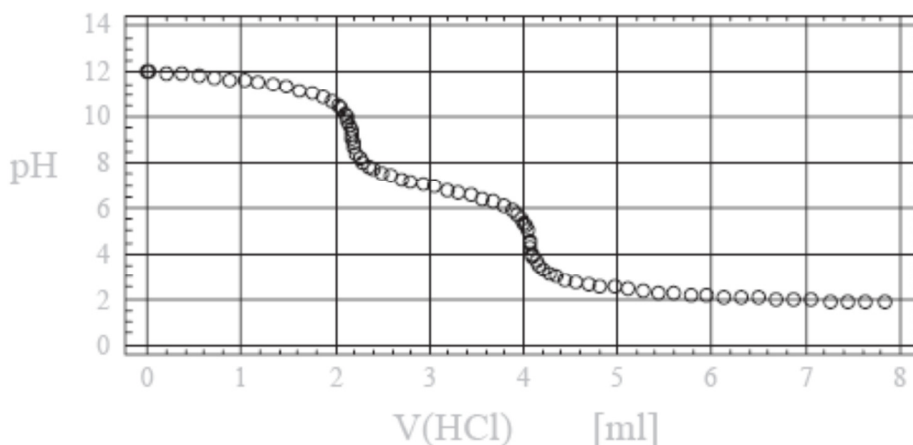
Kako s skupnim imenom poimenujemo reakcije, s katerimi razlagamo kislinski oz. bazični značaj raztopin soli? (Spomnite se na kvalitativni del vaj!)



Napišite reakcijo, ki pojasnjuje bazičnost raztopine  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ !

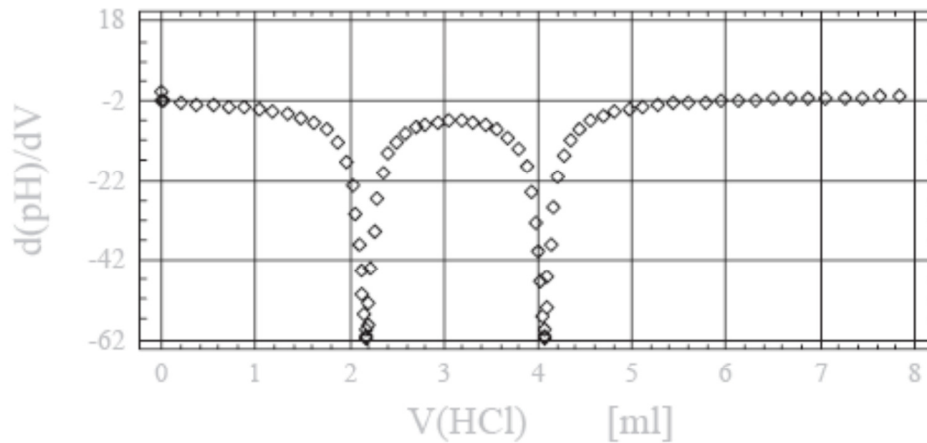


Iz slike 30 ugotovimo, da se, ko začnemo raztopini  $\text{PO}_4^{3-}$  dodajati HCl,  $\text{PO}_4^{3-}$  postopno spreminja v  $\text{HPO}_4^{2-}$ , zaradi česar pH pada. Ko dosežemo prvo prevojno točko, v kateri oblika krivulje preide iz konkavne v konveksno, se je ravno ves  $\text{PO}_4^{3-}$  pretvoril v  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Tu pa je končna točka prve stopnje titracije. Če z dodajanjem HCl nadaljujemo, se bo začel  $\text{HPO}_4^{2-}$  pretvarjati v  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ . Kje je na krivulji točka, ki ustreza stanju, ko se bo ravno ves  $\text{HPO}_4^{2-}$  pretvoril v  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ .



Slika 30. Titracijska krivulja za titracijo raztopine  $\text{PO}_4^{3-}$  z raztopino HCl koncentracije 100 mmol/L

Zakaj na krivulji nimamo še tretjega strmega dela, ki bi kazal na to, da se je ob dodajanju HCl tudi  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  pretvorila v  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ?



Slika 31. Prvi odvod titracijske krivulje s slike 30

S katere slike (30 ali 31) je lažje natančno odčitati volumna, ki ustrezata končnima točkama titracije?



Obe krivulji izhajata iz eksperimenta. Uporabili smo napravo, imenovano titrator, ki smo jo omenjali že v poglavju o volumetriji. Titrator postopoma dodaja kislino in ves čas spremlja pH raztopine. Hitrost dodajanja kisline titrator sproti prilagaja hitrosti spreminjanja pH. Ko začne krivulja prehajati v strmejši del, titrator zmanjša posamezne dodane volumne na najmanjšo možno vrednost, da čimbolj natančno posname strmi del krivulje. Da so posamezni dodatki res majhni, je razvidno iz krivulje. Titrator vrednosti že sproti tudi diferencira in samodejno ugotovi končno točko titracije. Če mu poprej damo podatek o koncentraciji kisline in volumnu vzorca, nam titrator ob koncu poda že rezultat analize v ustreznih enotah. To, kar titratorji že naredijo samodejno, boste vi naredili ročno.

Raztopini vzorca boste dodajali posamezne odmerke HCl s koncentracijo 0,100 mol/L. Vsakič boste natančno odčitali volumen in po vsakem dodatku zapisali stabilno pH vrednost. Da boste lažje ugotovili končno točko titracije, boste s tako imenovanim grafičnim odvajanjem poiskali prvi odvod. Grafično odvajanje temelji na tem, da najprej izračunavamo razlike med vsakim parom zaporednih meritev. Za volumne računamo po vzorcu  $\Delta V = V_{i+1} - V_i$ . Enako naredimo še za pH. Nato izračunamo  $\Delta(\text{pH})/\Delta V$ , s čimer že pridobimo vrednosti, ki jih bomo v graf vnesli na ordinatno os. Te vrednosti bomo na grafu priredili srednjim vrednostim dveh zaporednih volumnov ( $V$ ).

Grafičnega odvajanja se boste navadili ob primeru. Po titratorju smo povzeli nekatere meritve za opisani primer potenciometrične titracije. Rezultati meritev so v počrnjenih stolpcih. Tabela je že nastavljena in delno izpolnjena (do 22. meritve). Do konca izpolnite tabelo sami!



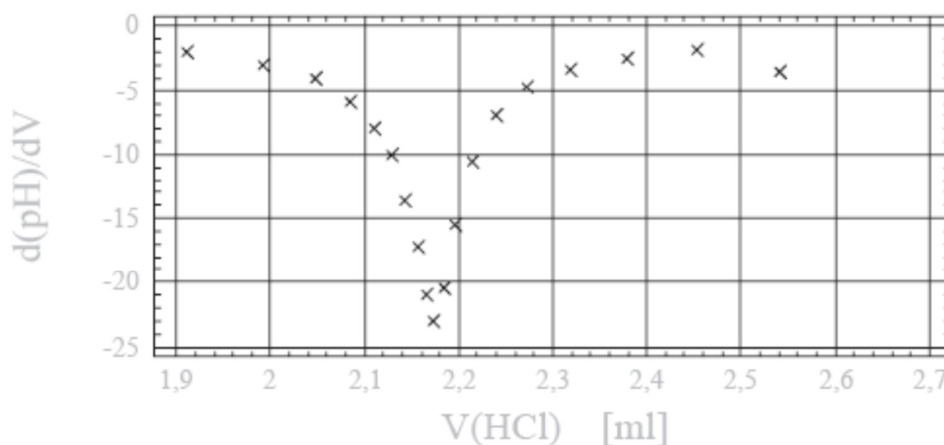
	$\bar{V}$ / mL	$V$ / mL	$\Delta V$ / mL	pH	$\Delta\text{pH}$	$(\Delta\text{pH})/\Delta V$
1		0		12,031		
	0,0025		0,005		0,001	0,02
2		0,005		12,032		
	0,0075		0,005		0	0
3		0,01		12,032		
	0,0125		0,005		0	0
4		0,015		12,032		
16		1,864		10,905		
	1,91		0,092		-0,175	-1,902
17		1,956		10,73		
	1,9925		0,073		-0,216	-2,959
18		2,029		10,514		
	2,0478		0,073		0,216	2,959
19		2,0665		10,366		
	2,0842		0,0375		0,148	3,947
20		2,102		10,157		
	2,1111		0,0355		0,209	5,887
21		2,12		10,013		
	2,1275		0,018		0,144	8
22		2,135		9,863		
	2,143		0,015		0,15	10
23		2,151		9,646		
24		2,1605		9,482		
25		2,1695		9,293		
26		2,178		9,098		
27		2,191		8,831		
28		2,2025		8,652		
29		2,2245		8,42		
30		2,2535		8,218		

31		2,293		8,032	
32		2,345		7,861	
33		2,4115		7,701	
34		2,4925		7,554	
35		2,5876		7,413	

Če vrednosti iz zadnjega stolpca vrišemo v graf v odvisnosti od vrednosti v prvem stolpcu, dobimo sliko 32. Tu smo upoštevali le prvi strmejši del titracijske krivulje, ki je sicer v celoti ponazorjena na sliki 30. Potek naše krivulje je podoben, kot na sliki 31, le da smo tu prikazali samo manjši izrez. To bo omogočilo, da bomo lahko s slike 32 bistveno natančneje odčitali volumen HCl, ki ustreza končni točki titracije. Točke desnega kraka krivulje na sliki 32 povežite s krivuljo. Povežite še točke levega kraka in poiščite presečišče obeh krivulj ter čimbolj natančno odčitajte volumen, ki ustreza presečišču!



Volumen HCl, ki ustreza končni točki titracije, je: \_\_\_\_\_



Slika 32. Krivulja, dobljena z grafičnim odvajanjem rezultatov meritev pri potenciometrični titraciji fosfata.

### 5.5-1/1 Ugotavljanje sestave puferne raztopine s potenciometrično titracijo

V dveh plastičnih posodih boste dobili dva 15 mL odmerka istega fosfatnega pufera. Na osnovi meritve pH in potenciometrične titracije ugotovite natančno sestavo pufera, ki je zmes  $\text{HPO}_4^{2-}$  in  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ !



S titracijo prve raztopine boste ugotovili približen potek titracijske krivulje, zato boste raztopini, ki jo boste titrirali, dodajali 0,5 mL odmerke raztopine HCl, koncentracije 0,100 mol/L. Na osnovi tega poskusa boste ugotovili, kje je strmi del krivulje. Pri drugi titraciji boste v tem območju odmerke HCl z 0,5 mL zmanjšali na 0,1 mL. Po končanem strmem delu krivulje boste lahko odmerke povečali, npr. na 0,3 mL. Zadoščalo bo, če boste za ta del krivulje opravili tri do štiri meritve.

Rezultate druge titracije boste prikazali grafično. Narisali boste titracijsko krivuljo. Z grafičnim odvajanjem boste poiskali prvi odvod. Narisali boste graf za prvi odvod. Da pa boste s tega grafa lahko čimbolj natančno ugotovili volumen končne točke titracije, upoštevajte le tiste odvode, ki pripadajo strmejšemu delu krivulje.

### ***Orientacijska titracija***

Tehnik ali asistent naj vam delovno mesto ustrezno priredi za potenciometrično titracijo.

V prvo raztopino pufru previdno dodajte magnetno mešalo.

Izmerite pH! Podatek za drugo raztopino boste dodali pred začetkom druge titracije.



*Prva raztopina*

*Druga raztopina*

*Srednja vrednost*

*Odčitani pH*

*Dejanski pH*

Na magnetnem mešalniku nastavite minimalno hitrost mešanja in šele nato vklopite mešanje ter ustrezno uravnajte hitrost.

Nastavite tabelo za grafično odvajanje. Vrednosti vpisujte in računajte sproti!

V tabelo vpišite volumen 0 mL. Na pH-metru najprej odčitajte orientacijsko vrednost pH. Ustrezno nastavite stikalo C. Preklopite položajno stikalo A do stopnje za natančnejše merjenje pH. Odčitajte začetno vrednost pH. Dodajte 0,5 mL odmerek HCl. Počakajte, da se vrednost ustali. Odčitajte podatek in ga vpišite v tabelo! Dodajte naslednji odmerek HCl in postopek ponavljajte, dokler ne ugotovite, da ste dosegli iztek titracijske krivulje. Vsakič, ko v postopku merjenja kazalec doseže skrajni rob skale, si pomagajte tako, da ustrezno prilagodite stikalo C.



*Tabela za grafično odvajanje:*

Kje se začne strmi del krivulje?



V katerem območju boste HCl pri drugi titraciji dodajali v odmerkih po 0,1 mL? Okrog katerega volumna je najstrmejši del titracijske krivulje?



Ob koncu prve titracije vas moramo opozoriti na to, kako pravilno ravnamo z magnetnim mešalom. Mešala nikoli ne oplakujemo ob umivalniku, sicer se nam kaj hitro lahko zgodi, da ostanemo brez njega. Vedno ga oplakujemo na delovnem mestu, in to kar v posodici, v kateri smo ga uporabljali. Po vsakem oplakovanju vsebino posodice odlijemo v večjo čašo tako, da nato, ko smo izlili vso tekočino, stena podstavljene čaše zadrži mešalo, da to ne pade v odlito tekočino. Če mešala trenutno ne potrebujemo, ga odložimo v ustrezno posodo.

### ***Druga titracija***

Ob upoštevanju ugotovitev iz prejšnje titracije stitirajte drugi alikvot pufra tako, da boste natančneje posneli strmi del titracijske krivulje.

Najprej izmerite začetni pH in ga vpišite k podatku iz prejšnjega eksperimenta.

Vklopite mešanje in začnite s titracijo. Rezultate meritev vpisujte v tabelo!



*Tabela za grafično odvajanje:*

Narišite graf za pravkar posneto titracijsko krivuljo!



Narišite graf za prvi odvod! Da boste s tega grafa lahko čimbolj natančno ugotovili volumen končne točke titracije, upoštevajte le tiste odvode, ki pripadajo strmejšemu delu krivulje!

R

Volumen končne točke titracije je: \_\_\_\_\_

Kateri fosfatni ion, ki sestavlja pufer, ste določili s titracijo?

R

Na osnovi ugotovljenega pH in volumna končne točke titracije izračunajte, koliko mmolov  $\text{HPO}_4^{2-}$  in koliko mmolov  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  je bilo v 15 mL vašega pufra!

R

Rezultat:

**VPRAŠANJA**

1. Zakaj je za pravilno merjenje pH vedno potrebna dvotočkovna kalibracija? Kako jo opravimo in kako jo upoštevamo, da pravilno določimo pH vzorca?
2. Kako pri merjenju pH pravilno upoštevamo resnično temperaturo v prostoru (dva odgovora)? Pojasnite tudi vzroke!
3. Kako kombinirano elektrodo pravilno pripravimo za merjenje pH?
4. Kaj je merilno območje elektrode in kaj ste glede tega območja ugotovili pri vaji? Katerih pH vrednosti ne moremo pravilno izmeriti z navadnimi pH elektrodami. Kakšne elektrode uporabljamo za te meritve in po čem se razlikujejo od navadnih pH elektrod?
5. Kakšen je predznak napake, če merimo pH zunaj merilnega območja elektrode:  
a) v preveč kislem, b) v preveč bazičnem?
6. Za pravilno določitev pH vzorca moramo poprej opraviti \_\_\_\_\_, pri kateri moramo upoštevati \_\_\_\_\_ v prostoru. Pri merjenju mora biti pH vzorcev znotraj \_\_\_\_\_ elektrode in med pH vrednostima obeh \_\_\_\_\_ raztopin. Če smo v postopku kalibracije ugotovili, da dejanska \_\_\_\_\_ odstopa od \_\_\_\_\_, moramo vrednosti, ki smo jih za vzorce odčitali na pH-metru, kasneje \_\_\_\_\_ ali \_\_\_\_\_.
7. Izračunajte pH pufra, ki ste ga pripravili iz 12 mL raztopine kalijevega dihidrogenfosfata in iz 8 mL raztopine natrijevega hidrogenfosfata, če je bila koncentracija obeh osnovnih raztopin 0,03 mol/L!
8. pH pufra, ki je bil pripravljen iz kalijevega dihidrogenfosfata in iz natrijevega hidrogenfosfata, je 6,8. Kakšno je množinsko razmerje obeh sestavin?
9. Puffer, ki je bil pripravljen iz kalijevega dihidrogenfosfata in iz natrijevega hidrogenfosfata ima pH 7,1. Koncentracija prve sestavine je 0,042 mol/L. Kolikšna je koncentracija druge sestavine?
10. Skupna koncentracija kalijevega dihidrogenfosfata in natrijevega hidrogenfosfata v puforni raztopini je 0,06 mol/L, pH pa je 6,85. Kolikšna je koncentracija posamičnih sestavin?

## 6. OPIS IN PRIMERJAVA ANALIZNIH POSTOPKOV PO LITERATURNIH VIRIH

Cilj te vaje je razvijati zmožnosti abstrahiranja in uporabe informacij iz literaturnih virov ter njihove sinteze v pisnem izdelku. Kot izhodišče za nalogo boste dobili opise analiznih postopkov iz angleških virov. Delo bo potekalo v paru. Vsakdo bo prvo obdelal svoj postopek ali več postopkov in napisal pisno poročilo s predpisano zasnovo, nato boste soočili oba vsebinska dela in napisali kratko primerjalno analizo celotnega gradiva. Pomembno je, da boste nadzirali porabo časa in cilj dosegli v predpisanem roku ter končan izdelek v primerni obliki oddali ob koncu vaj.

Ne prestrašite se tega, da je besedilo v angleščini. Poznano je, da lahko besedilo v tujem jeziku smiselno razumemo že, če poznamo pomen polovice besed. Ne lotevajte se besedila tako, da bi ga najprej poskusili dobesedno prevesti. To je nepotrebna izguba časa. Z večkratnim branjem lahko pogosto že bistveno izboljšamo razumevanje besedila, ne da bi morali prav vsako neznano besedo pogledati v slovar. Preverite pomen besed, ki so za pravilno razumevanje besedila odločilne. Iz besedila morate pravilno povzeti bistvo, če boste to dosegli, vas po pomenu čisto vsake besede ne bo nihče spraševal. Bodite torej racionalni in usmerjeni k cilju.

Da boste pri analizi besedil čim uspešnejši, preberite nekatere koristne nasvete za učinkovito branje in študij na spletnem naslovu: <http://www.dartmouth.edu/~acskills/success/reading.html> Posebej priporočam nadaljnji povezavi Active Reading Strategies (Princeton University) in Concept Mapping (Cornell University).



Nalogo vzemite kot skupinsko in usmerjeno v skupen cilj. Kjer se lahko organizirate in si delo razdelite, naredite tako. Če bo npr. treba za razumevanje vloge posameznih kemikalij v postopkih poiskati dodatne podatke na spletu, lahko to za obe nalogi učinkovito naredi ena oseba. Enako velja npr. za iskanje varnostnih listov ali informacij v katalogih kemikalij.

Pri tej nalogi uporabljajte znanja, ki ste jih že pridobili pri Praktikumumu iz kemije. Spoštujte pravila o pisanju simbolov veličin, enot in matematičnih zvez. Če gradivo, iz katerega izhajate, tega na upošteva, mu ne sledite, temveč zapise ustrezno prilagodite. Uporabljajte tudi znanje o tem, kako pravilno in popolno navedemo kemikalije. Okvirne opredelitve kemikalij konkretizirajte z uporabo katalogov tako kot, da pišete navodila za postopek, ki se bo izvajal v vašem laboratoriju. Natančno predpišite vrsto prečiščene vode, ki je po vaši presoji ustrezna. Predpišite volumetrični pribor, z ustreznimi opredelitvami razreda pribora. Varnostne vidike povzemite na kratko. Za kemikalije, ki niso splošno znane ali so bolj nevarne, poiščite na spletu varnostne liste in jih v besedilu omenite ter priložite. Za kemikalije, katerih vloga v postopku vam ni povsem jasna, poiščite dodatne podatke na spletu, da boste lahko presodili ali gre npr. za predhodno redukcijo analita ali npr. za maskirni reagent za odpravo interferenčnih vplivov in podobno.

Kot pripravo na vaje poiščite na spletu varnostni list za kemikalijo po vašem izboru in napišite spletni naslov in datum dostopa.



Poiščite konkretne podatke o izbrani kemikaliji, ki jih rabimo, da kemikalijo pri opisih postopkov pravilno in popolno navedemo. Uporabite kataloge kemikalij, ki so dostopni na spletu.



Pri pisnih izdelkih uporabljamo literaturne ali spletne vire informacij, ki jih moramo ustrezno navesti. Plagiatorstvo je v akademskem svetu nedopustno. Kratka definicija je na spletnem naslovu: <http://www.sussex.ac.uk/library/infosuss/referencing/whyref2.shtml>. Nedopustno je tudi tako imenovano parafraziranje, kjer z obračanjem besed poskušamo ustvariti vtis, da smo sami pregledali literaturo, uporabimo pa pregled literature, ki so ga naredili drugi.

Poudarimo razliko med citiranjem ali navajanjem referenc in navajanjem virov ali bibliografije. Bibliografija je v pomoč tistim, ki bi želeli z dodatnim branjem razširiti svoje poznavanje obravnavane tematike. To je seznam dodatnih virov, ki ga lahko navedemo na koncu besedila za referencami. Pri referencah pa ustvarimo neposredno zvezo med delom besedila in referenco, s katero je to besedilo povezano. Na koncu prispevka pod naslovom Reference navedemo celoten seznam. Za navajanje referenc v besedilu in oblikovanje seznama se moramo držati ustaljenih stilov citiranja. Nekateri pogosto uporabljeni so opisani na spletnem naslovu iz prejšnjega odstavka. Odločite se za stil, ki ga boste uporabili v svojem pisnem izdelku in ga poimenujte.



Na primeru knjige po vašem izboru prikažite, kako boste poglavje iz te knjige navedli pri referencah.



Naredite to še za primer spletnega vira po vašem izboru.



Na primeru ponazorite, kako boste referenci navedli v besedilu.



### **6. -1/1Primerjalna analiza opisov postopkov po literaturnih virih**

Naloge se lotite v več stopnjah.

1. Skupaj na hitro preglejte gradivo in si ga razdelite.
2. Predvidite čas, ki ga boste namenili uvodni analizi besedila in prepoznavanju, katere nadaljnje podatke morate poiskati.
3. Izmenjajte bistvene podatke in opredelite informacije, ki jih je treba poiskati ter si delo učinkovito razdelite. Predvidite čas, do katerega naj bo to narejeno.

4. Izmenjajte informacije in predvidite čas za naslednjo stopnjo.
5. Zasnova pisnega izdelka za posamezen postopek. Risanje morebitnih diagramov poteka. Opis postopka po smernicah, ki so navedene v nadaljevanju.
6. Primerjalna analiza obeh pisnih izdelkov. Prepoznavanje podobnosti in razlik, prednosti in slabosti pri posameznih postopkih. Možnosti morebitnih nadaljnjih izboljšav postopkov ali povezav med njimi. Morebitna protislovja med različnimi viri.
7. Pisanje kratke razprave o primerjalni analizi postopkov s pravilnim citiranjem literature.

Okvirni časovni plan je lahko razdeljen v tri ure. Prva naj bo namenjena analizi besedila in iskanju dodatnih informacij, druga pisanju poročila za posamezen postopek, tretja pa primerjalni analizi postopkov in pisanju končne razprave. Časa ne bo nič preveč, zato se potrudite, da boste v vseh fazah, kar se da učinkoviti.

V nadaljevanju bomo opisali strukturo in smernice za opis posameznega obravnavanega postopka:

1. *Naslov*

Zaželeno oblika: Določanje A {analit} v prisotnosti B {interferenca} v C {matriks} z uporabo D {metoda}.

2. *Varnostna opozorila in ukrepi*

Izpostavite najpomembnejše vidike. Poiščite varnostne liste za nevarnejše in manj znane kemikalije. Označite jih kot priloge in se v besedilu sklicujte nanje.

3. *Namembnost*

Morebitnemu uporabniku ta del pove temeljne podatke za presojo, ali lahko postopek služi njegovemu namenu. Navedemo analit in v kakšni obliki ga določimo npr. celoten, prost ali posamezno specijo. Opredelimo matriks, v katerem lahko analit določamo po tem postopku, koncentracijsko območje določanja in znane interferenčne vplive. Navedemo uporabljene tehnike, najmanjšo zahtevano količino vzorca.

4. *Definicije*

Opredelimo pojme, ki niso splošno znani ali prikažemo strukturne formule, če je to primerno.

5. *Temelj metode*

Opišemo osnovo metode, koristen je diagram poteka, ki omogoča hiter pregled nad celotno izvedbo.

6. *Kemikalije in reagenti*

7. *Aparature in pribor*

8. *Vzorci in odvzem vzorcev*

9. *Postopek*

Ta del vključuje opis obravnave vzorca in izvedbe kalibracije.

10. *Računanje rezultata*

11. *Izražanje rezultatov*

12. *Vir*

Navedite vire, po katerih ste pripravili opis. Vključite tudi spletne vire.

13. *Priloge*

Napišite seznam vseh prilog.

### **Nasvet za obravnavo besedila**

Besedilo predloge prvo preletite, da si ustvarite okvirno predstavo o njegovi zgradbi in vsebini. Ob ponovnem branju podčrtajte ključne informacije. Na rob zapisujte morebitne pripombe ali



vprašanja. Preverite pomen besed, ki so ključne za razumevanje. Označite, katere dodatne informacije rabite ali, kaj morate dodatno preveriti na spletu. Poiščite dodatne informacije. Analizirajte besedilo z vidika strukture, ki naj jo ima pisni izdelek. V besedilu označite pod katere točke pisnega izdelka sodijo posamezni deli. Če je mogoče narišite diagram poteka, da preverite, če dobro razumete izvedbo postopka. Določite zasnovo posameznih točk poročila. Napišite pisni izdelek. Preberite besedilo in vnesite morebitne popravke.

Primerjalna analiza, ki jo boste napisali na osnovi kritične presoje in primerjave opisov posameznih postopkov, naj ima naslov, ki najbolje povzema vsebino. Pred pisanjem predvidite strukturo besedila, da bo potek logičen. V besedilu ustrezno navajajte reference in na koncu pravilno napišite njihov seznam.

### **Poročilo**

Oddajte:

- pisne predloge, ki ste jih prejeli v začetku,
- opise posameznih postopkov z datumom, imenom in priimkom ter vašim podpisom,
- primerjalno analizo postopkov z datumom, imeni in podpisi,
- podpisane pomožne liste (npr. izpiski, zasnova besedila, diagram poteka)
- podpisane in označene priloge.

## 7. TITRACIJA PO KARL FISCHERJU Z BIAMPEROMETRIČNIM UGOTAVLJANJEM KONČNE TOČKE

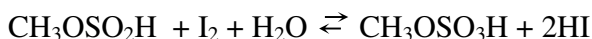
Pri tej vaji boste s titracijo po Karl Fischerju in biamperometričnim ugotavljanjem končne točke določili vodo v trdnem vzorcu. Če je sol v topilu dobro topna in kristalohidratna voda ni premočno vezana, določimo tako kristalno vezano vodo kot adsorbirano vlago.

Jod ob prisotnosti vode reagira z žveplovim dioksidom do žveplove(VI) kisline in vodikovega jodida. Napišite urejeno reakcijo in označite agregatna stanja.



Če dosežemo pogoje stehiometričnosti, lahko tako reakcijo uporabimo za določanje vode. Dodatek baze nevtralizira kislino, ki pri reakciji nastaja. Karl Fischerjev postopek je tradicionalno za to uporabljal piridin, ki je toksičen. Večinoma ga nadomeščamo z imidazolom in dietanolaminom.

Ker je jod trdna snov, ogljikov dioksid pa plin, je potreben dodatek polarnega topila npr. metanola. Pod temi pogoji se žveplov dioksid ne le raztaplja, temveč z metanolom tudi reagira.



Metilhidrogensulfit se oksidira do metilhidrogensulfata, ki se v prisotnosti baze vrste RN pretvori v amonijevo sol. Karl Fischerjevo reakcijo lahko zapišemo:



Titrimni reagent je pripravljen tako, da sta pri reakciji voda in jod v stehiometričnem odnosu, druge sestavine pa so v presežku. Ker Karl Fischerjev reagent ni obstojen, mnogi proizvajalci prodajajo dve ločeni raztopini, ki ju zmešamo nekaj dni pred uporabo. Prva raztopina vsebuje zmes žveplovega dioksida, metanola in baze. V drugi raztopini je raztopljen jod; za kulometrično izvedbo titracije pa jodid.

Napišite urejeno reakcijo, ki pojasnjuje, kako nastaja jod pri kulometrični titraciji.



Titracija mora potekati v zaprtem sistemu, da vlaga iz okolice ne vpliva na določitev. Izravnavanje tlakov je zagotovljeno skozi pasti s sušilnim sredstvom. Topilo, v titracijski celici, večinoma ni povsem brez sledi vlage, zato moramo vodo v njem porabiti s titracijo. Ker titrimni reagent ni stabilen, ga moramo pogosto standardizirati, da določimo njegov titer, kar pomeni maso vode, ki je ekvivalentna 1 mL porabljenega titrirnega sredstva. Titer je pogosto (2 do 5) mg vode za mililiter porabljenega titrirnega sredstva. Standardizacijo lahko naredimo s trdnim kristalohidratom z definirano sestavo. Taka sta natrijev tartrat dihidrat in oksalna kislina dihidrat. Pomembno je, da je pribor, ki ga uporabljamo, posušen v sušilniku in hranjen v eksikatorju. Za standardizacijo lahko uporabimo tudi prečiščeno vodo, ki jo odmerimo iz kapalne stekleničke, maso dodatka pa ugotovimo z diferenčnim tehtanjem.

Narišite shemo sistema za biamperometrično določanje končne točke titracije. Kako sistem deluje?



Kakšen bo graf odvisnosti toka od volumna dodanega titrirnega sredstva, če titriramo: a) jod s tiosulfatom; b) tiosulfat z jodom in c)  $\text{Fe}^{2+}$  s  $\text{Ce}^{4+}$ ?



Kakšen potek odvisnosti toka od dodatka titrirnega sredstva bi pričakovali za titracijo s Karl Fischerjevim reagentom, če izhajate iz prejšnjih primerov?



Sistemi za biamperometrično titracijo s Karl Fischerjevim reagentom so pogosto elektronsko prilagojeni tako, da je titracija dead-stop. Kaj to pomeni ?



### 7. Določitev vode s titracijo po Karl Fischerju in dead-stop biamperometričnim ugotavljanjem končne točke

Vaja ima dve stopnji, od katerih je prva določitev titra, druga pa določitev vode v trdnih vzorcih.

V nadaljevanju so našteje aparature in pribor, ki ga uporabljamo pri tej vaji. Naj pojasnimo, da ima Radiometrov pH meter prilagoditveni priključek, ki omogoča priklop platinastih mikroelektrod in izvajanje dead-stop biamperometrične titracije. Oznake na gumbih in skala na instrumentu zato nimajo iste vloge in pomena kot, če instrument uporabljamo v njegovi osnovni vlogi, to je kot pH meter. Sistem za titracijo po Karl Fischerju je na sliki 33.

#### **Aparature in pribor**

Pri tem eksperimentu uporabljamo:

- pH meter model 28, Radiometer Copenhagen, Danska,
- dve inertni platinasti elektrodi z majhno površino,
- analizno tehtnico KERN ALS 220 – 4N, Kern & Sohn GmbH, Nemčija,
- magnetno mešalo,
- titracijsko celico s štirimi obrusi,
- bireto iz temnega stekla Fortuna® s steklenico in samodejnim polnjenjem do oznake, 25 mL ± 0,03 mL, AS, Poulsen & Graf GmbH, Nemčija,
- bireto iz belega stekla BlauBrand® s steklenico in samodejnim polnjenjem do oznake, 10 ml ± 0,02 mL, AS, Brand GmbH + CO, Nemčija,
- polnilno pipeto Normax®, 1 mL ± 0,008 mL, A, Portugalska,
- polnilno pipeto BlauBrand®, 50 mL ± 0,05 mL, AS, GmbH + CO, Nemčija,
- nastavke s silikagelom,
- tehtalne ladjice,
- puhalko za metanol, 250 mL,
- plastenko s kapalnim nastavkom,
- posoda iz polimernega materiala za odpadne raztopine,
- nastavek za pipetiranje,
- spatulo,
- silikonske cevke,
- gumijast zamašek.

### Kemikalije in reagenti

Pri vaji uporabljamo:

- metanol CHROMASOLV®, za HPLC, CH<sub>3</sub>OH ( $M = 32,04$  g/mol;  $w \geq 0,999$ ;  $\rho = 792$  kg/m<sup>3</sup>), CAS 67-56-1, Sigma – Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija;
- Hydranal® – Composite 5 (sestavine: imidazol ( $0,05 \leq w \leq 0,15$ ); 2–metilimidazol ( $0,05 \leq w \leq 0,15$ ); žveplov dioksid ( $0,05 \leq w \leq 0,15$ ); jod ( $0,05 \leq w \leq 0,15$ ); 2–(2–etoksietoksi) etanol ( $0,40 \leq w \leq 0,80$ ); 1H – imidazol ( $0,05 \leq w \leq 0,07$ )),  $\rho = 1150$  kg/m<sup>3</sup>,  $\gamma \approx 5$  mg H<sub>2</sub>O/mL reagenta, Sigma – Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija;

Za standardizacijo uporabljamo dvakrat deionizirano vodo.

Zakaj mislite, da so masni deleži sestavin Hydranal® – Composite 5 navedeni s tako širokimi razponi?



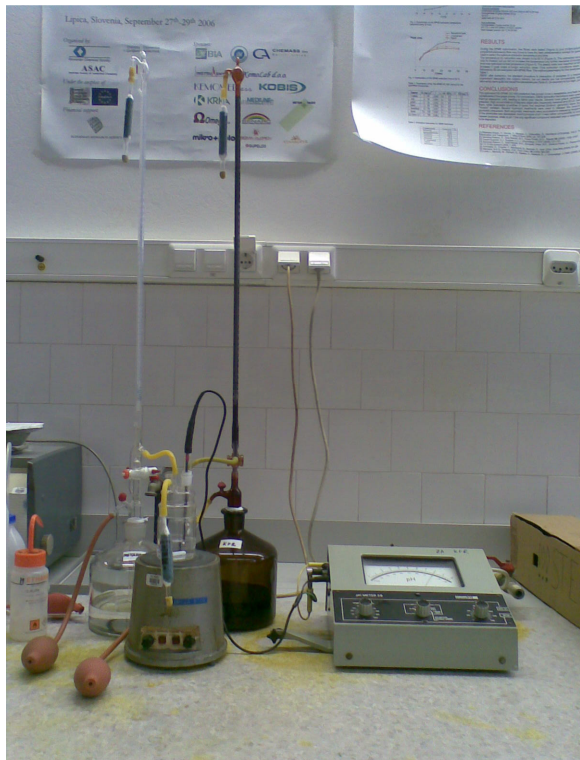
### Priprava aparature za titracijo po Karl Fischerju

Platinasti elektrodi vstavimo v titracijsko celico, ki je na magnetnem mešalniku. Elektrodi povežemo s pH metrom prek prilagoditvenega priključka (slika 34) in pH meter priključimo na vir napetosti. Na spodnjem delu instrumenta nastavimo »Temperature« na 0°C, »Range« na +800 do –200 in »Buffer« na 57. Za vklop pritisnemo črno stikalo »Read«, ki je v desnem spodnjem kotu instrumenta.

Temno steklenico birete napolnimo približno do treh četrtin njene prostornine s Hydranal® - Composite 5. Izliv birete s silikonsko cevko povežemo s titracijsko celico. Prozorno steklenico

druge birete napolnimo približno do treh četrtin njene prostornine z metanolom, drugo naredimo enako kot za Hydranal® - Composite 5.

Na obe bireti pri dovodih in odvodih za zrak priključimo nastavke s silikagelom, ki preprečujejo, da bi zračna vlaga prehajala v sistem. Bireto s Hydranal® - Composite 5 napolnimo s titrirnim reagentom centimeter prek oznake, ko sprostimo dovod zraka, se raven raztopine v bireti samodejno uravna na oznako 0 (slika 34).



Slika 33: Sestavljena aparatura za določanje vode po Karl - Fischerju (levo) in prilagoditveni priključek za biamperometrično titracijo na pH metru (desno)



Slika 34: Polnjenja birete prek oznake

**Določitev titra Hydranal® - Composite 5**

V titracijsko celico s puhalko skozi dovod dodamo toliko metanola, da sta platinasti elektrodi potopljeni v njem, nato dovod tesno zapremo z gumijastim zamaškom ter vklopimo mešanje. Na pH metru se kazalec odkloni v levo. Metanol titriramo s Hydranal® - Composite 5 toliko časa, da kazalec na pH metru obstane na ničli, kar pomeni, da se je porabila vsa voda, ki jo je vseboval metanol. Izklopimo mešanje.

Pri rokovanju s plastenko z dvakrat deionizirano vodo uporabljamo naprstnike, da s prstnimi odtisi ne spreminjamo njene mase. Na analizni tehtnici stehamo plastenko z dvakrat deionizirano vodo in zapišemo maso. Skozi dovod titracijske celice iz plastenke s kapalnim nastavkom odmerimo tri kapljice dvakrat deionizirane vode in pazimo, da kapljice padajo neposredno v raztopino in ne po stenah celice. Dovod titracijske celice zapremo z gumijastim zamaškom. Kazalec na pH metru se po dodatku vode odkloni v levo. Vklopimo mešanje, počakamo pol minute, da se raztopina dobro premeša. Bireto s Hydranal® - Composite 5 napolnimo do oznake 0. Titriramo, dokler kazalec na pH metru ne obstane na ničli. Odčitamo volumen na bireti. Ponovno stehamo plastenko s kapalnim nastavkom in zapišemo maso.

Titracijo ponovimo trikrat in izračunamo povprečen titer. Izrazimo ga v mg H<sub>2</sub>O, ki ustrezajo porabi 1 mL titrirnega reagenta.

**Določitev vode v trdnem vzorcu**

Trden vzorec natehmo na čisto in suho tehtalno ladjico in, sicer maso, ki naj bo blizu 200 mg. Z ladjico rokujemo z naprstniki, da ne vplivamo na natehto. Natehtan vzorec kvantitativno pretresemo v pripravljeno titracijsko celico. Če del vzorca ostane na ladjici, točno maso prenesenega vzorca ugotovimo s ponovnim tehtanjem tehtalne ladjice. Z gumijastim zamaškom zapremo dovod celice, vklopimo mešanje in počakamo 10 minut, da se trden vzorec raztopi. Bireto s Hydranal® - Composite 5 napolnimo do oznake in titriramo, dokler kazalec na pH metru ne obstane na ničli. Titracijo ponovimo trikrat. Rezultat določitve izrazimo kot masni delež vode v vzorcu (%).

**Titracija po Karl Fischerju z biamperometričnim ugotavljanjem končne točke  
(Poročilo o analizi)**

Standardizacija titrirnega reagenta



Določitev	1.	2.	3.
$m_{\text{kapalnika}}$ (g)			
$m_{\text{kapalnika}} - 3 \text{ kapljice vode}$ (g)			
$m_{\text{vode}}$ (mg)			
$V_{\text{titrirnega reagenta}}$ (mL)			

$\{m_{\text{vode}}\} \text{ mg} / \{V_{\text{titrirnega reagenta}}\} \text{ mL}$ 

Srednja vrednost:  $m_{\text{vode}} / V_{\text{titrirnega reagenta}} =$  \_\_\_\_\_ Standardni odklon:  $s =$  \_\_\_\_\_

Pravilno in popolno podajte rezultat za titer! \_\_\_\_\_



Vzorec, ki ste ga dobili v analizo: \_\_\_\_\_

Določitev	1.	2.	3.
$m_{\text{vzorca}} \text{ (g)}$			
$V_{\text{titrirnega reagenta}} \text{ (mL)}$			
$m_{\text{vode}} \text{ (mg)}$			
$w_{\text{vode}} \text{ (\%)}$			

Srednja vrednost masnega deleža vode:  $w_{\text{vode}} =$  \_\_\_\_\_

Standardni odklon:  $s =$  \_\_\_\_\_

Če ste dobili v analizo spojino z znano formulo in kristalno vezano vodo, izračunajte masni delež teoretično pričakovane kristalohidratne vode. Izračunajte delež adsorbirane vlage.

*R*

Pravilno in popolno podajte končni rezultat določitve vode v trdnem vzorcu!

*R*

Komentirajte rezultat!

*R*

## 8. ELEKTROGRAVIMETRIJA

Pri tej vaji boste z elektrogravimetrijo določili delež bakra v medenini. Baker moramo pred tem prevesti v topno obliko, kar dosežemo z razgradnjo ali razkrojem.

Kaj je pri elektrogravimetriji merjena veličina, iz katere izračunamo rezultat določitve?



Ali je elektrogravimetrija absolutna ali relativna analizna metoda?



V čem se elektrogravimetrija razlikuje od gravimetrije?



Na kateri elektrodi se bo izločil baker?



Napišite reakcijo?



Naštete vzroke, ki bi vodili do tega, da bi dobili pri elektrogravimetrični določitvi neke kovine previsok rezultat?



Naštete vzroke, ki bi vodili do tega, da bi dobili pri elektrogravimetrični določitvi neke kovine prenizek rezultat?



Elektrogravimetrične določitve lahko delamo na dva načina: z enostavnejšim dvoelektrodnim sistemom, če ni nevarnosti, da bi se izločala še druga kovina, ali pa s trielektrodnim sistemom pri nadzorovanem potencialu. Uporabili boste slednjega.

### **8. Določitev masnega deleža bakra v medenini**

Prva stopnja postopka je razkroj ali razgradnja medenine, kjer opilke medenine z anorganskimi kislinami ob segrevanju prevedemo v raztopino. **Delo z vročimi koncentriranimi kislinami je nevarno**, zato upoštevajte vsa varnostna navodila. Postopek je treba ves čas nadzorovati. Pri razgradnji iz čaše **izhajajo strupene plinaste komponente**, zato delamo v digestoriju. Zaslon digestorija mora bit spuščen.



**Aparature in pribor**

Pri tem eksperimentu uporabljamo:

- elektrolizer ELEKTROLYSER, VEB MLW Labortechnik, Ilmenau, Nemčija,
- pH meter model MA 5704 s kombinirano pH elektrodo, Iskra, Kranj, Jugoslavija,
- voltmeter VOLTcraft® VC 820, Conrad Electronic SE, Hirschau, Nemčija,
- ampermeter, FL1 1939, Iskra, Kranj, Jugoslavija,
- analizno tehtnico KERN ALS 220 – 4N, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Nemčija,
- magnetni mešalnik MM – 531, Tehnica, Železniki, Slovenija,
- dve platinasti elektrodi (mrežasta in nasprotna),
- kalomelova elektroda,
- merilna pipeta Normax®, 5 mL ± 0,03 mL, AS, Portugalska,
- merilna pipeta, 10 mL ± 0,1 mL, B, TLOS d.d., Zagreb, Hrvaška,
- čaša ILMABOR®, 150 mL, Technische Glaswerke Ilmenau GmbH, Nemčija,
- čaša visoka SIMAX®, 250 mL, Kavalierglass a.s., Sázava, Češka,
- pribor za segrevanje (plinski gorilnik, trinožno stojalo, azbestna mrežica),
- sušilec za lase,
- tehtalna ladjica,
- steklena palčka,
- puhalka z destilirano vodo,
- nastavek za pipetiranje,
- plastična žlička,
- steklena kapalka,
- gumijasti naprstniki,
- termometer.

**Kemikalije**

Pri vaji uporabljamo:

- medenino (78,6 % baker, cink in nikelj),
- dušikovo(V) kislino (p.a.),  $\text{HNO}_3$  ( $M = 63,01 \text{ g/mol}$ ,  $w = 0,65$ ,  $\rho = 1395 \text{ kg/m}^3$ ), CAS 7697-37-2, Panreac Química S.A.U., Barcelona, Španija,
- natrijev tartrat dihidrat (p.a.),  $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $M = 230,08 \text{ g/mol}$ ,  $w = 0,995$ ,  $\rho = 1820 \text{ kg/m}^3$ ), CAS 6106-24-7, E. Merck, Darmstadt, Nemčija,
- hidrazin diklorid (p.a.),  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot 2\text{HCl}$  ( $M = 104,97 \text{ g/mol}$ ,  $w = 0,99$ ,  $\rho = 1420 \text{ kg/m}^3$ ), CAS 5341-61-7, E. Merck, Darmstadt, Nemčija,
- pufer pH 4,0 (citrat in klorovodikova kislina) KEFOLAB d.o.o., Ljubljana, Slovenija,
- pufer pH 7,0 (fosfat), KEFOLAB d.o.o., Ljubljana, Slovenija,
- propan-2-ol,  $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$  ( $M = 61,12 \text{ g/mol}$ ,  $w = 0,997$ ,  $\rho = 786 \text{ kg/m}^3$ ), CAS 67-63-0, Trzin, Slovenija.

Pri vaji uporabljamo dvakrat deionizirano vodo.

**Raztopina klorovodikove kisline (1 + 1)**

Za pripravo 1 L raztopine klorovodikove kisline (1 + 1) odmerimo 500 mL dvakrat deionizirane vode in 500 mL koncentrirane raztopine klorovodikove kisline ( $w = 0,38$ ) v 1000 mL čašo ter premešamo.

**Raztopina amonijaka (1 + 1)**

Za pripravo 1 L raztopine amonijaka (1 + 1) odmerimo 500 mL dvakrat deionizirane vode in 500 mL koncentrirane raztopine amonijaka ( $w = 0,25$ ) v 1000 mL čašo ter premešamo.

**Raztopina dušikove(V) kisline (1 + 1)**

Za pripravo 1 L raztopine dušikove(V) kisline (1 + 1) odmerimo 500 mL dvakrat deionizirane vode in 500 mL koncentrirane raztopine dušikove(V) kisline ( $w = 0,65$ ) v 1000 mL čašo ter premešamo.

**Razgradnja medenine s koncentrirano  $\text{HNO}_3$  in  $\text{HCl}$  (1 + 1)**

Na analizni tehtnici v 150 mL čašo diferenčno natehtamo približno 250 mg opilkov medenine. V digestoriju z merilnima pipetama odpipetiramo 5 mL raztopine  $\text{HCl}$  (1 + 1) in 1 mL koncentrirane raztopine  $\text{HNO}_3$  in previdno dodamo v čašo z opilki medenine. Na gorilniku preverimo, da je ventil za dovod plina privit do konca v desno in odprtina za dovod zraka zaprta. Odpremo ventil za plin, z vžigalnikom prižgemo pomožni plamen in držimo gumb pod ventilom za dovod plina, dokler pomožni plamen ne gori samostojno. Nato počasi odvijamo ventil za dovod plina v levo, dokler ne dobimo plamena zelene velikosti in odpremo odprtino za dovod zraka, da dobimo bolj vroč plamen z lepo oblikovano svetlo modro konico.

Na trinožno stojalo z azbestno mrežico postavimo suho čašo z opilki medenine in kislina. Pod njo pomaknemo gorilnik in zmanjšamo dovod plina toliko, da plamen še gori. Spustimo zaslon digestorija. Zmes zelo počasi segrevamo in neprestano mešamo, uporabljamo gumijaste naprstnike ter pazimo, da se raztopina popolnoma ne posuši ali zažge. Če se raztopina posuši, takoj umaknemo čašo iznad gorilnika in vanjo previdno dolijemo nekaj mL deionizirane vode ter nadaljujemo z razkrojem. V primeru, da se raztopina tudi zažge, ponovimo celoten postopek. Razgradnjo zaključimo, ko se vsi opilki raztopijo in iz raztopine ne izhajajo več rjavordeči nitrozni plini, zmes strupenih dušikovih oksidov. Po končani razgradnji na gorilniku privijemo ventil za dovod plina do konca v desno in zapremo ventil za plin.

Zelena rjava raztopino, ki je ostala v čaši kvantitativno prenesemo v visoko 250 mL čašo z magnetnim mešalom in jo razredčimo z dvakrat deionizirano vodo približno na 150 mL. Na primerno podlogo natehtamo 2,5 g natrijevega tartrata dihidrata in 2,5 g hidrazinijevega diklorida ter ju dodamo v čašo. Čašo postavimo na magnetni mešalnik in mešamo, dokler se vse ne raztopi, temperatura raztopine pa se izravna s sobno temperaturo.

**Kalibracija pH metra in uravnanje pH raztopine medenine po razgradnji**

Na kombinirani pH elektrodi s stekleno elektrodi odstranimo gumijast zamašek z odprtine za dolivanje elektrolita. Membrano elektrode speremo z dvakrat deionizirano vodo in njeno površino osušimo tako, da z nje z vpojnim papirjem odpivnemo vodo. Elektrodo potopimo v pufer s pH 7 in na pH metru MA 5704 nastavimo položajno stikalo »Range« na 0 do 14.

Temperatura vseh raztopin mora biti enaka temperaturi v prostoru. Na termometru odčitamo temperaturo v prostoru ter jo ustrezno nastavim na pH metru. Na embalaži pufru odčitamo pH pufru pri tej temperaturi. S kompenzatorjem »Zero suppression« nastavimo prvo mesto pH pufru (7), položajno stikalo »Range« preklapimo na  $\pm 1,4$  pH. S potenciometrom z oznako »Standardize« nastavimo pH na točno vrednost. Položajno stikalo »Range« vrnemo v položaj 0 do 14.

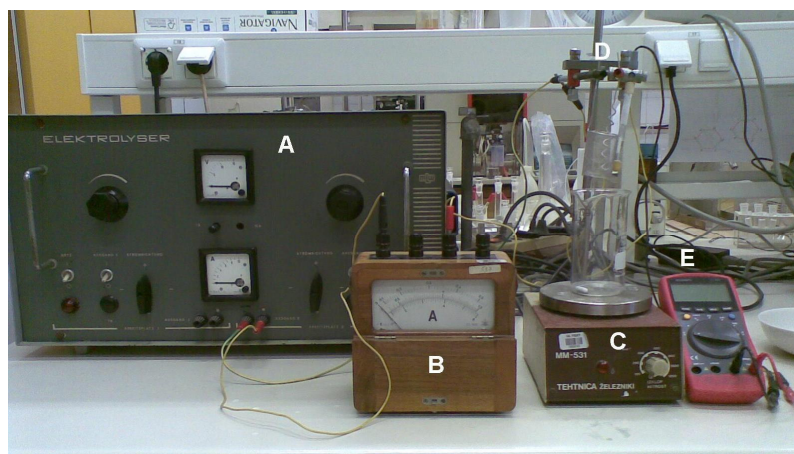
Membrano elektrode speremo z dvakrat deionizirano vodo in njeno površino osušimo z vpojnim papirjem. Elektrodo potopimo v drugi pufr (pH 4). Z embalaže pufra odčitamo pH pri delovni temperaturi. Nastavitev potenciometrov »Temperature« in »Standardize« ne smemo več spreminjati. Kompenzator »Zero suppression« nastavimo na pH vrednost drugega pufra (4). Položajno stikalo »Range« preklopimo na  $\pm 1,4$  pH. S potenciometrom »Sensitivity %« nastavimo točno vrednost pufra. Položajno stikalo »Range« vrnemo na 0 do 14. Kompenzator »Zero suppression« vrnemo v položaj 7.

Elektrodo dvignemo iz pufra in jo speremo z dvakrat deionizirano vodo ter površino membrane previdno osušimo z vpojnim papirjem. Elektrodo potopimo v pripravljeno raztopino medenine, ki smo jo dobili pri razkroju ter ji postopno dodajamo raztopino amonijaka (1 + 1) toliko časa, da ima raztopina pH med 4,4 in 5,0. Če želimo, lahko v bližini ciljnega pH zožimo obseg skale z ustrežno nastavitvijo kompenzatorja »Zero suppression« in preklpom položajnega stikala »Range« na  $\pm 1,4$  pH.

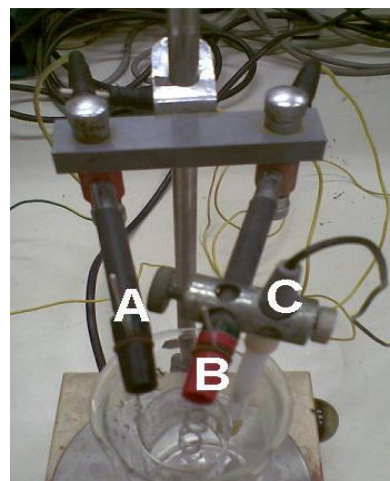
pH meter MA 5704 izklopimo s preklpom položajnega stikala »Range« na OFF. Kompenzator »Zero suppression« naj bo po izklopu pH metra v položaju 7. Membrano elektrode speremo ter jo zaščitimo pred izsušitvijo s pripadajočim gumijastim pokrovčkom. S pripadajočim čepom zapremo odprtino za dolivanje elektrolita.

### Elektroliza pri konstantnem potencialu delovne elektrode

Aparatura za elektrolizo (Slika 35) je sestavljena iz elektrolizerja, ampermetra, magnetnega mešalnika, stojala z elektrodami (Slika 36) in milivoltmetra z visoko notranjo upornostjo. V spodnjem delu elektrolizerja, desno pod skalo za odčitavanje toka sta negativni (–) in pozitivni (+) priključek.



Slika 35: Aparatura za elektrolizo: A - elektrolizer Elektrolyser, B - ampermeter FL1 1939, C - magnetni mešalnik MM - 531, D - stojalo z elektrodami, E - milivoltmeter Voltcraft VC820



Slika 36: Stojalo z elektrodami: A - mrežasta Pt elektroda, B - nasprotna Pt elektroda, C - kalomelova elektroda

Pozitivni priključek povežemo z ampermetrom, ki ima štiri možne priklope ( $\sim$ , 0,5 A, 1,5 A in 6 A), s skrajno levim priklopom z oznako  $\sim$  (vedno priključen). Srednji priklop na ampermetru (1,5 A) povežemo z nasprotno platinasto elektrodo. Kalomelovo elektrodo povežemo s COM priklopom na milivoltmetru. HzV $\Omega$  priklop na milivoltmetru povežemo z priključkom na mrežasti elektrodi. Mrežasto elektrodo povežemo z negativnim priključkom na elektrolizerju. Na milivoltmetru nastavimo območje na V.

Po opisu narišite shemo vezave! V kateri veji merimo tok in v kateri napetost ter zakaj, je to tako?



V visoko 250 mL čašo z raztopino medenine potopimo mrežasto in kalomelovo elektrodo, tako da se elektrodi ne dotikata sten čaše in da je mrežasta elektroda približno 1,5 cm nad dnom čaše ter vklopimo mešanje. Nato potenciometer ki je namenjen spreminjanju potenciala na delovni elektrodi in je na elektrolizerju skrajno desno zgoraj, zavrtimo do konca v levo. Z rumeno tipko »Power« vklopimo milivoltmeter. Stikalo »Netz«, ki je na elektrolizerju v skrajnem levem spodnjem kotu, preklopimo na I. S potenciometerom za spreminjanje potenciala uravnamo tok na 0,4 A in tak tok vzdržujemo prvih 5 minut elektrolize, da se začne baker enakomerno izločati na mrežasti elektrodi. Po petih minutah s potenciometerom za spreminjanje potenciala uravnamo tok na 0,8 A in ves čas pazimo, da na milivoltmetru vrednost potenciala delovne elektrode nasproti kalomelovi elektrodni ne pade pod  $-350$  mV, kar pomeni, da bi bila bolj negativna. To preprečujemo s stalnimi korekcijami nastavitve potenciometra za uravnavanje potenciala. V triminutnih intervalih zapisujemo vrednosti toka v sistemu. Ko se tok zniža toliko, da bi ga bilo mogoče odčitavati na skali 0,5 A, prevežemo priključek na ampermetru s priklopa 1,5 A na priklop 0,5 A.

Elektroliza je končana, ko se tok zniža pod 10 mA. Ne da bi karkoli izklapljali dvignemo elektrode iz elektrolizne raztopine in nato izklopimo samo magnetni mešalnik. Elektrode previdno speremo z dvakrat deionizirano vodo v čašo z elektrolizno raztopino. Previdno odvijemo ustrezní vijak in odstranimo mrežasto elektrodo ter nato izklopimo stikalo na elektrolizerju (»Netz« nastavimo na  $\circ$ ) in milivoltmeter (rumena tipka »Power«).

Kaj bi se zgodilo, če bi elektrolizer izklopili preden bi elektrode dvignili iz raztopine in kako bi to vplivalo na rezultat določitve?



Mrežasto elektrodo speremo s propan–2–olom, posušimo s sušilcem za lase, ohladimo v eksikatorju in stehtamo na analizni tehtnici.

Nato mrežasto elektrodo z izločenim bakrom v digestoriju potopimo v čašo z raztopino dušikove(V) kisline (1 + 1), da se baker raztopi. Elektrodo nato ponovno speremo s prečiščeno vodo in nato s propan– 2–olom, posušimo s sušilcem za lase, ohladimo v eksikatorju in ponovno stehtamo.

Elektrodo vpremo nazaj v stojalo. Iz elektrolizne raztopine s pinceto dvignemo magnetno mešalo in ga nad čašo oplaknemo s prečiščeno vodo. Vsebino čaše odlijemo v ustrezno posodo za odpadne kemikalije in čašo pomijemo s prečiščeno vodo.

**Določitev masnega deleža bakra v medenini  
(Poročilo o analizi)**

$m_{\text{opilkov}} =$  \_\_\_\_\_

pH raztopine po uravnanju: \_\_\_\_\_

$t$ (min)		
$I$ (mV)		

Narišite graf odvisnosti toka od časa.



$m_{\text{elektrode} + \text{Cu}} =$  \_\_\_\_\_

$m_{\text{elektrode}} =$  \_\_\_\_\_

Izračunajte masni delež bakra v medenini in pravilno ter popolno zapišite rezultat določitve!

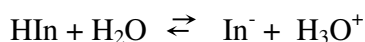


Komentirajte rezultat!



## 9. DOLOČITEV KONSTANTE pH INDIKATORJA

Kot veste, so pH indikatorji šibke kisline oz. baze, pri katerih sta protonirana in neprotonirana oblika različno obarvani. Reakcijo indikatorja z vodo lahko zapišemo:



Literaturni podatki o nekaterih pogostih indikatorjih so v tabeli 7.

Tabela 7. Podatki o indikatorjih povzeti po Lange's handbook of chemistry

Indikator	pH območje	pKa indikatorja	$\lambda_{\text{maks. proton.}}$ (nm)	$\lambda_{\text{maks. neproton.}}$ (nm)	Barvna sprememba
metil oranž	3,1 do 4,4	3,40	464	522	rdeča v oranžno
bromofenol modro	3,0 do 4,6	3,85	592	436	rumena v modrovioličasto
bromokrezol zeleno	4,0 do 5,6	4,68	617	444	rumena v modro
metil rdeče	4,4 do 6,2	4,95	427	530	rdeča v rumeno

Pri vaji boste spektrometrično določili pKa enega od indikatorjev. Če pripravimo indikator v pufru, katerega pH je znotraj pH območja indikatorja imamo v raztopini protonirano (HIn) in neprotonirano (In<sup>-</sup>) obliko. Razmerje njunih koncentracij določa Henderson-Hasselbalcheva enačba (1):

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{In}^-]}{[\text{HIn}]} \quad (1)$$

Če z meritvijo določimo točen pH raztopine pufru, ki smo ga uporabili za pripravo raztopine indikatorja; in spektrometrično določimo koncentraciji obeh oblik indikatorja v raztopini, lahko iz enačbe (1) kot edino preostalo neznanico izračunamo pK<sub>a</sub> indikatorja. Ker sta barvi protonirane in neprotonirane oblike različni, imata obe oblike različna absorpcijska spektra in maksimuma absorpcije pri različnih valovnih dolžinah. Kot veste, lahko za take primere z merjenjem absorbanc raztopine pri dveh valovnih dolžinah določimo koncentracijo dveh sestavin v zmesi. Za absorbanci raztopine indikatorja v pufru izmerjeni pri valovnih dolžinah maksimuma absorpcije protonirane in neprotonirane oblike veljata enačbi 2 in 3:

$$A_{pH\lambda_1} = \varepsilon_{p\lambda_1} [\text{HIn}]b + \varepsilon_{n\lambda_1} [\text{In}^-]b \quad (2)$$

$$A_{pH\lambda_2} = \varepsilon_{p\lambda_2} [\text{HIn}]b + \varepsilon_{n\lambda_2} [\text{In}^-]b \quad (3)$$

Pomen simbolov veličin je tak, kot je splošno znano. Indeks pH označuje, da gre za raztopino indikatorja, ki je pripravljena v pufru. Indeks p se nanaša na protonirano, indeks n pa na neprotonirano obliko indikatorja. Za rešitev sistema enačb moramo poznati molarno absorptivnost obeh oblik indikatorja pri obeh valovnih dolžinah. To lahko ugotovimo, če raztopino indikatorja pripravimo enkrat v raztopini močne kisline in drugič v raztopini močne baze tako, da imamo v prvem primeru ves indikator v protonirani, v drugem pa v neprotonirani

obliki. Koncentraciji oblik sta kar enaki analizni ali formalni koncentraciji indikatorja  $c_{In}$ . Za meritve absorbanc teh dveh raztopin veljajo enačbe 4 do 7. Indeksna NaOH in HCl označujeta medij, v katerem je raztopina indikatorja pripravljena.

$$A_{HCl\lambda_1} = \varepsilon_{p\lambda_1} c_{In} b \quad (4)$$

$$A_{HCl\lambda_2} = \varepsilon_{p\lambda_2} c_{In} b \quad (5)$$

$$A_{NaOH\lambda_1} = \varepsilon_{n\lambda_1} c_{In} b \quad (6)$$

$$A_{NaOH\lambda_2} = \varepsilon_{n\lambda_2} c_{In} b \quad (7)$$

Če enačbi 2 in 3 delimo med seboj in enačbo preoblikujemo, dobimo enačbo 8, ki definira razmerje obeh oblik indikatorja.

$$\frac{[In^-]}{[HIn]} = \frac{A_{pH\lambda_1} \varepsilon_{p\lambda_2} + A_{pH\lambda_2} \varepsilon_{p\lambda_1}}{A_{pH\lambda_2} \varepsilon_{n\lambda_1} + A_{pH\lambda_1} \varepsilon_{n\lambda_2}} \quad (8)$$

Če iz enačb 4 do 7 izrazimo molarne absorptivnosti in te izraze vstavimo v enačbo 8, ugotovimo, da je razmerje obeh oblik indikatorja določeno z vrednostmi absorbanc. Če nato to razmerje uvedemo v Henderson-Hasselbalchevo enačbo, dobimo končno enačbo (9), iz katere lahko izračunamo  $pK_a$  indikatorja.

$$pK_a = pH - \log \frac{A_{pH\lambda_1} A_{HCl\lambda_2} - A_{pH\lambda_2} A_{HCl\lambda_1}}{A_{pH\lambda_2} A_{NaOH\lambda_1} - A_{pH\lambda_1} A_{NaOH\lambda_2}} \quad (9)$$

Pri delu boste uporabljali raztopine, ki so opisane v nadaljevanju.

#### **Raztopina natrijevega hidroksida koncentracije 0,1 mol/L**

0,4001 g trdnega natrijevega hidroksida prenesemo v 100 mL volumetrično steklenico, ga raztopimo v deionizirani vodi ter raztopino razredčimo z deionizirano vodo do oznake.

#### **Raztopina natrijevega acetata koncentracije 0,2 mol/L**

16,405 g natrijevega acetata prenesemo v 1000 mL volumetrično steklenico, ga raztopimo v deionizirani vodi ter raztopino razredčimo z deionizirano vodo do oznake.

#### **Raztopina oetne kisline koncentracije 0,2 mol/L**

11,4 mL koncentrirane raztopine oetne kisline prenesemo v 1000 mL volumetrično steklenico ter raztopino razredčimo z deionizirano vodo do oznake.

#### **0,1 % vodna raztopina indikatorja metil oranž**

0,05 g indikatorja metil oranž prenesemo v 50 mL volumetrično steklenico, ga raztopimo v deionizirani vodi in raztopino razredčimo z deionizirano vodo do oznake.

#### **0,1 % vodna raztopina indikatorja bromokrezol zeleno**

0,05 g indikatorja bromokrezol zeleno, prenesemo v 50 mL volumetrično steklenico, ga raztopimo v deionizirani vodi in raztopino razredčimo z deionizirano vodo do oznake.

**0,2 % alkoholna raztopina indikatorja metil rdeče**

0,1 g indikatorja metil rdeče, prenesemo v suho 50 mL volumetrično steklenico, ga raztopimo v absolutnem alkoholu in raztopino razredčimo z absolutnim alkoholom do oznake.

**Raztopina indikatorja bromofenol modro**

0,400 g indikatorja bromofenol modro prenesemo v 500 mL volumetrično steklenico. Dodamo mu 0,5 mL raztopine natrijevega hidroksida s koncentracijo 1 mol/L. Raztopino razredčimo z deionizirano vodo do oznake in raztopino prefiltriramo.

**9. Določitev konstante indikatorja**

Napišite ime indikatorja, ki mu boste določili  $pK_a$ .



\_\_\_\_\_

**Raztopina acetatnega pufra želenega pH in koncentracije 0,1 mol/L**

Iz tabele 7 prepišite pH območje indikatorja in izberite vrednost pH, ki je približno v sredini območja. Izračunajte koliko mL raztopine očetne kisline koncentracije 0,2 mol/L in koliko mL raztopine natrijevega acetata enake koncentracije bi morali odmeriti, da bi pripravili pufer z želenim pH in skupno koncentracijo obeh oblik 0,1 mol/L. Vsota obeh volumskih odmerkov mora biti 50 mL.  $K_a = 1,75 \cdot 10^{-5}$



pH interval: \_\_\_\_\_ Izbrani pH: \_\_\_\_\_



$V_{\text{očetna kislina}} =$  \_\_\_\_\_ mL;  $V_{\text{natrijev acetat}} =$  \_\_\_\_\_ mL;  $V_{\text{očetna kislina}} + V_{\text{natrijev acetat}} = 50$  mL

V 100 mL volumetrično steklenico odmerite s 25 mL bireto izračunani volumen raztopine 0,2 mol/L očetne kisline in z drugo 25 mL bireto izračunani volumen 0,2 mol/L raztopine natrijevega acetata. Če so volumski odmerki večji od 25 mL, bireto polnite dvakrat. Raztopino v volumetrični steklenici razredčite z deionizirano vodo do oznake. Z meritvijo preverite pH pripravljene pufra.

Za kalibracijo pH metra uporabite par kalibracijskih raztopin, ki je najustreznejši za preverjanja pH acetatnega pufra, ki ste ga pripravili. Na razpolago boste imeli pufre:

- citrat, solna kislina, pH  $3,00 \pm 0,02$ , Kefo, Kefolab, Ljubljana, Slovenija,
- citrat, solna kislina, pH  $4,00 \pm 0,02$ , Kefo, Kefolab, Ljubljana, Slovenija,
- citrat, natrijev hidroksid, pH  $5 \pm 0,02$ , Kefo, Kefolab, Ljubljana, Slovenija,
- citrat, pH  $6 \pm 0,03$ , Baker analyzed, J.T. Baker, Deventer, Nizozemska.

Sledite navodilom, ki so v nadaljevanju.

**Kalibracija in merjenje pH acetatnega pufra s pH metrom 780 pH Meter, Metrohm**

pH meter vklopimo z rdečo tipko ON/OFF. Elektrodo pH metra oplaknemo z deionizirano vodo. Vodo odpivnemo s površine membrane tako, da se je dotaknemo z vpojnim papirjem. Elektrodo potopimo v kalibracijski pufer, katerega pH je bližji nevtralnemu.



1. S pritiskom tipke MODE izbiramo med merjenimi vrednostmi (temperatura, prevodnost, pH) in izberemo merjenja pH.
2. S pritiskom tipke CAL vstopimo v kalibracijo. Na zaslonu se prikaže možnost vpisa temperature raztopine. Vnesemo temperaturo raztopine in pritisnemo tipko CAL. Na zaslonu se prikaže možnost vpisa pH pufera. Ko vpišemo pH pufera, sprožimo kalibracijo s tipko ENTER.
3. Ko sistem opravi kalibracijo, se na zaslonu izpiše ukaz, naj zamenjamo pufer.
4. Elektrodo oplaknemo z deionizirano vodo, membrano osušimo z vpojnim papirjem in elektrodo potopimo v drugi pufer ter pritisnemo tipko ENTER. Vnesemo pH pufera in potrdimo z ENTER.
5. Ko sistem opravi kalibracijo se na ekranu izpiše strmina premice in podatek, da je kalibracija končana. Zapišemo podatek o strmini.
6. Po končani kalibraciji je pH meter pripravljen za meritve pH preiskovanih raztopin.
7. Elektrodo pred vsako novo meritvijo pH speremo z deionizirano vodo in membrano osušimo z vpojnim papirjem.



Temperatura kalibracije: \_\_\_\_\_; Strmina elektrode: \_\_\_\_\_

pH prvega kalibracijskega pufera: \_\_\_\_\_; pH drugega kalibracijskega pufera: \_\_\_\_\_

pH acetatnega pufera: \_\_\_\_\_

### Priprava raztopin indikatorja z različnim razmerjem oblik za spektrometrično merjenje

V vsako od treh suhih, označenih epruvet odmerite toliko  $\mu\text{L}$  raztopine indikatorja kot je navedeno v tabeli 8 ( $V_{\text{indikatorja}}$ ). V prvo epruveto dodamo s polnilno pipeto 5 mL 0,1 mol/L raztopine HCl. V drugo epruveto dodamo z drugo polnilno pipeto 5 mL 0,1 mol/L raztopine NaOH. V tretjo epruveto dodamo s tretjo polnilno pipeto 5 mL 0,1 mol/L raztopine acetatnega pufera z ustreznim pH. Vse epruvete zapremo s pripadajočimi zamaški in vsebino premešamo z večkratnim enakomernim obračanjem epruvet. Vsebino epruvet pred merjenjem prelijemo v suhe, čiste kivete. Četrto kiveto, ki nam bo služila kot slepa, napolnimo s prečiščeno vodo.

Tabela 8. Priprava raztopin različnih indikatorjev z različnimi pH

Indikator	Metil oranž	Bromofenol modro	Bromokrezol zeleno	Metil rdeče
$V_{\text{indikatorja}} (\mu\text{L})$	20	50	50	20
Epruveta 1	$V_{\text{HCl}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{HCl}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{HCl}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{HCl}} = 5 \text{ mL}$
Epruveta 2	$V_{\text{NaOH}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{NaOH}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{NaOH}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{NaOH}} = 5 \text{ mL}$
Epruveta 3	$V_{\text{pufer}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{pufer}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{pufer}} = 5 \text{ mL}$	$V_{\text{pufer}} = 5 \text{ mL}$

### Snemanje spektrov različnih oblik indikatorja

Valovni dolžini, med katerima boste posneli spektre za vaše raztopine indikatorja, smiselno izberite sami glede na podatke v tabeli 7.

Za raztopino indikatorja, ki je pripravljena z raztopino HCl posnemite absorpcijski spekter, da ugotovite valovno dolžino maksimuma absorpcije protonirane oblike indikatorja.

  $\lambda_{\text{maks. proton.}} = \underline{\hspace{2cm}} = \lambda_1$

Nato posnemite še absorpcijski spekter raztopine indikatorja, ki je pripravljena z raztopino NaOH, da ugotovite valovno dolžino maksimuma absorpcije neprotonirane oblike indikatorja.

  $\lambda_{\text{maks. neproton.}} = \underline{\hspace{2cm}} = \lambda_2$

Postopek snemanja spektra s spektrometrom Lightwave II<sup>+</sup> je opisan v nadaljevanju.

### **Snemanje spektra s spektrometrom Lightwave II<sup>+</sup>**

Spektrometer vklopimo s pritiskom na tipko za vklop, ki je levo pod zaslonom. Na zaslonu se prikažejo različne možnosti. Pritisnemo tipko 1. Na zaslonu se prikažejo nadaljnje možnosti.

1. S pritiskom na tipko 3 izberemo snemanje spektra (wavescan). Na zaslonu vidimo polje za vpis začetne valovne dolžine (start wavelength), polje za vpis končne valovne dolžine (end wavelength) in polje za izbiro načina merjenja (transmitanca oz. absorbanca). Med polji se premikamo s puščicami navzgor, navzdol.
2. Vtipkamo začetno valovno dolžino in končno valovno dolžino, ter izberemo merjenje absorbance. Med možnostma absorbance oz. transmitance preklaplamo z vodoravnima puščicama, ko je to polje aktivno. Nastavitve potrdimo s pritiskom na zeleno tipko, desno spodaj.
3. V optično pot vstavimo kiveto s slepo in z modrim gumbom, ki je desno spodaj, izničimo absorbanco slepe. Na zaslonu se izpiše vrednost  $A = 0,000$ .
4. V optično pot vstavimo preiskovano raztopino in z zelenim gumbom sprožimo meritev.
5. Ko se izriše graf in izpišejo merjene vrednosti, lahko z vodoravnima puščicama premikamo kurzor po zaslonu. Ko kurzor doseže vrh absorpcijskega spektra, se na vrhu zaslona izpišeta višina in širin vrha. Po končanem merjenju se s pritiskom rdeče tipke vrnemo na začetni prikaz na zaslonu.

Ko ste ugotovili valovni dolžini maksimumov absorpcije obeh oblik, izmerite proti slepi pri teh dveh valovnih dolžinah absorbanci za vse tri raztopine. Rezultate meritev vpišite v preglednico, ki je v nadaljevanju. Pri merjenju si pomagamo z navodili, ki sledijo.

### **Spektrometrično merjenje pri posamični valovni dolžini**

1. S pritiskom na tipko 1 izberemo merjenje pri posamični valovni dolžini (Single Wavelength). Na zaslonu vidimo polje za vpis valovne dolžine ( $\lambda$ ) in polje za izbiro načina merjenja (transmitanca oz. absorbanca). Med poljema se premikamo s puščicama navzgor in navzdol.
2. Vtipkamo valovno dolžino in izberemo merjenje absorbance. Med možnostma absorbanca oz. transmitanca preklaplamo z vodoravnima puščicama, ko je to polje aktivno. Nastavitve potrdimo z zeleno tipko, desno spodaj.
3. V optično pot vstavimo kiveto s slepo in z modrim gumbom, ki je desno spodaj, izničimo absorbanco slepe. Na zaslonu se izpiše vrednost  $A = 0,000$ .
4. V optično pot vstavimo preiskovano raztopino in z zelenim gumbom sprožimo meritev. Nadaljnje meritve v istem nizu naredimo tako, da ponavljamo to stopnjo postopka.
5. Po končanem postopku se s pritiski rdeče tipke vrnemo na začetni prikaz na zaslonu.

**Določitev konstante indikatorja  
(Poročilo o analizi)**

Indikator: \_\_\_\_\_ Izmerjeni pH pufra: \_\_\_\_\_

Rezultate meritev absorbanc za različne raztopine indikatorja pri dveh valovnih dolžinah vpišite v preglednico!



	Medij	HCl	NaOH	Acetatni puffer
$\lambda_1 =$	$A_{\lambda_1}$			
$\lambda_2 =$	$A_{\lambda_2}$			

Uporabite enačbo 9 in izračunajte  $pK_a$  indikatorja z upoštevanjem izmerjenega pH pufra. izmerili.

*R*

Komentirajte svoj rezultat v primerjavi s podatkom v tabeli 7.

*R*

## 10. ATOMSKA ABSORPCIJSKA SPEKTROMETRIJA

Atomsko absorpcijsko spektrometrijo boste uporabili za določitev masne koncentracije kalcijevih ionov v vzorcu vodovodne ali ustekleničene izvirske vode. Primerjali boste rezultate, ki jih boste dobili z dvema različnima metodama kalibracije: metodo kalibracijske premice in metodo standardnih dodatkov. Da boste lahko smiselno načrtovali oba postopka kalibracije, se boste oprli na kompleksometrično določitev koncentracije kalcijevih ionov v vzorcu vode. Ob vaji s področja atomske absorpcijske spektrometrije boste naredili še vajo 2.10 Določitev trdote vode.

Opišite dogajanje na ravni atoma, ki je osnova atomske absorpcijske spektrometrije!



Napišite enačbo za Maxwell-Boltzmanovo porazdelitev in razložite njen pomen! Kateri atomi so izhodišče za atomsko absorpcijsko spektrometrijo, tisti v osnovnem ali tisti v vzbujenem stanju?



Kakšna je vloga plamena pri atomski absorpcijski spektrometriji? Kateri procesi potekajo v plamenu?



Kaj merimo pri tej analizni tehniki in katera veličina je v linearni zvezi s koncentracijo?



Narišite blokovno shemo spektrometra za atomsko absorpcijsko spektrometrijo?



Kakšno svetilo je žarnica z votlo katodo? Kako je grajena in kako deluje?



Na sliki 37 je instrument, ki ga boste uporabljali pri vaji. Katere enote lahko prepoznate na sliki?





Slika 37. Atomski absorpcijski spektrometer (levo) in notranjost omarice z žarnicami z votlo katodo (desno)

Poudarite razlike med metodo kalibracijske premice in metodo standardnih dodatkov!



Napišite formulo, po kateri pri eni in drugi metodi kalibracije izračunamo rezultat določitve in pripišite, pri kateri metodi gre za ekstrapolacijo in pri kateri za interpolacijo.



Napišite formulo, po kateri pri eni in drugi metodi kalibracije izračunamo standardni odklon rezultata.



**10. Določitev koncentracije kalcijevih ionov v ustekleničeni izvirski ali vodovodni vodi**

Najprej določite koncentracijo kalcijevih ionov v vzorcu vode s kompleksometrično titracijo, kot je opisano v enoti 2.10.



$$c_{\text{Ca}^{2+}} = \quad \text{mg/L}$$

Za metodo kalibracijske premice izračunajte, kakšen volumen vzorca vode bi morali odmeriti v 100 mL volumetrično steklenico, da bi bila koncentracija kalcijevih ionov v pripravljeni raztopini čim bližje sredini območja koncentracij kalibracijskih raztopin, ki je (1 do 5) mg/L.



$$V_{\text{vzorca - kalibr. premica}} =$$

Izračunajte, koliko vzorca bi morali odmeriti v 100 mL volumetrično steklenico, da bi bila koncentracija kalcijevih ionov v pripravljeni raztopini 1 mg/L.



$$V_{\text{vzorca - st. dodatki}} =$$

### Osnovna standardna raztopina kalcijevih ionov, 1 g/L

Kalcijev karbonat 2 uri sušimo pri temperaturi 300 °C v izparilnici v žarilni peči. Natehtamo 1,249 g kalcijevega karbonata in ga prenesemo v 500 mL volumetrično steklenico in dodamo 100 mL dvakrat deionizirane vode in toliko koncentrirane HCl (približno 10 mL), da se ves karbonat raztopi. Raztopino v volumetrični steklenici nato razredčimo z dvakrat deionizirano vodo do oznake.

### Delovna standardna raztopina kalcijevih ionov, 100 mg/L

S 5 mL polnilno pipeto odpipetiramo 5 mL raztopine kalcijevega karbonata koncentracije 1 g/L in jo prenesemo v 50 mL volumetrično steklenico. Raztopino razredčimo z dvakrat deionizirano vodo do oznake.

### Standardne kalibracijske raztopine kalcijevih ionov za metodo kalibracijske premice

Pripravimo pet 100 mL volumetričnih steklenic in jih označimo. V volumetrične steklenice s polnilnimi pipetami odmerimo volumne delovne standardne raztopine kalcijevih ionov koncentracije 100 mg/L, kot je povzeto v tabeli 9. Raztopine v volumetričnih steklenicah razredčimo do oznake z dvakrat deionizirano vodo.

Tabela 9. Priprava kalibracijskih raztopin za metodo kalibracijske premice v 100 mL volumetričnih steklenicah iz delovne standardne raztopine kalcijevih ionov s koncentracijo 100 mg/L

Kalibr. raztopina	1.	2.	3.	4.	5.
$\gamma_{\text{Ca}^{2+}}$ (mg/L)	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
$V_{\text{Ca}^{2+} \text{ pipetiran}}$ (mL)	1	2	3	4	5

### Priprava vzorca vode za določitev kalcijevih ionov z metodo kalibracijske premice

S pipeto, ki jo imate na razpolago odpipetirajte v 100 mL volumetrično steklenico volumen vzorca vode, ki je čim bližji tistemu, ki ste ga izračunali ( $V_{\text{vzorca - kalibr. premica}}$ ) in zapišite ta volumen. Vsebinsko volumetrične steklenice razredčite z dvakrat deionizirano vodo do oznake.

### Kalibracijske raztopine za določitev kalcijevih ionov z metodo standardnih dodatkov

Pripravimo pet 100 mL volumetričnih steklenic in jih označimo. Oznake naj bodo take, da bomo ta set raztopin razlikovali od prejšnjega. V vsako volumetrično steklenico odmerite volumen vzorca vode, ki je glede na pribor, ki ga imamo na razpolago čim bližji tistemu, ki ste ga izračunali ( $V_{\text{vzorca - st. dodatki}}$ ). Ta volumen vpišite v preglednico. Nato v vsako bučko, razen v prvo, s polnilno pipeto odmerite volumen delovne standardne raztopine s koncentracijo kalcijevih ionov 100 mg/L, kot je prikazano v tabeli 10 ter raztopine razredčimo z dvakrat deionizirano vodo do oznake.

Tabela 10. Priprava kalibracijskih raztopin za metodo standardnih dodatkov 100 mL volumetričnih steklenicah iz delovne standardne raztopine kalcijevih ionov s koncentracijo 100 mg/L

Raztopina s st. dod.	1.	2.	3.	4.	5.
$V_{\text{vzorca - st. dodatki}} \text{ (mL)}$					
$\gamma_{\text{dodatka Ca}^{2+}} \text{ (mg/L)}$	0	1,000	2,000	3,000	4,000
$V_{\text{Ca}^{2+} \text{ pipetiran}} \text{ (mL)}$	0	1	2	3	4

### Postopek spektrometričnega merjenja z Atomskim absorpcijskim spektrometrom Varian atomic absorption spectrometer AA240

Najprej odvijemo ventil na jeklenki, v kateri je acetilen. Nato vklopimo kompresor za dotok zraka in šele, ko imamo dotok obeh plinov prižgemo s tipko za vklop atomski absorpcijski spektrometer. Nato vklopimo računalnik in vtiskamo geslo, ki je zapisano na škatli računalnika. Ta del postopka naredi nekdo od osebja, postopek, ki je opisan v nadaljevanju izvede študent. Preverimo, da je cevka za vsrkavanje raztopin potopljena v dvakrat deionizirano vodo.

Na namizju poiščemo ikono Spektra AA in s klikom vstopimo v program.

- 1) Izberemo delovni list Worksheet in možnost New form.
- 2) Odprejo se predhodno shranjene metode. Izberemo zadnjo metodo izmed shranjenih metod za kalcij. Torej metodo Ca teh... .AAWS, ter potrdimo izbiro z OK, da se odpre nov delovni list.
- 3) Kliknemo zavihek Analysis, izberemo žarnico z votlo katodo za kalcij (Lamp 2) in preverimo pozicijo ročke, v omarici aparature za žarnicami z votlo katodo. Ročka mora biti usmerjena proti žarnici z votlo katodo 2. Če to ni, ročko premaknemo v ustrezen položaj (slika 37).
- 4) Vrnemo se na delovni listi in kliknemo možnost Optimize Lamp, da sistem optimizira žarnico za kalcij. Ko inštrument opravi optimizacijo, kliknemo možnost Rescale, da instrument prilagodi skalo.
- 5) Kliknemo Optimize signal, da optimiziramo signal in nato Instrument zero → OK. Ko instrument zaključi optimizacijo kliknemo Cancel.
- 6) Z gumbom, ki je na aparaturi levo spodaj in ima oznako plamena, prižgemo plamen. Na delovnem listu kliknemo možnost Start (ikona s semaforjem) in potrdimo z OK.
- 7) Program zahteva, da pripravimo slepo. Cevko za vsrkavanje raztopine potopimo v slepo; v našem primeru je to dvakrat deionizirana voda. Cevke med menjavo raztopin ne brišemo. Stopnjo postopka potrdimo z OK.
- 8) Ko instrument zaključi meritve za slepo, zahteva zamenjavo slepe s prvo standardno kalibracijsko raztopino. Cevko iz slepe prenesemo v prvo standardno raztopino in kliknemo Read. Instrument opravi meritve.
- 9) Ko instrument opravi meritve za prvo standardno kalibracijsko raztopino, izpiše absorbanco in zahteva naslednjo kalibracijsko raztopino. Postopek ponavljamo, dokler ne zaključimo serije.
- 10) Po opravljeni kalibraciji, program zahteva vzorec.
- 11) Po zaključeni meritvi za vzorec naredimo meritve za pet kalibracijskih raztopin s standardnimi dodatki. Absorbance teh raztopin merimo, kot bi šlo za vzorce.
- 12) Ko so meritve za raztopine s standardnim dodatkom končane kliknemo Pause in nato Stop (ikona s semaforjem).

**Določitev koncentracije kalcijevih ionov v ustekleničeni izvirski ali vodovodni vodi  
(Poročilo o analizi)**

**Metoda kalibracijske premice**

Rezultate meritev vpišite v preglednico!



Kalibr. raztopina	1.	2.	3.	4.	5.	Vzorec
$\gamma_{\text{Ca}^{2+}}$ (mg/L)	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000	-
A						

**Metoda standardnih dodatkov**

Rezultate meritev vpišite v preglednico!



Raztop. s st. dod.	1.	2.	3.	4.	5.
$\gamma_{\text{dodatka Ca}^{2+}}$ (mg/L)	0	1	2	3	4
A					

S programom MS Excel narišite graf odvisnosti absorbance od koncentracije kalcijevih ionov v kalibracijskih raztopinah in presodite njegovo linearnost. Podobno naredite tudi za meritve, ki ste jih dobili za metodo standardnih dodatkov. Pravilno označite obe osi in upoštevajte vsa pravila za pisanje simbolov veličin in enot. Grafa prenesite v MS Word in jima dodajte ustrezno pojasnilo. Komentirajte linearnost.

R

Za oba načina kalibracije izračunajte parametre premice ( $y = a + b \cdot x$ ), kot nakazuje preglednica!

R

Metoda	$a$	$b$	$S_{y/x}$	$S_a$	$S_b$	$r$
Kalibracijske premice						
Standardnih dodatkov						

Za oba načina kalibracije izračunajte rezultat določitve kalcijevih ionov v razredčeni raztopini vzorca!

R

Metoda kalibracijske premice:  $x_0 =$   $S_{x0} =$

Metoda standardnih dodatkov:  $x_E =$   $S_{xE} =$

Upoštevajte redčenje in izračunajte koncentracijo kalcijevih ionov v vodi določeno z obema metodama kalibracije! Oba rezultata podajte pravilno in popolno!



R

Metoda kalibracijske premice:

Metoda standardnih dodatkov:

Z ustreznim številom signifikantnih mest pravilno in popolno zapišite rezultat določitve kalcijevih ionov s kompleksometrijo!

R

Primerjajte vse tri rezultate in napišite komentar!

R