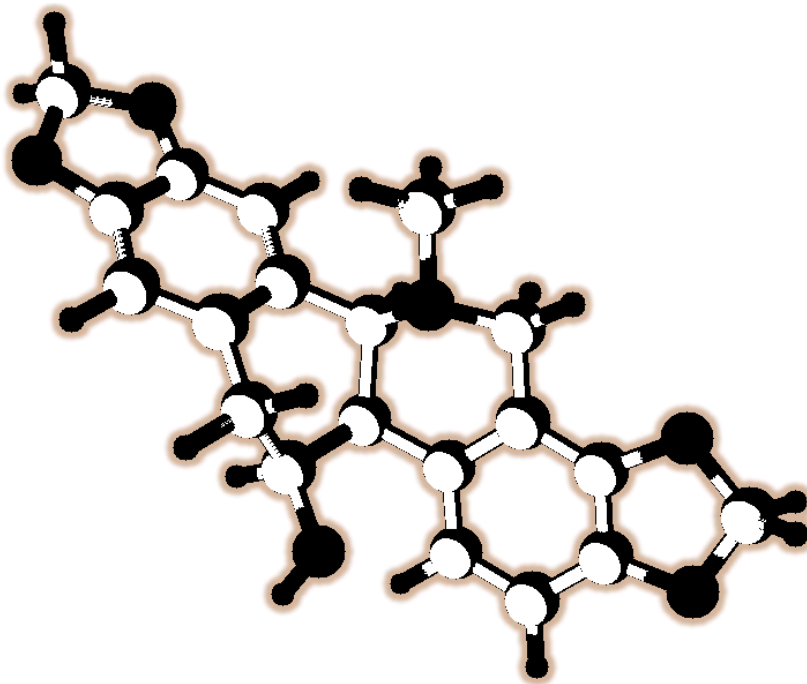


CHEMIA FIZYCZNA

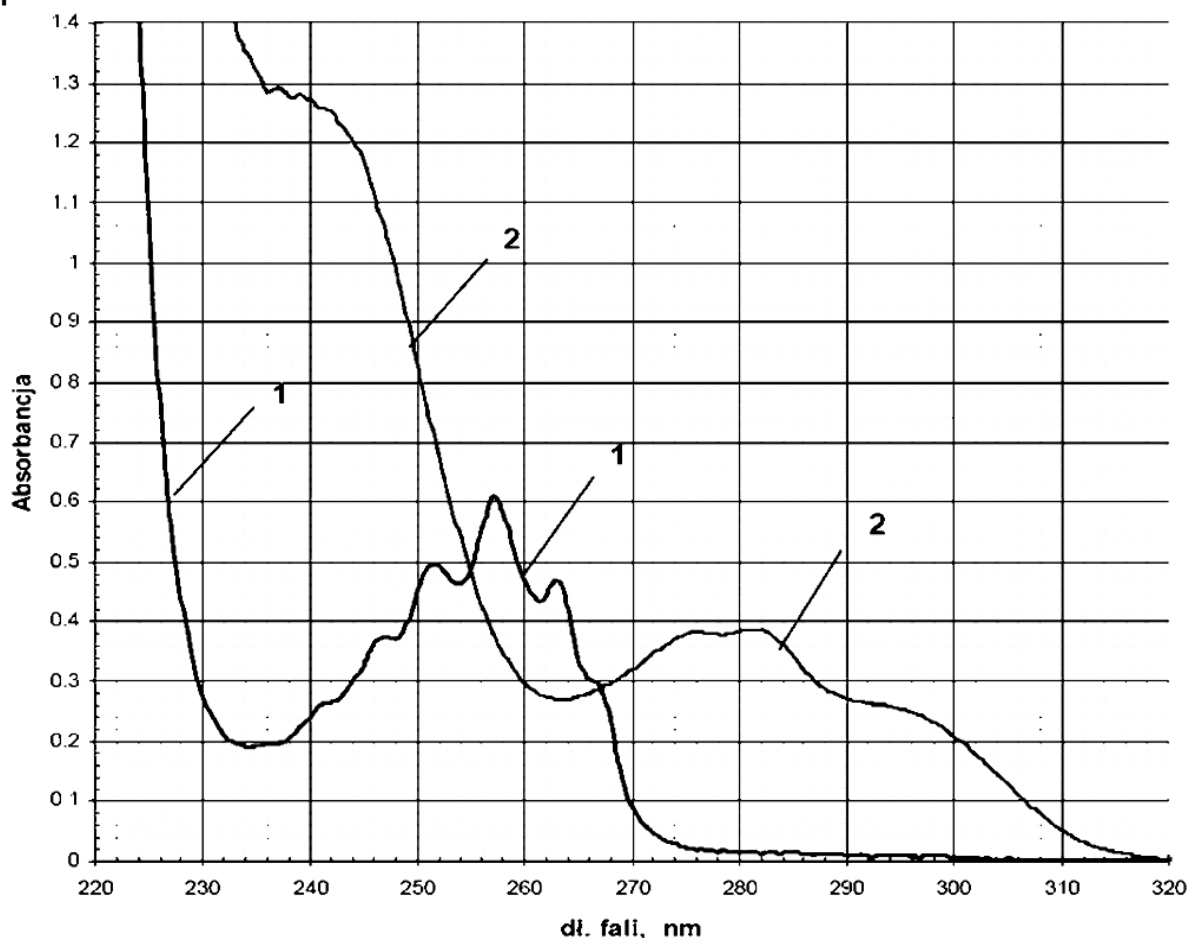


SPEKTROFOTOMETRIA UV-VIS

Etap 0. i 1.

ZADANIE 1.

Spektrofotometria UV-VIS



Na rysunku pokazano widma absorpcji wodnych roztworów dwóch aminokwasów fenyloalaniny (krzywa 1) i tyrozyny (krzywa 2). Roztwór fenyloalaniny ma stężenie $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, widmo zarejestrowano w kuwecie o długości drogi optycznej $50,0 \text{ mm}$. Stężenie roztworu tyrozyny wynosi $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, zaś długość drogi optycznej kuwety to $10,0 \text{ mm}$.

Korzystając z danych odczytanych z rysunku wykonaj następujące polecenia:

1. Wyznacz analityczne długości fali dla każdej substancji
2. Dla wybranych długości fali oblicz molowe współczynniki absorpcji oraz absorpcje właściwe
3. Czy wybrane długości fali są odpowiednie do oznaczania stężenia tych aminokwasów w ich mieszaninie? Odpowiedź uzasadnij
4. Zakładając porównywalne stężenia obydwu aminokwasów podaj, jakie może być ich maksymalne stężenie w mieszaninie, aby absorbancja w zakresie $250 - 270 \text{ nm}$ dla roztworu zmierzonego w kuwecie o długości drogi optycznej 1 cm , nie była większa od 1.
5. Jaką transmitancję (przepuszczalność) będzie miał roztwór o stężeniu $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ tyrozyny i $30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ alaniny przy długości fali 263 nm , jeśli dokonano pomiaru w kuwecie o długości drogi optycznej 2 cm ?

ZADANIE 2.

Metoda dodatku wzorca

Dla wielu analitycznych metod instrumentalnych istnieje prosta zależność między stężeniem analizowanej substancji, c_x , a rejestrowanym sygnałem analitycznym, I (np. natężeniem prądu, absorbancją w spektrofotometrii itp.):

$$I = S \cdot c_x$$

gdzie S jest współczynnikiem proporcjonalności, charakterystycznym dla zastosowanej metody i analizowanej substancji. Dokładna wartość współczynnika S często nie jest znana. Poza tym, dla próbek złożonych, np. środowiskowych, na wartość S może wpływać obecność innych składników obecnych w próbce. W rezultacie mierzony sygnał analityczny, I , może zależeć nie tylko od stężenia badanego składnika o stężeniu c_x , ale i od ogólnego składu próbki. Dlatego wyznaczenie stężenia badanego składnika próbki, c_x , wymaga przeprowadzenia tzw. procedury kalibracyjnej. Jedną z takich procedur jest metoda dodatku wzorca. Pomiar sygnału analitycznego przeprowadza się dwukrotnie. Pierwszy pomiar (sygnał I_1) dotyczy oryginalnej próbki. Następnie do objętości V próbki dodaje się porcję (o objętości v) wzorcowego roztworu analizowanej substancji o znanym stężeniu, c_{wz} i przeprowadza drugi pomiar (sygnał I_2).

Polecenia:

- Wyprowadź równanie wiążące nieznaną stężenie analizowanej substancji, c_x , w próbce, ze znanymi wartościami I_1 , I_2 , V , c_{wz} i v .
- Stężenie jonów Cu^{2+} w pewnej próbce wyznaczano metodą spektrofotometryczną, wykorzystując tworzenie barwnego kompleksu dodanego odczynnika z jonami Cu^{2+} . Zastosowano metodę dodatku wzorca. W pierwotnej próbce zmierzona absorbancja wynosiła 0,435. Po dodaniu do 10 cm^3 próbki 1 cm^3 wzorcowego roztworu jonów Cu^{2+} o stężeniu 10^{-3} mol/dm^3 , zmierzona wartość absorbancji wyniosła 0,726. Oblicz stężenie jonów Cu^{2+} w badanej próbce.

ZADANIE 3.

Absorpcja promieniowania elektromagnetycznego

Kuwetę o grubości 2,00 mm napełniono roztworem benzenu w nieabsorbującym rozpuszczalniku. Stężenie benzenu wynosiło $0,010 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Stwierdzono, że 52% promieniowania o długości fali 256 nm jest absorbowane przy przejściu przez warstwę roztworu benzenu.

Polecenie:

- Oblicz molowy współczynnik absorpcji benzenu dla tej długości fali.

W pewnym stopniu światło jest również absorbowane przez czystą wodę. Dla promieniowania o długości fali 500 nm, molowy współczynnik absorpcji czystej wody w temperaturze pokojowej wynosi $4,5 \cdot 10^{-6} \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Jeżeli światło przechodzi przez wodę morską, jej warstwa o grubości 1 m zmniejsza natężenie wiązki promieniowania o połowę.

Polecenia:

- Oblicz, ile procent promieniowania o długości fali 500 nm przechodzi przez warstwę czystej wody o grubości 10,0 m.
- Oblicz ile procent promieniowania przechodzi przez warstwę wody morskiej o grubości 10,0 m.

ZADANIE 4.**Spektrofotometryczne oznaczanie mieszanin**

Roztwory barwników specyficznie pochłaniają promieniowanie. Widmo absorpcji przedstawia stopień pochłaniania promieniowania o różnej energii (długości fali). Kształt widma cechuje układ barwny pod względem jakościowym. Addytywność absorpcji stanowi podstawę pomiaru ilościowego składników mieszaniny.

Dla mieszaniny dwuskładnikowej B i D można wybrać takie dwie długości fali λ_1 i λ_2 , dla których absorpcja roztworu jednego składnika przy wybranej długości fali jest zdecydowanie różna od absorpcji składnika drugiego. Korzystając z prawa addytywności absorpcji można zapisać:

$$A_1 = a_{1B} \cdot c_B \cdot l + a_{1D} \cdot c_D \cdot l$$

$$A_2 = a_{2B} \cdot c_B \cdot l + a_{2D} \cdot c_D \cdot l$$

gdzie:

A_1, A_2 – absorpcja mieszaniny przy długości fali odpowiednio λ_1 i λ_2

a_{1B}, a_{2B} – absorpcja właściwa składnika B przy długości fali odpowiednio λ_1 i λ_2

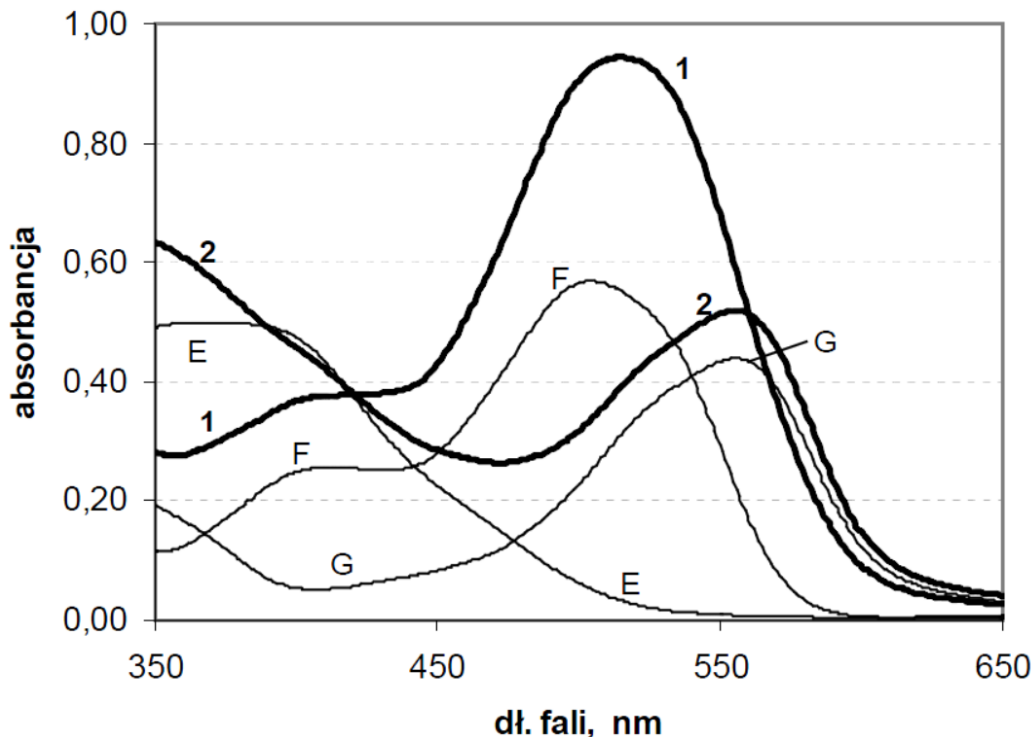
a_{1D}, a_{2D} – absorpcja właściwa składnika D przy długości fali odpowiednio λ_1 i λ_2

c_B, c_D – stężenie składników C i D w $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

l – grubość warstwy absorbującej (1 cm)

Mając wyznaczone absorpcje właściwe oraz dokonując pomiaru absorpcji mieszaniny można rozwiązać układ równań i znaleźć stężenia składników w badanym roztworze. Na rysunku przedstawiono widma absorpcji roztworów trzech barwników E, F i G, każdy o stężeniu $30 \mu\text{g}/\text{cm}^3$. Widma zarejestrowano dla roztworów w kuwecie o długości drogi optycznej 1 cm. Pogrubioną linią pokazano widma dwóch dwuskładnikowych mieszanin wymienionych barwników (1 i 2).

Widma absorpcji barwników i ich mieszanin



W tabeli podano absorbancję roztworów w pobliżu maksimum każdego barwnika.

długość fali [nm]	E	F	G	1	2
350	0,492	0,115	0,193	0,282	0,635
355	0,496	0,116	0,180	0,275	0,624
360	0,497	0,124	0,167	0,277	0,609
365	0,497	0,136	0,153	0,284	0,592
370	0,497	0,153	0,136	0,294	0,573
375	0,497	0,170	0,119	0,306	0,553
380	0,497	0,189	0,101	0,319	0,532
385	0,496	0,206	0,084	0,331	0,511
390	0,492	0,224	0,069	0,345	0,491
395	0,486	0,238	0,060	0,357	0,474
400	0,474	0,249	0,053	0,367	0,458
485	0,106	0,499	0,160	0,772	0,275
490	0,090	0,530	0,180	0,827	0,285
495	0,075	0,552	0,202	0,871	0,299
500	0,062	0,566	0,228	0,906	0,318
505	0,051	0,569	0,255	0,928	0,340
510	0,041	0,563	0,284	0,940	0,365
515	0,033	0,552	0,311	0,944	0,391
520	0,026	0,537	0,337	0,940	0,415
545	0,011	0,354	0,423	0,754	0,502
550	0,009	0,294	0,434	0,681	0,514
555	0,008	0,232	0,439	0,602	0,519
560	0,008	0,173	0,435	0,520	0,514
565	0,007	0,122	0,419	0,442	0,494
570	0,006	0,082	0,389	0,369	0,459
575	0,006	0,053	0,348	0,303	0,411
580	0,006	0,033	0,299	0,244	0,353

Polecenia:

- Podaj symbole barwników znajdujących się w mieszaninie 1 i w mieszaninie 2.
- Korzystając z rysunku oraz danych z tabeli wybierz odpowiednie długości fali i wyznacz współczynniki absorpcji właściwej poszczególnych barwników dla ich oznaczania w mieszaninach dwuskładnikowych.
- Znajdź stężenie barwników znajdujących się w mieszaninie.

ZADANIE 5.

Chemiczna amplifikacja sygnału analitycznego

Pojęcie amplifikacji powszechnie kojarzone jest z namnażaniem (PCR) DNA w genetyce, czyli zwielokrotnieniem liczby łańcuchów DNA. W chemii analitycznej określenie to stosuje się do takiej procedury, w której z jednego mola oznaczanej substancji (w wyniku kilku następujących po sobie reakcji) powstaje więcej niż 1 mol produktu, będącego źródłem sygnału analitycznego. Stosunek liczby moli produktu uzyskanego w reakcji amplifikowanej do liczby moli analitu nosi nazwę współczynnika amplifikacji.

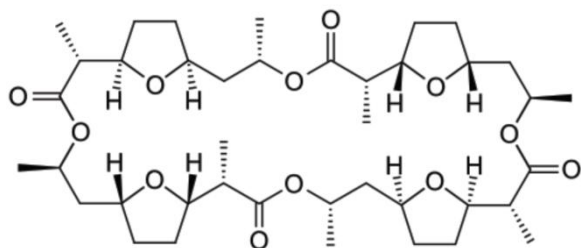
Przykład I: Chemiczne wzmocnienie (amplifikacja) stosowane jest w metodzie spektrofotometrycznego oznaczania śladowych ilości jonów jodkowych. Jony jodkowe można utlenić do jodu np. żelazem(III). W metodzie amplifikowanej jony jodkowe utlenia się do jonów jodanowych(V) za pomocą wody bromowej. Nadmiar bromu usuwa się przez wygotowanie. Utworzone jony jodanowe(V) reagują z kolei z dodanymi w nadmiarze jonami jodkowymi wytwarzając jod, który po wyekstrahowaniu chloroformem można oznaczać spektrofotometrycznie. Ekstrakcyjnie wydzielony jod można zredukować za pomocą siarczanu(IV) do jodków i ponownie przeprowadzić amplifikację.

Przykład II: W analizie miareczkowej o amplifikacji chemicznej można mówić wtedy, gdy dzięki zastosowanej procedurze analitycznej na 1 mol analitu przypada kilka moli titranta, co ma miejsce w reakcjach redoks (stechiometria reakcji). Przykładem takiego postępowania może być oznaczanie chromu w stali. Po rozpuszczeniu stali, do utlenienia chromu używa się stężonego kwasu chlorowego(VII). Kwas ten jest wygodnym utleniaczem, gdyż jego nadmiar nie przeszkadza w oznaczaniu, bo po rozcieńczeniu wodą traci właściwości utleniające, a produkt redukcji, chlor, usuwa się przez wygotowanie. Chrom jest utleniany do chromu(VI), który może być odmiareczkowany za pomocą mianowanego roztworu żelaza(II) wobec ferroiny jako wskaźnika.

Odważkę stali o masie 0,3276 g umieszczono w zlewce o poj. 250 cm³ i roztworzono w 20 cm³ kwasu siarkowego(VI) (1+3), dodając pod koniec 2 cm³ kwasu azotowego, po czym odparowano ostrożnie do białych dymów. Po ostudzeniu dodano 10 cm³ 70% kwasu chlorowego(VII) i ponownie odparowano do białych dymów. Zlewkę przykryto szkiełkiem zegarkowym i ogrzewano dalej przez 30 min. Po ostudzeniu ostrożnie rozcieńczono wodą i przeniesiono ilościowo do kolby miarowej o poj. 250 cm³. Pobrano 50,0 cm³ badanego roztworu i miareczkowano roztworem soli żelaza(II) o stężeniu 0,0500 mol/dm³ zużywając 13,65 cm³.

Polecenia:

- Napisz w formie jonowej równania reakcji zachodzących podczas oznaczeń opisanych w przykładach I i II. Podaj współczynniki amplifikacji dla obu metod.
- Podaj molowy współczynnik absorpcji oznaczania jonów jodkowych wspomnianymi metodami, skoro wiadomo, że molowy współczynnik absorpcji roztworu jodu w chloroformie wynosi 900 dm³·mol⁻¹·cm⁻¹.
- Oblicz, jaka jest procentowa zawartość chromu w badanej stali.

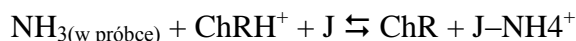
ZADANIE 6.**Optody**

Jedną z grup nowoczesnych czujników chemicznych są optody, gdzie mierzonym sygnałem jest zmiana absorbancji (zwykle w zakresie widzialnym) towarzysząca obecności analizowanej substancji, która nie musi być barwna. Sensory takie występują zwykle w postaci zminiaturyzowanej, a sygnał świetlny może być przenoszony światłowodem.

Zasadę działania optody przeanalizujemy na przykładzie czujnika amoniaku. Głównym elementem jest membrana (zwykle wykonana z polichlorku winylu) zawierająca jonofor, J, czyli organiczny ligand silnie i selektywnie wiążący określony kation. W tym przypadku jonoforem jest naturalnie występująca substancja – nonaktywna (rys.), selektywnie wiążąca jony amonowe.

Membrana zawiera też chromojonofor (rodzaj wskaźnika kwasowo-zasadowego, gdzie forma protonowana, ChRH^+ i nieprotonowana, ChR , różnią się barwą) oraz aniony (takie, które ze względu na duże powinowactwo do fazy membrany nie przechodzą do roztworu wodnego). Aniony obecne w membranie kompensują dodatni ładunek formy ChRH^+ oraz kompleksu jonu NH_4^+ z nonaktywną (J-NH_4^+).

W obecności amoniaku zachodzi reakcja w membranie:



(stałą równowagi tej reakcji oznaczmy symbolem K).

Tworzeniu kompleksu jonu amonowego z nonaktywną, J-NH_4^+ w fazie membrany towarzyszy deprotonowanie formy ChRH^+ chromojonoforu (sumaryczny ładunek kationów w membranie musi być stały, ponieważ zawartość anionów również jest stała).

Mierzona absorbancja, A, zawiera udziały od formy ChR i ChRH^+ w sposób opisany równaniem:

$$A = \alpha A_1 + (1-\alpha)A_0$$

gdzie α jest ułamkiem molowym wolnego (nieprotonowanego) chromojonoforu, A_1 i A_0 są granicznymi wartościami absorbancji, odpowiednio dla $\alpha = 1$ i $\alpha = 0$.

Polecenia:

- Wyprowadź równanie wiążące wartość α z mierzalnymi wielkościami A, A_1 i A_0 .
- Wykaż, że stała równowagi K może być opisana równaniem:

$$\frac{1}{K[\text{NH}_3]} = \frac{(1-\alpha)[J_c - R + (1-\alpha)C_c]}{\alpha[R - (1-\alpha)C_c]}$$

gdzie J_c i C_c określają całkowite stężenie nonaktywny i chromojonoforu (łącznie w formie obojętnej i kationowej), R jest stężeniem anionów w membranie. Wartości J_c , C_c i R traktujemy jako stałe.

- Zakładając, że udział $(1-\alpha)C_c$ jest pomijalnie mały zapisz równanie wiążące $\log(\alpha/(1-\alpha))$ z $\log[\text{NH}_3]$.
- Stwierdzono, że dla pewnego stężenia NH_3 wartość α wynosi 0,90. Następnie próbkę amoniaku rozcieńczono i uzyskano dla niej $\alpha = 0,82$. Oblicz (stosując uproszczone równanie), ile razy zmniejszyło się stężenie amoniaku w stosunku do próbki pierwotnej.

ZADANIE 7.**Oznaczanie niewielkich ilości złota(III).**

Jony złota(III) tworzą z jonami bromkowymi barwny kompleks, który może być ekstrahowany rozpuszczalnikami solwatującymi. Otrzymanie barwnego ekstraktu umożliwia spektrofotometryczne oznaczenie niewielkich ilości złota.

Badaną próbkę o masie 0,25 g, zawierającą odpadki jubilerskie, rozpuszczono w wodzie królewskiej, po usunięciu tlenków azotu przeniesiono do kolby miarowej o pojemności 100 cm³ i uzupełniono do kreski wodą. Pobrano 10 cm³ tego roztworu i umieszczono go w rozdzielaczu, po czym dodano 5 cm³ stężonego kwasu bromowodorowego, 10 cm³ eteru diizopropylowego i wytrząsano przez 1 minutę. Po rozdzieleniu faz, warstwę wodną przeniesiono do drugiego rozdzielacza i ponownie wytrząsano z 10 cm³ eteru. Warstwę wodną odrzucono. Połączone ekstrakty (zabarwione na żółto) przemyto roztworem kwasu bromowodorowego(1+2), przeniesiono do kolby miarowej o pojemności 50 cm³ i uzupełniono eterem diizopropylowym do kreski. Za pomocą spektrofotometru dokonano pomiaru absorbancji ekstraktów przy długości fali 380 nm. Absorbancja ekstraktu zmierzona w kuwecie o długości drogi optycznej 1 cm wyniosła 0,384. Krzywa wzorcowa

Przygotowano ekstrakty diizopropylowe kompleksu bromkowego złota biorąc do ekstrakcji 0, 100, 200, 300, 400 i 500 g złota(III). W tym celu pobrano 0, 1, 2, 3, 4 i 5 cm³ roztworu wzorcowego roboczego złota o stężeniu 100 g·cm⁻³. Ekstrakty przeniesiono do kolbek miarowych o pojemności 25 cm³, uzupełniono do kreski eterem diizopropylowym i wymieszano. Zmierzono absorbancję tych roztworów w kuwecie o długości drogi optycznej 1 cm. Uzyskano następujące wyniki pomiarów:

Objętość roztworu roboczego [cm ³]	Stężenie Au [g·cm ⁻³]	Absorbancja przy 380 nm
0	0	0,007
1	4	0,101
2	8	0,204
3	12	0,301
4	16	0,403
5	20	0,505

Polecenia:

- Podaj procentową zawartość złota w badanej próbce.
- Opisz działanie wody królewskiej. Napisz równanie reakcji roztwarzania złota w wodzie królewskiej.

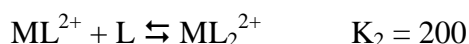
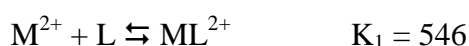
Etap 2.

ZADANIE 8.

Absorpcja światła przez roztwory związków kompleksowych

Roztwory kompleksowych związków metali często silnie pochłaniają światło o pewnych długościach fali. Dlatego związki te są czasami stosowane do konstrukcji skutecznych, a jednocześnie bardzo tanich filtrów optycznych. Kompleksy rozłożone w wyniku oddziaływania z promieniowaniem mogą się łatwo odtwarzać, zatem filtry oparte na kompleksach metali mogą być nawet używane w pracy z wiązkami laserowymi o dużej mocy.

Jony metalu M^{2+} tworzą ze związkiem L (ligandem) kompleksy ML^{2+} i ML_2^{2+} . Stałe równowagi reakcji tworzenia kompleksów wynoszą:



Powyższe reakcje kompleksowania można badać spektrofotometrycznie. W toku tych badań stwierdzono, że jeśli dla danego stężenia jonów metalu stopniowo zwiększa się stężenie ligandu L, to absorbancja mierzona przy długości fali 500 nm, przechodzi przez wartość maksymalną. Molowe współczynniki absorpcji kompleksów ML^{2+} i ML_2^{2+} przy długości fali 500 nm wynoszą odpowiednio $\epsilon_{ML^{2+}} = 7,50 \cdot 10^3$ i $\epsilon_{ML_2^{2+}} = 5,00 \cdot 10^3$ [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]. Absorbancję światła przez nieskompleksowane jony M^{2+} , wolny ligand L i wodę można pominąć.

A. W zlewce znajduje się 100 cm^3 wodnego roztworu soli metalu M o stężeniu $2,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Do zlewki dodano taką ilość moli związku L, że otrzymano roztwór, którego absorbancja przy długości fali 500 nm była bliska maksymalnej, możliwej do uzyskania wartości. Dodatek związku L nie spowodował zmiany objętości roztworu. Stwierdzono, że w otrzymanym roztworze 31,5 % metalu występuje w postaci kompleksu ML^{2+} (innymi słowy, ułamek molowy kompleksu ML^{2+} wynosi: $x_{ML^{2+}} = 0,315$).

Polecenia:

- Oblicz wartość stałej równowagi reakcji: $M^{2+} + 2L \rightleftharpoons ML_2^{2+}$
- Napisz równanie wiążące ułamek molowy kompleksu ML^{2+} ze stężeniem wolnego ligandu w roztworze.
- Oblicz stężenie wolnego ligandu L (pamiętaj, że absorbancja uzyskanego roztworu jest bliska maksymalnej możliwej do uzyskania wartości).
- Oblicz ułamki molowe kompleksu ML_2^{2+} i nieskompleksowanych jonów M^{2+} w uzyskanym roztworze.
- Oblicz, ile moli związku L dodano do roztworu soli metalu M.

B. W innym eksperymencie do zlewki zawierającej sól metalu M o stężeniu $2,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ dodano tyle związku L, że w otrzymanym roztworze 1,9 % metalu występowało w postaci jonów nieskompleksowanych, 20,3 % metalu w postaci kompleksu ML^{2+} a 77,8 % metalu w postaci kompleksu ML_2^{2+} . Dodatek związku L nie spowodował zmiany objętości roztworu. Tak uzyskanym roztworem napełniono kuwetę o grubości $l = 0,500 \text{ cm}$.

Polecenie:

- Oblicz, ile procent promieniowania o długości fali 500 nm przechodzi przez kuwetę napełnioną otrzymanym roztworem.