

Imię i nazwisko studenta	Data	Ocena	Podpis prowadzącego

KOLORYMETRIA

Na ćwiczeniach obowiązuje materiał zawarty w podręczniku:

R. Kocjan „Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów. Analiza instrumentalna. Tom 2” –

rozdz. 1.4.2 (str. 21 – 23); 5.1 – 5.1.4 (str. 56 – 64);

5.5 – 5.5.5.5 (str. 83 – 104)

Spektrofotometria absorpcyjna, która dzieli się na absorpcjometrię w świetle widzialnym (kolorymetrię) oraz absorpcjometrię w nadfiolecie i podczerwieni zaliczana jest do metod optycznych analizy chemicznej.

Spektrofotometria absorpcyjna w zakresie światła widzialnego (kolorymetria) jest najszerszej stosowaną metodą instrumentalną ze względu na jej dużą precyzję, czułość i dostępność aparatury.

Podstawowym kryterium tej metody jest **selektywna absorpcja promieniowania** świetlnego przez roztwór badanej substancji.

Światło widzialne białe składa się z fal elektromagnetycznych o długościach 380 – 780 nm. Barwa ciała świadczy o tym, że przepuszcza ono lub absorbuje promieniowanie z zakresu widzialnego w sposób selektywny. Zabarwienie obserwowane jest dopełnieniem barwy promieniowania absorbowanego.

Zależność między absorpcją promieniowania i zabarwieniem

Absorbowane promieniowanie		Zabarwienie obserwowane
Długość fali (nm)	Barwa	
380—420	fioletowa	zielonożółte
420—440	fioletowoniebieska	żółte
440—470	niebieska	pomarańczowe
470—500	niebieskozielona	czerwone
500—520	zielona	purpurowe
520—550	żółtozielona	fioletowe
550—580	żółta	fioletowoniebieskie
580—620	pomarańczowa	niebieskie
620—680	czerwona	niebieskozielone
680—780	purpurowa	zielone

Do kolorymetrycznego oznaczania wykorzystuje się barwę własną jonu oznaczanego pierwiastka lub związku, w który został przeprowadzony w wyniku reakcji. Oznaczenie kolorymetryczne składa się z dwóch etapów:

1. otrzymywanie barwnego połączenia zawierającego oznaczany pierwiastek
2. wykonanie pomiaru absorpcji roztworu zawierającego badany związek.

Metodą spektrofotometrii absorpcyjnej można oznaczać prawie wszystkie pierwiastki w szerokim zakresie stężeń. Zaletą metod kolorymetrycznych jest duża szybkość wykonywania oznaczeń oraz możliwość oznaczania bardzo małych ilości substancji ze stosunkowo dużą dokładnością.

Spektrofotometria UV/VIS

Absorpcja promieniowania z zakresu światła widzialnego i ultrafioletu zależy od struktury cząsteczki. Absorpcja promieniowania powoduje przejścia elektronów ze stanów podstawowych na wyższe poziomy energetyczne – *stany wzbudzone*. Promieniowanie ultrafioletowe jest w stanie powodować przejścia elektronów wiązań typu π (wiązania wielokrotne), a światło z zakresu widzialnego, niosąc jeszcze mniej energii, powoduje przejścia o jeszcze mniejszej różnicy między stanem podstawowym a wzbudzonym (sprzężone wiązania wielokrotne).

Jeżeli na próbkę (o grubości l) pada promieniowanie monochromatyczne (promieniowanie o jednej długości fali) o natężeniu I_0 to część tego promieniowania zostanie rozproszona I_x , część zostanie zaabsorbowana I_a , a część przejdzie przez badaną próbkę I_T .

$$I_0 = I_a + I_x + I_T$$

Promieniowanie rozproszone jest dużo mniejsze od promieniowania padającego stąd:

$$I_0 = I_a + I_T$$

Stosunek natężenia wiązki promieniowania po przejściu przez absorbujące środowisko I_T do natężenia wyjściowego I_0 wyrażony w procentach nazywamy **transmitancją** ($T = I_T / I_0$). Drugim ważnym pojęciem związanym z pochłanianiem energii promienistej przez substancje jest pojęcie **absorbancji** (A), którą definiujemy jako logarytm dziesiętny z odwrotności transmitancji

$$T = \frac{I_T}{I_0}$$

$$A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{1}{\frac{I_T}{I_0}} = \log \frac{I_0}{I_T}$$

W zakresie światła widzialnego i ultrafioletu efekt absorpcji promieniowania występuje tylko w tych związkach, które posiadają ugrupowania atomów zawierające ruchliwe elektrony π , bądź wiązania wielokrotne. W przypadku związków absorbujących światło z zakresu widzialnego (związki barwne dla oka ludzkiego), w cząsteczce muszą występować określone ugrupowania atomów. Noszą one nazwę chromoforu. **Chromofor** – część cząsteczki, która jest bezpośrednio odpowiedzialna za absorpcję promieniowania (w obrębie, której zachodzi zjawisko pochłonięcia energii). Przykładem grup chromoforowych są: grupa azowa, grupa nitrowa, pierścienie aromatyczne. Obok grup chromoforowych w cząsteczce mogą występować **ugrupowania auksochromowe**, do których zaliczamy między innymi grupę aminową czy hydroksylową. Są to podstawniki w cząsteczce, które same nie absorbują promieniowanie promieniowania, ale ich obecność powoduje wzrost intensywności zabarwienia.

Istnieją dwa podstawowe **prawa absorpcji światła**, które dotyczą zależności natężenia światła przechodzącego od natężenia światła padającego, oraz od stężenia warstwy absorbującej i jej grubości.

Prawo Lamberta i Beera – istnieje proporcjonalna zależność pomiędzy stężeniem, grubością warstwy absorbującej i absorbancją.

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

ε - molowy współczynnik absorpcji,

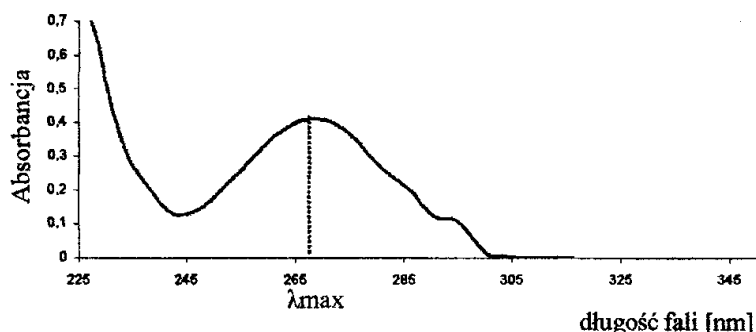
c – stężenie [mol/l],

l – grubość warstwy [cm].

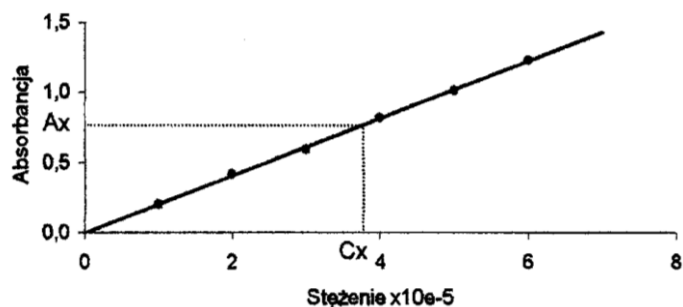
Prawo addytywności – absorbancja jest wielkością addytywną tzn. absorbancja mieszaniny n składników jest równa sumie absorbancji poszczególnych składników

$$A = (\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \varepsilon_3 c_3 + \dots + \varepsilon_n c_n) l$$

Graficznym zapisem zmian absorbancji od długości fali przechodzącej przez roztwór jest **widmo absorpcji**.



Spektrofotometria UV/VIS znalazła szerokie zastosowanie w analizie chemicznej. Jednym z zastosowań jest analiza ilościowa. W celu wyznaczenia zawartości (stężenia) dowolnego związku najlepiej zastosować metodę krzywej wzorcowej. W tym celu należy przygotować serię roztworów badanego związku o znanym stężeniu (roztwory wzorcowe). Następnie wyznaczyć analityczną długość fali dla roztworu o największym stężeniu (długość fali, przy której absorbancja jest największa) i przy tej długości fali dokonać pomiarów absorbancji roztworów wzorcowych oraz pomiaru absorbancji badanego roztworu (A_x). Na wykresie zależności absorbancji od stężenia wykreśla się prostą i odczytuje z niej stężenie badanego związku.



Rozwój spektrofotometrycznych metod oznaczania jest ściśle związany z rozwojem chemii kompleksów.

Metody spektrofotometryczne z zastosowaniem krzywej wzorcowej są metodami porównawczymi. Dokładność ich w dużej mierze zależy od dokładnego i właściwego przygotowania roztworów wzorcowych, które służą do przygotowania serii wzorców.

KOLORYMETRYCZNE OZNACZANIE Fe(III) METODĄ RODANKOWĄ

Wykonywane oznaczenie opiera się na powstawaniu krwisto-czerwonego kompleksu żelaza z rodankiem w środowisku kwaśnym. W wyniku stopniowego tworzenia się kompleksów w roztworze mogą powstawać żelazowo-rodankowe kompleksy o składzie $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$, $\text{Fe}(\text{SCN})_2^+$ itd. aż do $\text{Fe}(\text{SCN})_6^{3-}$. Stężenie reagentów i pH środowiska decydują, które z kompleksów przeważają w roztworze. Kompleksy o wyższym stosunku $\text{SCN}^-:\text{Fe(III)}$ wykazują intensywniejsze zabarwienie. Aby otrzymane wyniki były powtarzalne niezbędne jest stosowanie dużego nadmiaru rodanku i stałego pH ok. 1.

Zabarwienia wodnych kompleksów żelazowo-rodankowych nie są trwałe, co tłumaczy się redukującym działaniem rodanków na jony Fe(III). Należy wobec tego pomiary przeprowadzać bezpośrednio po przygotowaniu roztworów.

Odczynniki i aparatura:

Specol 11

Rodanek potasowy KSCN o c=10%

Kwas azotowy (1:3)

Roztwór podstawowy Fe(III) o $c=1,8 \cdot 10^{-3}$ mol/l (0,1mg/ml)

Wykonanie oznaczenia:

W celu wyznaczenia krzywej wzorcowej należy do czterech kolb miarowych o pojemności 100 ml oznaczonych numerami 1, 2, 3, 4 odmierzyć pipetą 1, 2, 3, 4 ml roztworu podstawowego Fe(III). W kolbie oznaczonej X student otrzymuje od asystenta odmierzoną ilość roztworu Fe(III).

Do każdej kolbki należy dodać 3 ml kwasu azotowego (1:3) i 5 ml roztworu rodanku potasowego. Po ustaleniu się zabarwienia roztwory w kolbach uzupełnić do kreski wodą destylowaną. W kolbce oznaczonej numerem „0” przygotować odnośnik dodając roztwory wszystkich odczynników z wyjątkiem Fe(III) (tj. 3 ml HNO_3 i 5 ml KSCN) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną. Wszystkie roztwory starannie wymieszać.

Kuwetę o grubości $l=1$ cm napęlnić roztworem o największym stęzeniu (4), a drugą odnośnikiem (0) i przeprowadzić pomiar absorpcji w zakresie długości fal od 400 nm do 600 nm zmieniając długość fali co 20 nm.

Aby dobrać optymalną długość fali, przy której ma być wykonywany pomiar absorpcji, należy znać przebieg krzywej absorpcji barwnego kompleksu.

Wyniki pomiarów absorpcji zamieścić w tabeli.

Długość fali [nm]	A
400	
420	
440	
460	
480	
500	
520	
540	
560	
580	
600	

Przy długości fali λ_{\max} dla której absorpcja ma największą wartość należy wykonać pomiary absorpcji roztworów (4, 3, 2, 1, X).

Wyniki zebrać w tabeli.

Kolba nr	Fe(III) mg/ml	A
1		
2		
3		
4		
X		

W maksimum pasma absorpcji absorpcja A jest wprost proporcjonalna do stęzenia oznaczanego składnika (prawo Lamberta-Beera). Sporządzić wykres zależności absorpcji od stęzenia $A = f(c)$ i z wykresu odczytać nieznanne stęzenie Fe(III) roztworu X.