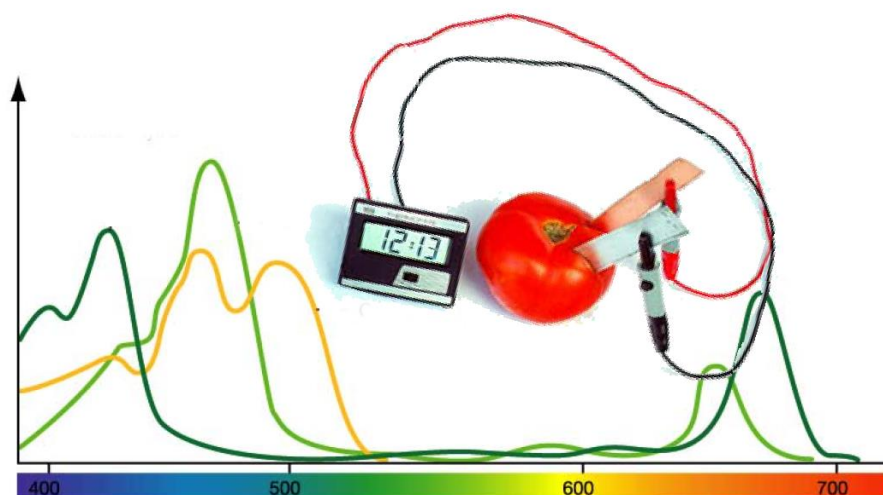


Институт за хемија
Природно-математички факултет
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“

ИНСТРУМЕНТАЛНИ АНАЛИТИЧКИ МЕТОДИ

–дневник за лабораториски вежби –



Име и презиме _____

Индекс бр. _____

Насока _____

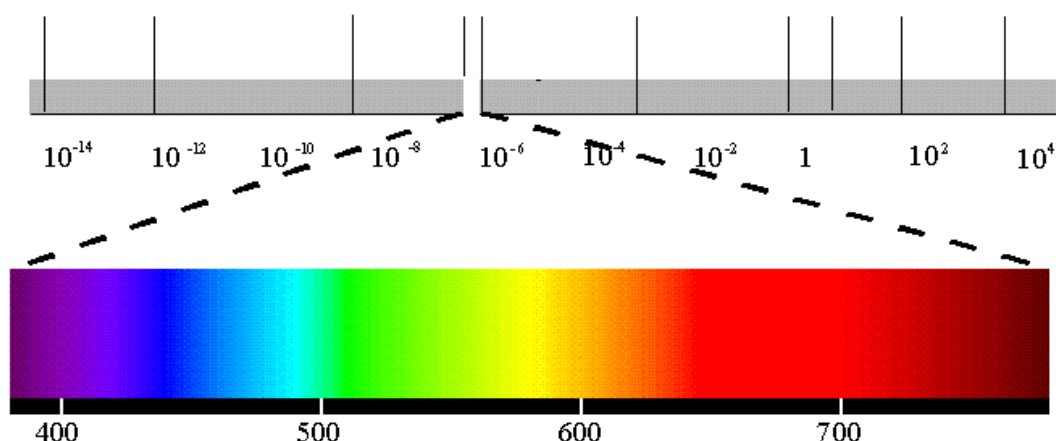
Работно место бр. _____

Термин _____

Учебна година/семестар _____

ОСНОВИ НА СПЕКТРОСКОПИЈА

Употребата на различните интеракции на електромагнетното зрачење со материјата се многу корисни за определување на присуството на некоја компонента, како и нејзината концентрација во дадена матрица. Електромагнетниот спектар опфаќа огромен интервал на бранови должини (енергии), слика 1. Треба да се истакне дека не постои дисконтинуитет во својствата на зрачењето при премините од една во друга област од спектарот.



Слика 1. Шематски приказ на електромагнетен спектар

Интеракцијата на зрачењето и материјата може да биде од типот на: емисија, апсорпција, флуоресценција, дифракција,...

Во емисионата спектроскопија, молекулите или атомите се стимулираат на одреден начин (со доведување на енергија) да поминат во состојба со повисока енергија - ексцитирана состојба, а кога се враќаат во основната состојба енергијата се емитира како зрачење кое се детектира и неговата фреквенција и интензитет даваат информација за идентитетот и за количеството на честичките кои го емитираат зрачењето.

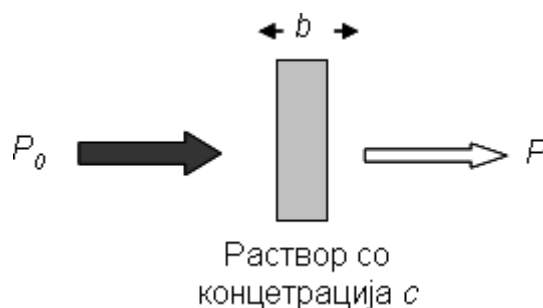
Во процесите на апсорпција, испитуваната супстанца, која се наоѓа во транспарентна средина, селективно го намалува интензитетот на електромагнетното зрачење на определени фреквенции. И повторно, фреквенцијата (или брановата должина) и интензитетот на апсорбираното зрачење даваат информација за идентитетот и за количеството на честичките кои го апсорбираат зрачењето.

ТЕРМИНИ ВО АПСОРПЦИОНАТА СПЕКТРОСКОПИЈА

Вообичаените термини и симболи кои се употребуваат во апсорпционата спектроскопија се дадени во Табела 1. Термините дадени во првата колона се оние кои денес се користат и чија примена се препорачува, додека термините во третата колона може да се сретнат само во постара литература.

Табела 1. Поважни спектроскопски термини и симболи кои се користат во аналитиката.

Термин и симбол	Дефиниција	Алтернативно име и симбол
моќност на зрачење P , P_0 (пропуштено, упадно)	Енергија на зрачење која паѓа на единица површина на детекторот во секунда	интензитет на зрачење I , I_0 (пропуштено, упадно)
апсорбанца A	$\log(P_0/P)$	оптичка густина D екстинкција E
трансмитанца T	P/P_0	трансмисија T
пат на зрачењето b		l , d
апсорпционен коефициент a	A/bc	коефициент на екстинкција k
моларен апсорпционен коефициент, ε	A/bc	моларен коефициент на екстинкција



Слика 2. Намалување на моќноста на зрачењето како последица на апсорпција од страна на конституентите на растворот со концентрација c и дебелина b

На слика 2 е прикажан раствор со концентрација c (најчесто се изразува mol/L (mol/dm³) или во g/L (g/dm³)) и дебелина на слојот b (изразена во cm). Како последица на интеракции меѓу фотоните и честичките од растворената супстанца (аналит) кои апсорбираат, при минување на зрак низ раствор моќноста на зрачењето се намалува од P_0 на P .

Трансмитанца на еден раствор се дефинира како дел од упадното зрачење што растворот го пропушта:

$$T = P/P_0$$

Трансмитанцата е мерка за пропуштената, односно неапсорбираната светлина и обично се изразува во проценти.

Апсорбанцата на еден раствор е дефинирана со изразот:

$$A = -\log T = \log(P_0/P)$$

Очигледно е дека, спротивно на трансмитанцата, апсорбанцата на еден раствор расте со намалувањето на моќноста на излезното зрачење т.е. со зголемување на концентрацијата на супстанцата што апсорбира зрачење.

ЗАВИСНОСТ НА АПСОРБАНЦАТА ОД КОНЦЕНТРАЦИЈАТА: BEER-ОВ ЗАКОН

За монохроматска светлина, апсорбанцата е правопрпорционална со должината на слојот низ кој минува зрачењето (l или b) и со концентрацијата на анализот (c). Релацијата помеѓу овие физички величини е дадена со следната равенка:

$$A = \varepsilon l c$$

каде коефициентот на пропорционалност ε претставува моларен апсорпционен коефициент. Доколку концентрацијата се мери во единици мол на литар, а должината на слојот низ кој минува зрачењето во центиметри, единиците за моларниот апсорпционен коефициент ќе бидат $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Оваа равенка претставува математичка формулација на Беровиот закон.

Експериментално мерење на апсорбанцата и трансмитанцата

Апсорбанцата и трансмитанцата, на начинот на кој се дефинирани во Табела 1, не би можеле да се мерат експериментално бидејќи, покрај апсорпцијата на зрачење од анализот, дел од зрачењето се рефлектира од сидовите на киветата, а друг дел, пак, се расејува од поголемите молекули присутни во растворот. Според тоа, намалувањето на моќноста на упадното зрачење не се должи само на апсорпција од анализот. За да се компензираат овие ефекти, моќноста на трансмитираното зрачење, вообичаено, се споредува со моќноста на трансмитираното зрачење на чистиот растворувач или, пак, на т.н. *слепа проба*, која се подготвува од растворувачот со сите додадени реагенси како и во пробата, но не содржи анализ.

КВАЛИТАТИВНА АНАЛИЗА СО ПРИМЕНА НА UV-Vis СПЕКТРОСКОПИЈА

Ултравиолетовата и видлива (UV-Vis) спектроскопија е многу корисна алатка во определувањето на присутни *хромофорни групи* во органските соединенија (хромофорни или „обојувачки“ групи се функционални групи чие присуство во органската молекула доведува до селективна апсорпција на зрачење од ултравиолетовото или видливото подрачје). Многу органски соединенија се транспарентни за зрачењето со бранова должина поголема од 180 nm, па затоа појавата на апсорпциона лента во областа од 200 до 400 nm е добар индикатор за присуството на хромофорна група или елемент кој поседува слободен електронски пар (сулфур, халоген).

Квалитативната анализа најчесто се врши со споредба на спектарот на непознатата супстанца со претходно снимени спектри на стандарди (најчесто се врши споредба со атлас на спектри или, доколку се поседува база на податоци која содржи дигитални спектри, пребарувањето се врши автоматски - со компјутер). Доколку не поседуваме спектри на стандарди со кои би можела да биде извршена споредба, само од разгледување на спектарот на соединението не би можеле да добиеме еднозначни резултати за структурата. Во таков случај мора да се обидеме да дојдеме и до други физички или хемиски податоци за соединението како на пример: инфрацрвен спектар, NMR спектар, масен спектар или, пак, растворливост, температура на топење, температура на вриење, индекс на прекршување и сл.

Ултравиолетовите спектри за квалитативна анализа најчесто се добиваат од разредени раствори на аналитот, додека за испарливи супстанции покорисни се спектрите на супстанцата во гасна фаза.

Растворувачите кои се користат во UV-Vis спектроскопија треба да бидат транспарентни т.е. да не апсорбираат во ова подрачје и да растворот доволно количество од аналитот за добивање на спектар со добро дефинирани апсорпциони ленти. Покрај тоа, мора да се води сметка за можните интеракции помеѓу растворувачот и апсорбирачкиот вид. Така, употребата на поларен растворувач (вода, некој алкохол, естер или кетон) доведува до отстранување на вибрационите спектри и треба да се избегнува кога се потребни повеќе спектрални детали. Неполарните растворувачи, пак, како циклохексан, даваат спектри на р-рената супстанца кои се приближуваат до оние во гасна фаза.

Покрај тоа, поларноста на растворувачот може да влијае и на положбата на апсорпциониот максимум, поради што, за идентификација на супстанца со споредба на спектри мора да се користат спектри добиени во истиот растворувач. Во Табела 2 се дадени вообичаените растворувачи кои се користат за UV-Vis подрачјето со долната граница до која се транспарентни.

Табела 2. Растворувачи за ултравиолетовото и видливо подрачје

Растворувач	Долна граница, λ/nm	Растворувач	Долна граница, λ/nm
вода	180	јаглород тетраклорид	260
етанол	220	диетил етер	210
хексан	200	ацетон	330
циклохексан	200	диоксан	320

КВАНТИТАТИВНА АНАЛИЗА СО ПРИМЕНА НА UV-Vis СПЕКТРОСКОПИЈА

Апсорпционата спектроскопија, базирана на апсорпција на зрачење од ултравиолетовото и видливо подрачје е една од најкористените техники за квантитативна хемиска анализа. Важни карактеристики на спектрофотометриските методи се:

- ❖ **Широка примена** – огромен број на неоргански и органски супстанции апсорбираат зрачење во ултравиолетовото и видливо подрачје; многу супстанции кои не апсорбираат можат да бидат определени по претходна хемиска обработка, со која се доведуваат во форма која апсорбира во UV-Vis подрачјето. Успешната примена на овие реагенси за „обојување“ обично бара нивната реакција со аналитот да се одвива „до крај“.
- ❖ **Висока осетливост** – границите на детекција во ултравиолетовата и видлива спектроскопија се од 10^{-4} до 10^{-5} mol/L, а може да се поместат и подолу.
- ❖ **Средна до висока селективност** – ако може да се најде бранова должина на која аналитот апсорбира сам, претходната обработка на пробата не е потребна, а со тоа се забрзува постапката. Во спротивно, со дополнителни мерења, со користење на адитивноста на апсорбанцата може да се пресмета застапеноста на секој од апсорбирачките видови.

- ❖ **Голема точност** – релативната грешка при определувањето на концентрацијата е во опсегот од 1 % до 5 %.
- ❖ **Едноставност** – спектрофотометрите се лесни и едноставни за употреба. Поради тоа, ваквите апарати многу лесно може да се автоматизираат.

Постапка при изведување на спектрофотометриска анализа

Прв чекор при спектрофотометриска анализа секако е подготовка на условите за работа за да се добијат точни и репродуцибилни резултати. Чекорите кои се потребни за да се постигне тоа се следните:

- ❖ **Избор на бранова должина** – За да се постигне максимална осетливост, мерењето на апсорбанцата се врши на максимумот на одбраната лента т.е. на брановата должина на која е најголема апсорбанцата бидејќи за таа бранова должина промената на апсорбанцата со концентрацијата е најголема.
- ❖ **Променливи кои влијаат на апсорбанцата** – Променливи кои можат да влијаат на апсорбанцата се: природата на растворувачот, рН на пробата, температурата, присуството на електролит(и) со висока концентрација и присуство на други супстанции кои апсорбираат на одбраната бранова должина.
- ❖ **Чистење и одржување на киветите** – Киветите се направени од материјал транспарентен за зрачењето од ултравиолетовиот и видлив дел од спектарот. За работа во ултравиолетовата област најчесто се користат кивети од кварц, а за спектрофотометрирање во видливиот дел од спектарот се користат стаклени и пластични кивети. Секогаш треба да се води сметка дека квалитетот на снимените спектри во голема мерка зависи од начинот на кој киветите се одржуваат и од нивната состојба (не треба да бидат изгребани, замастени – да не се фаќаат со рака на транспарентните страни).
- ❖ **Определување на зависноста помеѓу апсорбанцата и концентрацијата** – Составот на стандардите кои се користат во спектрофотометријата треба да бидат што е можно поблизу до составот на примерокот како во поглед на видот на супстанциите, така и според концентрацијата на определуваниот аналит. Многу ретко се практикува употреба на еден стандард, со кој се определува моларниот апсорпционен коефициент, а со него потоа и концентрацијата на аналитот во пробата. Уште помалку препорачано е да се засноваат резултатите од анализата на податоци од литературата. Се подготвува серија од стандардни раствори и се мери

апсорбанцата на секој од нив на соодветната бранова должина. Од добиените резултати, со линеарна регресија, се подготвува **калибрациона права**, која ја дава зависноста на апсорбанцата од концентрацијата и од која потоа, врз основа на измерената апсорбанца на пробата, се пресметува концентрацијата на анализот во испитуваниот примерок.

- ❖ **Метод на стандардни додатоци** – во најдобар случај, калибрационите стандардни раствори треба да бидат со приближно ист состав, не само во однос на концентрацијата на определуваниот анализ, но и во поглед на присуството и концентрацијата на останатите компоненти од пробата, кои ја чинат т.н. матрица на примерокот (sample matrix), со што ќе се минимизира влијанието на овие компоненти на мерената апсорбанца. За жал, кога се анализираат комплексни примероци, како што се почви, минерали, биолошки материјал и сл., подготвувањето на стандарди со ист или сличен состав е многу тешко или невозможно и во таков случај се применува методот на стандардни додатоци: се подготвува примерок без и со додадено точно определено количество од анализот (стандарден додаток) и од измерените вредности на апсорбанцата за примерокот и за примерокот со стандарден додаток може да се определи концентрацијата на анализот во пробата.

ФОТОМЕТРИСКО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ФОСФАТИ

Фосфатниот јон (PO_4^{3-}) со амониум молибдатот ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$) образува комплексна фосфомолибденска киселина која со редукциони средства, како што е метолот (4-(метиламино)фенол сулфат), во кисели раствори, се редуира во молибденско сино. При ова, може да пречи силициумовата киселина која дава слична реакција (тоа се избегнува со додавање на лимонска киселина).

Потребни реагенси:

- раствор од амониум молибдат, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$;
- раствор од натриум бисулфит, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$;
- раствор од метол.

Постапка:

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 25 cm^3 , а стандарден раствор од фосфат во тиквичка од 50 cm^3 . Од стандардниот раствор се приготвува серија раствори во тиквички од 25 cm^3 со следните концентрации: 3; 6; 9; 12 и $15\text{ }\mu\text{g/cm}^3$. Потоа во тиквичките во кои е ставено соодветното количество од стандардниот раствор, во тиквичката со пробата, како и во тиквичката во која се приготвува слепата проба се додава: $0,5\text{ cm}^3$ раствор од $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$; 1 cm^3 раствор од $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$; 1 cm^3 раствор од метол и се дополнуваат со деминерализирана вода до марката. Растворите се оставаат да стојат 30 min. и потоа се спектрофотометрираат на бранова должина од 600 nm.

Стандардната крива се конструира со нанесување на вредностите на апсорбанцата (на ординатата) за соодветните вредности на концентрацијата на растворите од стандардната серија (на апсцисата). Од дијаграмот, од вредноста на измерената апсорбанца, се отчитува концентрацијата на фосфати во пробата и се пресметува масата на фосфати (изразена во μg).

Прашања:

1. Напишете ги структурните формули на метол и на молибденско сино.
2. Дали фосфатите можат да се мерат спектрофотометриски без да се преведат во комплекс и зошто?
3. Дали во овој случај се користи слепа проба и како се подготвува?
4. Зошто растворите треба да стојат 30 min пред мерење?
5. Зошто спектрофотометриското мерење се прави на 600 nm и дали може да се врши мерење и на некоја друга бранова должина?

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ЖЕЛЕЗО СО КОЛОРИМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА СО СУЛФОСАЛИЦИЛНА КИСЕЛИНА

Потребни реагенси:

- концентрирана HCl;
- $0,1 \text{ mol/dm}^3$ сулфосалицилна киселина ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S}$).

Постапка:

Пробата се добива во висока чаша од 400 cm^3 , се разредува со 200 cm^3 деминерализирана вода, се додава 2 cm^3 концентрирана HCl и 5 cm^3 раствор од сулфосалицилна киселина ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S}$) со концентрација $0,1 \text{ mol/dm}^3$ и добро се премешува со стаклена прачка (растворот е розово обоен).

Во друга чаша од 400 cm^3 се става 200 cm^3 деминерализирана вода, се додава 2 cm^3 концентрирана HCl и 5 cm^3 $0,1 \text{ mol/dm}^3$ сулфосалицилна киселина ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S}$) и се премешува (растворот е безбоен). Овој раствор се титрира со стандарден раствор од железо кој се добива во тиквичка од 100 cm^3 (се дополнува до марката). Титрацијата се изведува со постојано мешање со стаклена прачка до изедначување на бојата со бојата на непознатиот раствор.

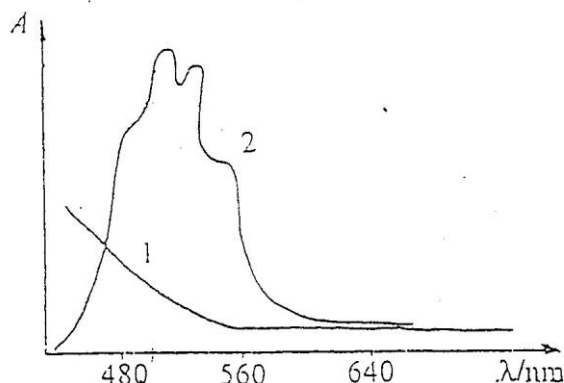
Масата на железо во пробата се пресметува од волуменот на стандардниот раствор од железо потрошен при титрацијата и неговата концентрација.

Прашања:

1. Дали двете чаши кои се користат треба да бидат со ист волумен и зошто?
2. Зошто растворот на железо кога ќе му се додаде HCl и $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S}$ добива розова боја?
Напишете ја равенката на реакцијата.
3. Што можете да кажете за точноста на методата.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИСКО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА Cr(VI) И Mn(VII) ВО СМЕСА

Спектрофотометриското определување на Cr(VI) и Mn(VII) во смеса е можно бидејќи во еден дел од нивниот спектар апсорпцијата на Mn(VII) (како перманганатен јон MnO_4^-) е максимална, а на Cr(VI) (како дихромат $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) е минимална и може да се занемари. На слика 1 се дадени апсорпционите спектри на $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (крива 1) и на MnO_4^- (крива 2).



слика 1

Потребни реагенси:

- стандарден раствор на Mn^{7+} ;
- стандарден раствор на Cr^{6+} ;

Постапка:

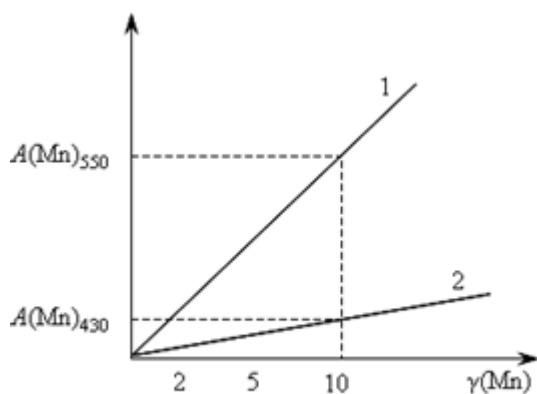
Стандардните раствори од $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ и MnO_4^- се добиваат во тиквички од 100 cm^3 , а пробата (смеса) во тиквичка од 50 cm^3 . Од стандардниот раствор на дихромат се приготвува серија раствори со концентрации пресметани како хром: 40; 80; 120; 160 и $200 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, а од стандардниот раствор на перманганат се приготвува серија со концентрации пресметани како манган: 2; 5; 10; 15 и $20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Серијата раствори на манган се спектрофотометрира на две бранови должини: 550 nm и 430 nm и од добиените вредности за апсорбанцата се конструираат две стандардни криви (кривите 1 и 2, слика 2). Серијата раствори на хром се спектрофотометрира на 430 nm и се конструира една стандардна крива (крива 3, слика 3).

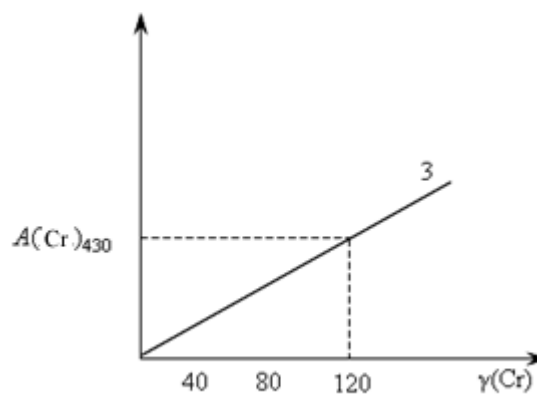
Добиената проба се спектрофотометрира на двете бранови должини: 550 и 430 nm. Од вредноста на апсорбанцата на пробата на 550 nm, од стандардната крива 1, директно се отчитува концентрацијата на манган во пробата (на таа бранова должина апсорбира само перманганатот, а не апсорбира дихроматот). Апсорбанцата на пробата измерена на бранова должина од 430 nm е збир од апсорбанците на присутните хром и манган (како дихромат и перманганат). Апсорбанцата на манган на оваа бранова должина се определува графички од стандардната крива 2. Тоа е апсорбанцата која одговара на онаа точка во која е

пресечена кривата 2: $A(\text{Mn})_{430}$ при отчитувањето на концентрацијата на манган од кривата 1: $A(\text{Mn})_{550}$.

Така, апсорбанцата на хромот на 430 nm се пресметува со одземање на графички најдената апсорбанца на манганот од измерената апсорбанца на пробата на оваа бранова должина: $A(\text{Cr})_{430} = A(\text{смеса})_{430} - A(\text{Mn})_{430}$. Вака определената апсорбанца на хром се користи за определување на концентрацијата на хром во пробата преку стандардната крива 3.



слика 2



слика 3

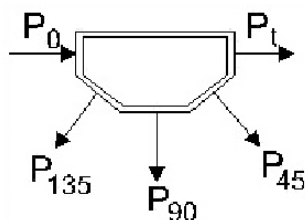
Прашања:

1. Дали при определување на хром и манган се користи слепа проба?
2. Зошто хром и манган може да се определуваат спектрофотометриски во смеса?
3. Кој од следниве елементи може да се комбинира со хром, кој со манган, а кој и со двата: бакар (II) сулфат, никел сулфат, кобалт хлорид. Растворите имаат сина, зелена и розова боја, соодветно. Дали со сигурност може да го тврдите тоа и како може да потврдите.

ТУРБИДИМЕТРИСКО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА КАЗЕИН ВО РАСТВОР

Кога светлосен сноп ќе се пропушти низ раствор, во зависност од природата на растворот дел од него ќе се апсорбира, а дел ќе помине низ него. Во спектрофотометријата овој ефект се користи за одредување на концентрацијата на растворот. Од друга страна пак ослабувањето на моќноста на светлината може да биде последица и на други ефекти како на пример расејувањето на светлината од нерастворените честички кои лебдат во растворот (како што би била ситуацијата кај суспензии, емулзии или колоидни раствори). И овде може да се покаже дека моќноста на „нерасејаната“ светлина, т.е. онаа која ќе помине низ растворот, е пропорционална на концентрацијата на честичките што лебдат, што се користи за одредување на нивната концентрација.

Кога се мери расеаната светлина може да се постапи на два начини (слика 1):



Слика 1. Турбидиметриско и нефелометриско мерење

Доколку се мери оној дел од упадната светлина (P_0) којшто поминал директно низ растворот (P_t) станува збор за турбидиметрија. Од односот на моќноста на упадната и пропуштената светлина индиректно се пресметува моќноста на расеаната светлина. Меѓутоа ако фотокелијата се постави под некој агол во однос на правецот на упадната светлина, тогаш се мери моќноста на расеаната светлина (на слика 1 под 135, 90 или 45°) која е директно пропорционална со концентрацијата на честичките во растворот. Тоа е принципот на нефелометријата. Кога концентрацијата на честичките во растворот е ниска, нефелометриските методи се секогаш поосетливи од турбидиметриските.

Во турбидиметријата се применува следната релација, која формално одговара на Ламбер-Беровиот закон:

$$S = \log \frac{P_0}{P_t} = k \cdot b \cdot c$$

каде S , аналогно на апсорбанца, се нарекува турбиданца, k е коефициент на заматеност, b е должина на патот кој светлината го поминува низ ќелијата, а c концентрација на честичките кои ја расејуваат светлината.

Во физичко-хемиска смисла млекото истовремено претставува вистински раствор (лактоза, минерали, албумини, глобулини), колоиден раствор (казеин) и емулзија/суспензија (масти). Казеинот може да се исталожи од млеко (претходно отстранета млечната маст), со спуштање на рН до 4,6 (изоелектрична точка), а по испарување на водата се добива бел прав. Ако добиениот прав се раствори во NaOH, се добива колоиден бел раствор сличен на млеко, кој е погоден за турбидиметриско мерење.

Потребни реагенси:

- казеин;
- 0,1 mol/dm³ раствор од NaOH.

Постапка:

1. **2 % раствор од казеин (основен раствор)** – 0,5 g од сув казеин (во кој претходно е одреден составот на вода) се мери во лабораториска чаша од 100 mL, се додава 20 mL од 0,1 mol/dm³ раствор од NaOH и се меша со стаклено стапче. Чашата се поклопува и се остава преку ноќ. Следниот ден содржината во чашата се промешува – при што целиот казеин поминува во млечно бел раствор. (Како алтернатива за побрзо растворање на казеинот, р-рот може благо да се загрева на температура од 40 °C до постојано мешање). Растворот внимателно се префрла во тиквичка од 25 mL, чашата се испира 3 пати со по 1 mL од р-р од NaOH и тиквичката се дополнува до марката и добро се промешува.

Напомена: 2 % раствор н казеин го подготвува лаборантот.

2. **раствори на казеин со концентрација 1 %, 0,5 %; 0,4 %; 0,3 %; 0,2 % и 0,1 %** – разредените раствори се добиваат со разредување на 2 % раствор со раствор од NaOH. Растворите понатаму се мерат без понатамошна обработка – се ставаат во кивета и спектрофотометриски им се определува апсорбанцата во однос на 0,1 mol/dm³ раствор од NaOH.

За растворите од 0,5 %; 0,4 %; 0,3 %; 0,2 % и 0,1 %, како и за непознатата проба да се измерат апсорбанците на 550, 600, 650 и 700 nm и турбиданцата.

Прашања:

1. Во кои единици се изразува турбиданцата?
2. Прикажете ја линеарноста на измерената апсорбанца на различни бранови должини (x – оска концентрација (% на казеин); y – оска апсорбанца). Во кој случај коефициентот на корелација е најголем?
3. Дали при мерење на апсорбанцата или на турбиданцата се постигнува подобра линеарност?
4. Кој начин на анализа сметате дека е подобар?

ПЛАМЕН-ФОТОМЕТРИСКА АНАЛИЗА

Принципот на пламен-фотометриската анализа се состои во следното: растворот што се испитува се диспергира во воздух или кислород и како аеросол се меша со гасот што гори (пропан-бутан). При горењето, во пламенот прво испарува водата и од систем течност-гас се добива систем цврста супстанца-гас. Цврстата супстанца на температурата на пламенот дисоцира на атоми и атомски групи. Атомите на алкалните и земноалкалните метали лесно се ексцитираат, т.е. за преминување на валентните електрони во повисоките енергетски нивоа доволна е енергијата на пламенот. При враќањето на валентните електрони во основната состојба тие емитираат зрачење со определена бранова должина карактеристична за дадениот елемент. Тоа зрачење преку систем на собирни леќи минува низ соодветно одбран филтер и паѓа на фотоелемент или фотоќелија, при што се добива фотоструја која се мери со галванометар и се отчитува отклон на инструментот. Зависноста на добиениот отклон на инструментот од концентрацијата на испитуваниот елемент е линеарна.

Потребни реагенси:

- стандарден раствор од калиум
- стандарден раствор од натриум

Постапка:

Пробите се добиваат во тиквички од 50 cm³, и тоа секој студент добива по две проби: една за поединечно определување на Na или K, и друга за определување на Na и K во смеса. Стандардните раствори за приготвување на стандардните серии се на работното место и нивната концентрација е 1 mg/cm³. Сериите раствори на Na и K се приготвуваат во тиквички од 50 cm³ со концентрации: 4; 8; 12; 16 и 20 µg/cm³. Тиквичките се дополнуваат со деминерализирана вода до марката и се промешуваат. Се вклучува пламен-фотометарот и со деминерализирана вода се дотерува нулата на инструментот, а потоа со најконцентрираниот р-р од соодветната серија се дотерува отклонот на стрелката на инструментот меѓу 70 и 80. Потоа се отчитуваат вредностите и за останатите р-ри од серијата и на крајот и пробите, при што за секој раствор се забележува отклонот на стрелката. На истиот начин се определува и другиот елемент, со тоа што претходно се менува филтерот.

Калибрационата крива се конструира на тој начин, што на апсцисата се нанесува концентрацијата на испитуваниот елемент, а на ординатата отчитаниот отклон на инструментот за соодветната концентрација. За секој елемент се конструира одделна

стандардна крива, од која се отчитува концентрацијата на соодветниот елемент и се пресметува неговата маса во пробата.

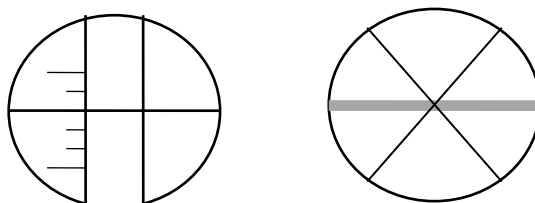
Прашања:

1. Дали концентрацијата на калиум и натриум може да се определи со пламен-фотометриска анализа и во случај кога тие се наоѓаат во смеса?
2. Дали при емисионите анализи се користи слепа проба и дали се користи слепа проба во конкретниов случај?
3. Дали при мерење на концентрацијата на калиум или при мерење на концентрацијата на натриум инструментот има поголема осетливост? Објасни.

РЕФРАКТОМЕТРИСКО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА АЛКОХОЛ ВО ВОДА

Рефрактометријата е метода на анализа базирана на способноста на супстанциите да ја прекршуваат светлината кога минува низ нив. Индексот на прекршување е карактеристика на секоја супстанца кој е во врска со нивниот состав и структура. Индексот на прекршување се определува со рефрактометри, од кои најчесто употребуван е Абеовиот рефрактометар, кој овозможува работа со мала количина течност. Тој се состои од две правоаголни призми, окулар со компензатор, огледало и скала на која се отчитува индексот на прекршување. Течноста за испитување се става меѓу призмите. Долната призма се осветлува преку огледалото, светлината минува низ неа, потоа низ течността и втората призма и доаѓа во цевката каде што се сместени две Амичи-призми, собирна леќа и окулар.

Испитуваниот раствор се нанесува во тенок слој меѓу призмите. Положбата на призмата во однос на окуларот се менува со помош на винт. Вредноста на индексот на прекршување се отчитува кога светлото и темното поле ќе се состават во центарот на видниот круг (види слика).



Потребни реагенси:

- 50 % алкохол.

Постапка

Пробите за анализа се добиваат во две суви епрувети. Од 50 % (волуменски) раствор на алкохол се приготвува серија раствори од алкохол: 10; 20; 30; 40 и 50 %. Се определува индексот на прекршување на приготвените раствори и на добиените проби. Од вредностите за индексот на прекршување на стандардните раствори се конструира стандардна крива (на апсциса-% на алкохол, на ордината-индекс на прекршување), од која се отчитуваат вредностите за содржината на алкохол во пробите.

Прашања:

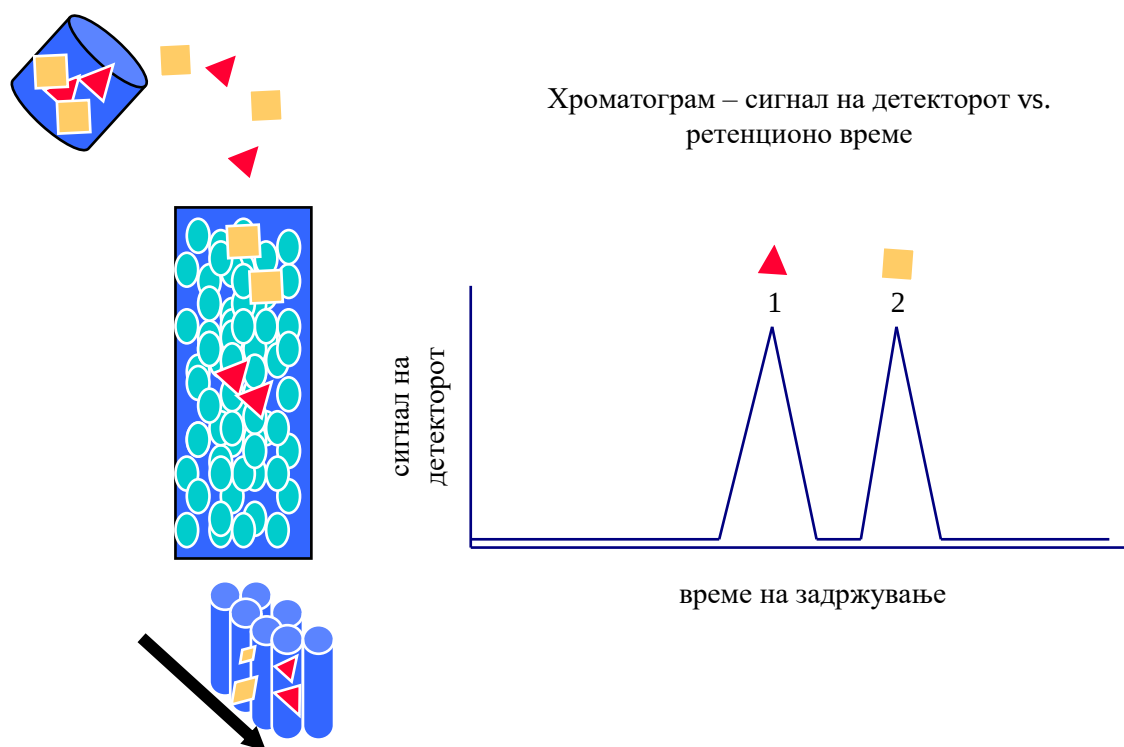
1. Зошто епруветите во кои се наоѓаат пробите за анализа, како и стандардните раствори треба да бидат суви?
2. Наведете уште неколку други супстанции чија концентрација може да се определи врз основа на индексот на прекршување.

ХРОМАТОГРАФСКИ МЕТОДИ

„Хроматографијата е физички метод на разделување, со кој компонентите кои треба да се разделат се распределуваат меѓу две фази, од кои едната е стационарна фаза со голема површина, а другата е флуид, кој циркулира низ стационарната фаза“.

Современата хроматографија опфаќа разнородна група од методи за разделување, кои се базираат на распределба на компонентите од примерокот меѓу неподвижната (стационарна) фаза и подвижната (мобилна) фаза.

Задачата на мобилната фаза е да ги „носи“ компонентите од примерокот низ стационарната фаза (тие се движат само додека се наоѓаат во мобилната фаза). Времето што секоја од компонентите го минува во секоја од фазите зависи од нејзините својства и токму разликите во својствата на компонентите го овозможуваат нивното разделување. Времето потребно за примерокот да отпатува од точката на негово инјектирање во колоната до крајот на колоната или детекторот се нарекува ретенционо време (слика 1).



Слика 1. Шематски приказ на процесот на сепарација и добивање на хроматограм

Во хроматографските методи спаѓаат повеќе различни методи кои може да се класифицираат на неколку начини зависно од:

- **природата на заемодејство** меѓу компонентите од примерокот и стационарната фаза – адсорпциона, распределителна, јоноизменувачка, димензионо-исклучувачка хроматографија;
- **агрегатната состојба** на мобилната и стационарната фаза – течно-цврста, гас-цврста, течно-течна, гас-течна, течна-гел хроматографија (Првиот збор означува агрегатнаа состојба на мобилната фаза, а вториот на стационарната, пр. течно-цврста значи дека мобилната фаза е течност, а стационарната фаза е цврста.) и
- **обликот на сместување** на стационарната фаза – колонска, тенкослојна, хартиена хроматографија.

Класификација базирана на **природата на заемодејството** меѓу компонентите од примерокот и стационарната фаза:

- Адсорпциона – се базира на адсорпција на цврста стационарна фаза и се користи за поларни и нејонски компоненти;
- Распределителна (или поделбена) – се базира на релативната растворливост на анализот во мобилната и стационарната фаза и може да биде:
 - нормално фазна – каде анализот е неполарен; а стационарната фаза е пополарна од мобилната;
 - реверзно фазна – каде анализот е поларен; а стационарната фаза е помалку поларна од мобилната;
- Јоноизменувачка – се користи за јони и може да биде:
 - ањонска – каде анализот е ањон, а стационарната фаза има позитивен полнеж (ањонски разменуваач);
 - катјонска – каде анализот е катјон, а стационарната фаза има негативен полнеж (катјонски разменуваач);
- Димензионо-исклучувачка – се користи за разделување на големи молекули-макромолекули (полимери, пептиди, протеини и др. биомолекули), а стационарната фаза е порозна матрица, гел.

Класификација базирана на **агрегатната состојба на мобилната фаза**:

- Гасна хроматографија – применлива за испарливи примероци со температури на вриење < 350 °C:
 - стационарна фаза: цврста → гас – цврста хроматографија;
 - стационарна фаза: течна → гас – течна хроматографија;
- Течна хроматографија – применлива за растворливи примероци
 - стационарна фаза: цврста → течно – цврста хроматографија;
 - стационарна фаза: течна → течно – течна хроматографија.

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА КОФЕИН ВО РАЗЛИЧНИ ПИЈАЛОЦИ СО ВИСОКОЕФИКАСНА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА (HPLC)

Концентрацијата на кофеин во примероци од кафе, чај, Coca-Cola и Pepsi може да се определи со примена на реверзно-фазна високоефикасна течна хроматографија (RP HPLC).

Вообичаениот метод за определување на кофеин е со екстракција на кофеинот во определен растворувач и негова квантификација со помош на ултравиолетова спектроскопија. Но, високоефикасната течна хроматографија е особено погодна за идентификација и квантификација на кофеинот бидејќи овозможува негова сепарација од останатите супстанции како кафена киселина, сахароза, засладувачи, конзерванси и други супстанции кои се наоѓаат во овие пијалоци. Како параметар за идентификација на кофеинот се користи ретенционото време (споредено со она на стандард од кофеин), а за негова квантификација се користи површината под пикот.

За идентификација и квантификација на кофеинот се користи реверзно фазна хроматографија со C18 колона. Како мобилна фаза се користи 50% метанол (50 : 50 – метанол : вода).

Стандардната серија на раствори се подготвува во тиквички од 10 mL во концентрациско подрачје од 0,5 до 10 ppm. Стандардите се раствораат во растворувач со ист состав како и мобилната фаза.

Пробата со волумен од 0,1 mL (кафе, чај, Coca-Cola, Pepsi) се става во тиквичка од 10 mL и се дополнува до марката со растворот од мобилна фаза. (Кога се работи со Coca-Cola и Pepsi пијалоките пред анализа треба да се дегазираат).

По 20 μ L од пробата и од стандардите се инјектираат во системот. Брзината на движење на мобилната фаза (протокот) е 1 mL/min, а начинот на елуирање е изократен.

Хроматограмите се следат на бранова должина од 276 nm.

Во дневникот се прикажува:

- табеларен приказ на резултатите од мерењето, ретенционо време, концентрации на стандарди, површини под пикот, калибрациона права
- приказ на UV спектар и хроматограм, за пробата и за стандардите;
- се изразува содржината на кофеин во испитуваните примероци.

ЕЛЕКТРОАНАЛИТИЧКИ МЕТОДИ

Класификација на електроаналитичките методи

Електроаналитичките методи за анализа можат да бидат базирани на:

- **неспецифични електродни процеси** – процеси карактеризирани со отсуство на електрохемиски реакции (пр. кондуктометрија)
- **специфични електродни процеси** – процеси кај кои се случуваат електрохемиски реакции и во зависност од тоа дали притоа тече струја или не, може понатаму да се поделат на:
 - потенциометрија, ако $I=0$
 - волтаперометрија, кулометрија, електрогравиметрија, ако $I \neq 0$

Во зависност од начинот на добивање на аналитичката информација, електроаналитичките методи можат да бидат:

- **методи за определување или директни методи** - каде директно од мерените електрични величини се добива аналитичката информација (концентрација, масена концентрација, удел на аналитот), и
- **методи за индикација** – каде мерењето на електричните величини служи само како погоден начин за следење на текот на титрациите (на пример потенциометриски или кондуктометриски титрации), додека вистинската мерена величина е волуменот на титрантот. Од неговата вредност натаму, според познатите релации се определува величината што е во врска со составот на растворот (концентрација, масена концентрација, удел на аналитот).

КОНДУКТОМЕТРИСКИ МЕТОДИ

Кондуктометриските методи се базирани на мерење на електричниот отпор (резистанцата) или спроводливоста (кондуктанцата) на спроводници од втор вид (раствори на електролити).

Кондуктометриските методи може да бидат:

- директни (кондуктометриски методи за определување) и
- методи за индикација (кондуктометриски титрации).

Кога се употребуваат како директни треба да се има на ум дека во спроводливоста на еден раствор удел имаат сите присутни јони и со мерење на отпорот или спроводливоста не може да се определи содржината само на еден вид јони, освен кога се работи за чист раствор од еден електролит или бинарна смеса.

Кондуктометриските титрации може да се ползуваат при **ацидиалкалиметриски, таложни и комплексометриски определувања**. Всушност, кондуктометриски титрации се можни **во сите случаи кога дел од јоните излегуваат од рамнотежниот систем**, на пример при образување на:

- **слабо дисоцирани соединенија**: слаби електролити (на пример водата при ациди-алкалиметриски титрации), или пак стабилни комплекси (при комплексометриски титрации) или
- **слабо растворливи соединенија**: талози (на пример на титрација на хлориди со сребро нитрат).

Примената на кондуктометриските титрации при редокс реакции е можна само во мал број случаи, главно заради тоа што подвижностите на јоните со различни валентни состојби, по правило, не се разликуваат значајно.

Кривите на кондуктометриските титрации се конструираат така што на ординатната оска се нанесува вредноста на кондуктивноста, κ , (почесто), или на кондуктанцата, $G=1/R$ (кондуктанцата е реципрочната вредност од отчитаната резистанца R), а на апсцисната оска вредноста на волуменот на титрантот додаван во еднакви порции за време на титрацијата (по $0,5\text{ cm}^3$). Кривите на титрација се линеарни и се состојат од титрациони гранки (прави со различен правец) од чиј пресек се определува завршната точка на титрација со спуштање на нормала на апсцисната оска.

КОНДУКТОМЕТРИСКИ ТИТРАЦИИ

Кондуктометриските титрации се базираат на следење на промената на спроводливоста во текот на хемиската реакција во која учествуваат јони при што некои од нив обрзуваат продукти (слабо дисоцирани или слабо растворливи), а на нивно место доаѓаат други јони со различна подвижност (кондуктивност) и при тоа се следи кондуктанцата (или резистанцата) која се менува во текот на титрацијата. Промената може да настане како последица на реакција на неутрализација, таложење или при комплексирање на јони.

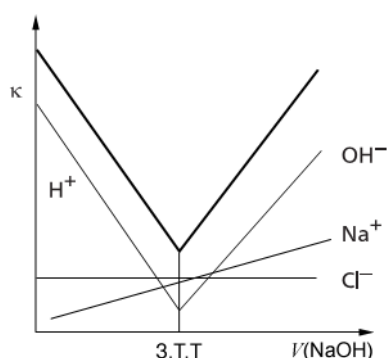
При кондуктометриски титрации треба да се води сметка за факторите кои влијаат на подвижноста, во смисла да се добие титрациона крива со што е можно поостар агол помеѓу титрационите гранки пред и по завршната точка. Тоа особено подразбира избор на соодветен растворувач и титрант, како и постојана температура во текот на титрацијата.

Титрација на силна киселина со силна база



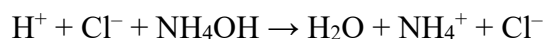
При титрација на HCl со NaOH, водородните јони кои имаат многу голема јонска спроводливост се заменуваат со јони на натриум кои имаат значително помала спроводливост. Како резултат на таквата измена доаѓа до намалување на спроводливоста.

Во завршната точка на титрација (З.Т.Т.) спроводливоста е најмала и потекнува само од настанатиот натриум хлорид. После постигнувањето на завршната точка учеството на настанатиот натриум хлорид во вкупната спроводливост е константно, а спроводливоста се зголемува со додавање на јоните на титрантот т.е. хидроксидни јони и натриумови јони.

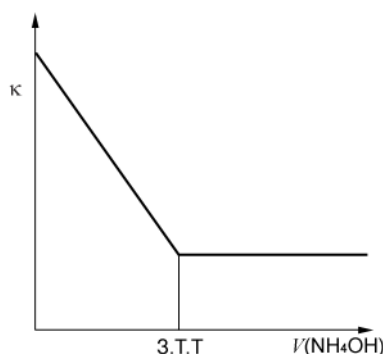


Како резултат на големата подвижност на хидроксидните јони спроводливоста нагло расте. Ова е типичен пример каде јасно се гледа промената на спроводливоста на растворот пред и по завршната точка, која може јасно да се отчита во пресекот на двете прави, кои се однесуваат на трендовите на промена на спроводливоста пред и по З.Т.Т. (слика 1).

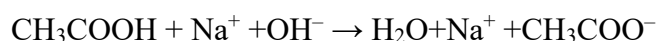
Слика 1. Титрација на силна киселина со силна база

Титрација на силна киселина со слаба база

При титрација на HCl со NH₄OH, титрационата крива опаѓа се до постигнување на З.Т.Т што одговара на замена на водородните јони со амониум јоните кои имаат значително помала јонска спроводливост. После постигнување на З.Т.Т. правецот на кривата е скоро хоризонтален, затоа што слабата база малку дисоцира, па не влијае значително на спроводливоста (слика 2).

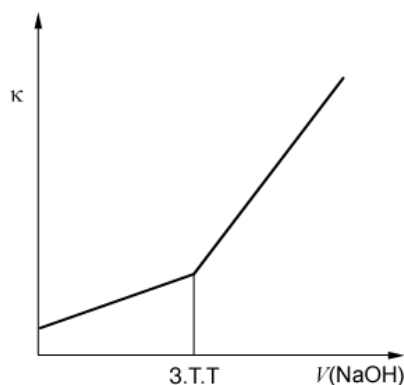


Слика 2. Титрација на силна киселина со слаба база

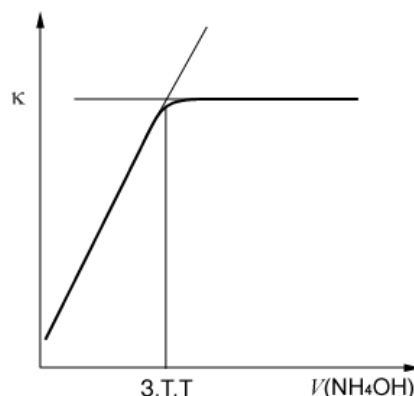
Титрација на слаба киселина со силна база

При реакција на CH₃COOH со NaOH уште на самиот почеток спроводливоста е мала заради слабата дисоцијација на оцетната киселина. До З.Т.Т. спроводливоста постепено расте заради тоа што како продукт на хемиската реакција се добива CH₃COONa, електролит кој е појак од оцетната киселина.

После З.Т.Т. спроводливоста нагло расте како резултат на додавање на силна база т.е. зголемување на концентрацијата на хидроксидни јони. Наклонот на кривата зависи од концентрацијата на титрантот, а аголот помеѓу двете криви е до толку помал колку што е поголема концентрацијата на титрантот. На тој начин прецизно може да се определи З.Т.Т. (слика 3). Мала закривеност на правата во близина на З.Т.Т. се појавува заради хидролиза на настанатиот натриум ацетат.

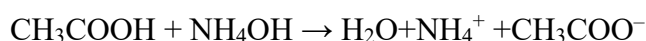


Слика 3. Титрација на слаба киселина со силна база



Слика 4. Титрација на слаба киселина со слаба база

Титрација на слаба киселина со слаба база

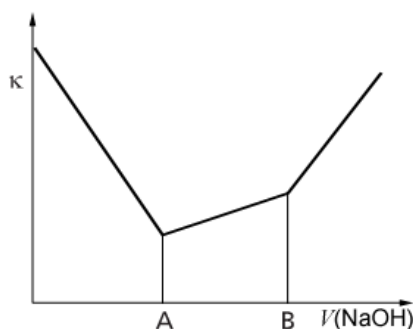


При реакција на CH_3COOH со NH_4OH од почетокот на титрацијата се до постигнување на 3.Т.Т., спроводливоста расте како што настанува сол амониум ацетат кој дисоцира во одредена мера. После постигнување на 3.Т.Т. спроводливоста практично не се менува, бидејќи дисоцијацијата на амониум хидроксидот е потисната од дисоцијацијата на натриум ацетатот. Закривеноста на кривата во близина на 3.Т.Т. е последица на хидролиза на настанатата сол, па 3.Т.Т. се одредува со повлекување на правите добиени од точките пред и по 3.Т.Т. (слика 4).

Титрација на смеса од силна и слаба киселина со силна база



При титрација на смеса од HCl и CH_3COOH со NaOH прво настанува неутрализација на силната киселина (слика 5, точка А), а потоа на слабата киселина (слика 5, точка В). До точката А спроводливоста опаѓа заради намалување на концентрацијата на брзите водородни јони од силната киселина. После 3.Т.Т. (А) почнува дисоцијацијата на слабата киселина и со титрација настанува електролит натриум ацетат, кој е посилен електролит од самата оцетна киселина, па спроводливоста благо расте. После постигнување на 3.Т.Т. и на другата киселина (В), спроводливоста нагло расте и потекнува од присуството на хидроксидните јони од вишокот на титрант, кои имаат голема јонска спроводливост.

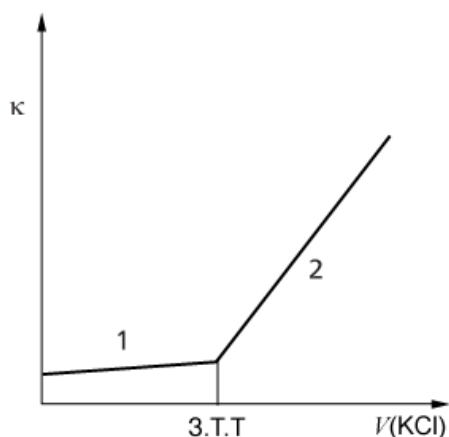
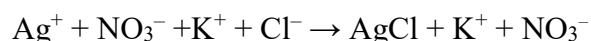


Слика 5. Титрација на смеса од силна и слаба киселина со силна база

Кондуктометриски може да се титрираат и две слаби киселини во смеса, но само ако нивните pK_a вредности се разликуваат за најмалку една единица.

Таложни и комплексометриски кондуктометриски титрации

Покрај реакции на неутрализација, кондуктометриски титрации може да се користат и во случај кога меѓу титрантот и анализот се случува реакција на таложење (слика 6). При титрација на $AgNO_3$ со KCl (или обратно), на првиот дел од кривата (1), која настанува како резултат на замена на јоните на сребро со калиумовите јони, не се забележува значителна промена на спроводливоста, бидејќи калиумовите јони имаат само малку поголема спроводливост од јоните на сребро.



После постигнување на З.Т.Т. спроводливоста значително се зголемува заради присуството на калиумови и хлоридни јони кои потекнуваат од вишокот на титрант и кои придонесуваат за значителен пораст на спроводливоста.

Често наместо калиум хлорид, како титрант се корист литиум хлорид, заради поголемата разлика во јонската спроводливост на јоните на литиум и сребро што доведува до помал агол меѓу правите 1 и 2 и подобро дефинирање на З.Т.Т.

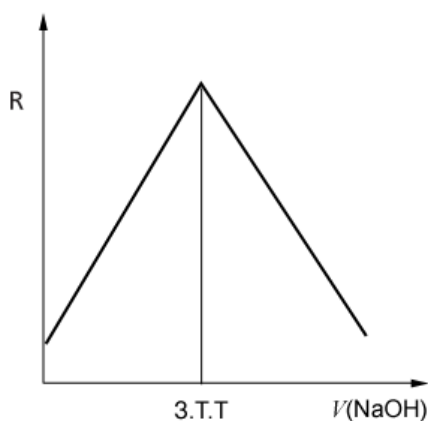
Слика 6. Титрација на сребро нитрат со калиум хлорид

Комплексометриските титрации може да се следат кондуктометриски само ако се образуваат стабилни комплекси, кои многу слабо дисоцираат.

Со овој метод не може да се следат оксидо-редукциски реакции, бидејќи промената на валентната состојба не влијае значително врз промена на спроводливоста на јоните.

Кондуктометриските титрации се користат во оној случај кога не може да се користи индикатор или со цел да се избегне употреба на индикатор со што би се отстранила субјективната грешка. Исто така се користат и при титрација на многу разредени раствори.

Ако на мерниот инструмент се следи промена на отпорот (резистанцата) на растворот, титрационата крива има обратен тек од оној кога се следи спроводливоста (кондуктанцата). Така титрационата крива во случај на титрација на силна киселина со силна база ќе има изглед како на слика 7, бидејќи отпорот и спроводливоста се обратно пропорционални.



Слика 7. Титрација на силна киселина со силна база

КОНДУКТОМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА НА СУЛФУРНА КИСЕЛИНА СО НАТРИУМОВА БАЗА

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 100 cm^3 . Од неа се пипетираат 20 cm^3 во чаша од 250 cm^3 и се разблажува со деминерализирана вода до волумен од приближно 100 cm^3 . Во чашата се става тefлонска мешалка и се поставува на магнетна мешалка. Во вака приготвениот раствор за анализа се поставува кондуктометриската ќелија и се приклучува на кондуктометарот. Пробата се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува почетната резистанца (отпор) на растворот. Потоа се титрира со додавање на по $0,5\text{ cm}^3$ стандарден раствор од NaOH. По секое додавање на базата пробата се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува резистанцата на растворот.

Вредностите за потрошените cm^3 база, соодветните вредности отчитани за резистанцата (R) и пресметаните вредности за кондуктанцата ($1/R$) се прикажуваат табеларно. Графички се претставува зависноста на кондуктанцата од волуменот на потрошениот стандарден раствор од NaOH. Со линеарна регресија се определуваат равенките на двете прави (пред и по З.Т.Т.) и потоа се пресметува математички точката на пресекот на двете прави. Пресекот на двете прави е всушност завршната точка на титрацијата. Масата на сулфурна киселина во пробата се пресметува според следниот израз:

$$m(\text{H}_2\text{SO}_4)/20\text{ cm}^3 = 1/2 \cdot V(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{H}_2\text{SO}_4)$$

Во дневникот се прикажува:

- табеларен и графички приказ на резултатите од мерењето;
- резултат пресметан користејќи графичка и аналитичка метода (регресиона анализа) за определување на завршната точка на титрацијата.

КОНДУКТОМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА НА ОЦЕТНА КИСЕЛИНА СО НАТРИУМОВА БАЗА

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 100 cm^3 . Од неа се пипетираат 20 cm^3 во чаша од 250 cm^3 и се разблажува со деминерализирана вода до волумен од приближно 100 cm^3 . Во чашата се става тefлонска мешалка и се поставува на магнетна мешалка. Во вака приготвениот раствор за анализа се поставува кондуктометриската келија и се приклучува на кондуктометарот. Пробата се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува почетната резистанца (отпор) на растворот. Потоа се титрира со додавање на по $0,5\text{ cm}^3$ стандарден раствор од NaOH. По секое додавање на базата пробата се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува резистанцата на растворот.

Вредностите за потрошените cm^3 база, соодветните вредности отчитани за резистанцата (R) и пресметаните вредности за кондуктанцата ($1/R$) се прикажуваат табеларно. Графички се претставува зависноста на кондуктанцата од волуменот на потрошениот стандарден раствор од NaOH. Со линеарна регресија се определуваат равенките на двете прави (пред и по З.Т.Т.) и потоа се пресметува математички точката на пресекот на двете прави. Пресекот на двете прави е всушност завршната точка на титрацијата. Масата на оцетна киселина во пробата се пресметува според следниот израз:

$$m(\text{CH}_3\text{COOH})/20\text{ cm}^3 = V(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{CH}_3\text{COOH})$$

Во дневникот се прикажува:

- табеларен и графички приказ на резултатите од мерењето;
- резултат пресметан користејќи графичка и аналитичка метода (регресиона анализа) за определување на завршната точка на титрацијата.

КОНДУКТОМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА НА СМЕША ОД СУЛФУРНА И ОЦЕТНА КИСЕЛИНА

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 100 cm^3 и од неа се пипетираат 20 cm^3 во чаша од 250 cm^3 и се разблажува со деминерализирана вода до приближен волумен од 100 cm^3 . Во чашата се става тефлонска мешалка и се поставува на магнетна мешалка. Во растворот се потопува кондуктометриската келија, која се приклучува на кондуктометарот. Пробата се промешува, се исклучува мешалката и се отчитува резистанцата или кондуктанцата на растворот. Потоа се титрира со додавање на по $0,5\text{ cm}^3$ стандарден раствор од NaOH. По секое додавање на база растворот се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува резистанцата или кондуктанцата.

Во почетокот се титрира сулфурната киселина, што се гледа од вредностите на кондуктанцата (κ) кои во почетокот значително опаѓаат (резистанцата значително се зголемува) (зошто?), а потоа се добиваат низа блиски вредности. Во овој дел се титрира оцетната киселина, а потоа доаѓа до повторно растење на кондуктанцата т.е. опаѓање на резистанцата (зошто?).

Вредностите за потрошените cm^3 база и соодветните вредности отчитани за кондуктанцата (κ)/резистанцата R се прикажуваат табеларно. Графички се претставува зависноста на кондуктанцата од волуменот на потрошениот стандарден раствор од NaOH. Со линеарна регресија се определуваат равенките на трите прави и потоа се пресметуваат математички двете пресечни точки (точка 1-пресека на права 1 и 2, точка 2-пресек на права 2 и 3). Точка 1 (V_1) се однесува на потрошената база за титрација на сулфурната киселина, додека волуменот на база потрошен за титрација на оцетната киселина се добива со одземање на вредноста добиена од втората завршна точка 2 (V_2) и онаа од првата завршна точка 1 (V_1). Масата на сулфурна и оцетна киселина се пресметуваат според следните изрази (со V_1 и V_2 е означен волуменот на NaOH во двете завршни точки):

$$m(\text{H}_2\text{SO}_4)/20\text{ cm}^3 = 1/2 \cdot V_1(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{H}_2\text{SO}_4)$$

$$m(\text{CH}_3\text{COOH})/20\text{ cm}^3 = (V_2 - V_1)(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{CH}_3\text{COOH})$$

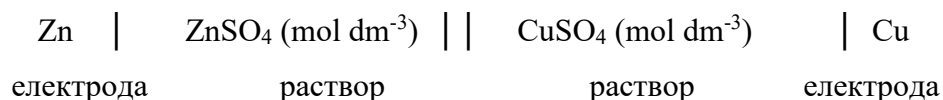
Во дневникот се прикажува:

- табеларен и графички приказ на резултатите од мерењето;
- резултат пресметан користејќи графичка и аналитичка метода (регресиона анализа) за определување на завршните точки на титрацијата.

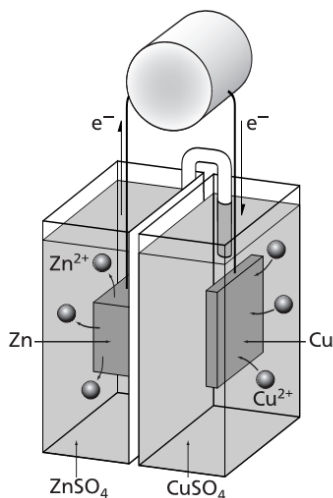
ПОТЕНЦИОМЕТРИСКИ МЕТОДИ

Потенциометријата е квантитативна електрохемиска метода која се базира на мерење на електромоторната сила (ЕМС) на галванскиот елемент, каде под ЕМС се подразбира напон на елементот под услов да во електричното коло во кое се наоѓа нема проток на струја ($I = 0$). Иако електродите на галванските елементи не се поврзани со надворешен извор на струја, на нив спонтано се случуваат редокс процеси како последица на кои во струјното коло протекува струја.

Пример за галвански елемент е Даниеловиот елемент (слика 1) којшто се прикажува на следниот начин:



Една вертикална црта претставува граница на фазите електрода/раствор, а две вертикални црти две граници на двата раствори (поврзани преку електролитен мост).



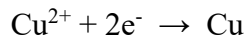
Слика 1. Даниелов елемент

Даниеловиот елемент се состои од два полуелементи разделени со полупропуслива мембрана или електролитен мост. Во едниот полуелемент се наоѓа бакарна плоча вронета во р-р на бакар(II) сулфат, а во другиот плоча на цинк вронета во р-р на цинк сулфат. Цинкот бидејќи е повеќе електропозитивен лесно испушта валентни електрони и преминува во јонска состојба, т.е. се оксидира:



Така доаѓа до хемиска поларизација на системот Zn/ZnSO_4 при што плочата од цинк ќе се наелектризира негативно, а слојот на растворот кој се наоѓа во непосредна близина на електродата ќе се наелектризира позитивно.

На бакарната електрода доаѓа до редукција:



заради што електродата се електризира позитивно.

Ако електродите од цинк и бакар се поврзат на милиамперметар, ќе дојде до поместување на стрелката на инструментот, што значи дека во ќелијата протекла струја како последица на редокс процесот. Ако не се одведува струја од системот, ќе се појави т.н. рамнотежен напон т.е. електромоторна сила, која претставува разлика на потенцијалот помеѓу двете електроди:

$$\text{EMC} = E_1 - E_2$$

Според IUPAC, EMC на галванскиот елемент се прикажува како разлика на потенцијалот на десната електрода т.е. на електродата на која се врши редукција-**катодата** и потенцијалот на левата електрода т.е. електродата на која се врши оксидација-**анодата**.

$$\text{EMC} = E_K - E_A$$

Потенцијалот на електродата настанува како последица на различната наелектризираност на металот и растворот, т.е. на границата на фазата метал/раствор. Се нарекува рамнотежен електроден потенцијал, а зависи од природата на металот и концентрацијата на јоните на металот во растворот.

Основна равенка во теоријата за создавање на електроден потенцијал е Нернстовата равенка. Таа ја дава зависноста на електрохемискиот потенцијал од концентрацијата на јоните на растворот:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{\text{red}}}{a_{\text{ox}}}$$

каде:

E^0 – стандарден електроден потенцијал;

R – универзална гасна константа;

T – температура (K);

z – број на разменети електрони кои се јавуваат во полуреакцијата

F – Фарадеева константа

a_{ox} , a_{red} – активитети на реактантот и продуктот на полуреакцијата.

Првата величина во равенката: E^0 е стандарден потенцијал, т.е. рамнотежен потенцијал при $a_{\text{red}}/a_{\text{ox}} = 1$ и зависи од природата на системот. Стандардниот потенцијал на

сите електроди е дефиниран во однос на стандардниот потенцијал на стандардната водородна електрода, за која се смета дека стандардниот електроден потенцијал е еднаков на нула ($E^0 = 0,0000 \text{ V}$) на сите температури, при активитет на водородните јони еднаков на единица и притисок на гасовит водород од 1 atm.

Со замена на бројните вредности за константите и преведување во декаден логаритам, Нернстовата равенка може да се запише во следниот облик:

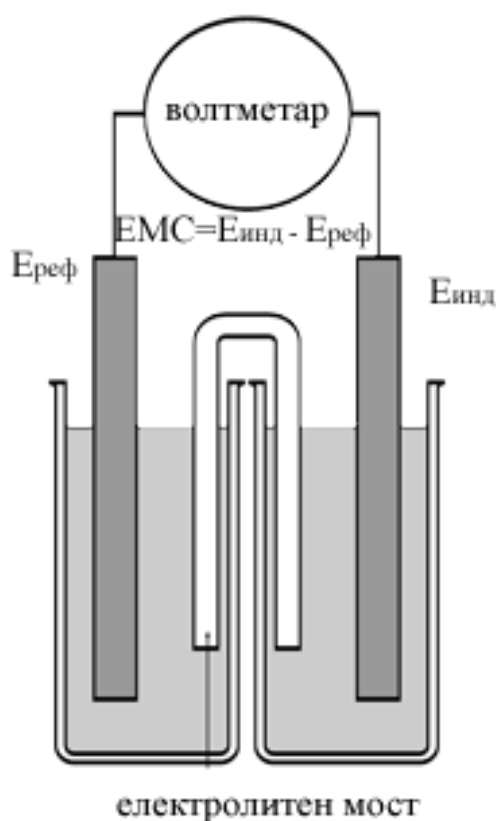
$$E = E^0 + \frac{0,0591}{z} \log \frac{a_{red}}{a_{ox}}$$

Во изразот за потенцијал се користи активитетот на јоните, кој може да се прикаже со следниот израз: $a = \gamma \cdot c$, каде γ е коефициентот на активитет, кој се пресметува од јонската сила на р-рот. Во случај на разредени раствори активитетот може да се изедначи со концентрацијата и тогаш се добива повообичаениот облик на Нернстовата равенка:

$$E = E^0 + \frac{0,0591}{z} \log \frac{c_{red}}{c_{ox}}$$

Активитетот т.е. концентрацијата на анализираните јони во раствор се пресметува од измерената вредност на електродниот потенцијал. За таа цел индикаторската електрода, чиј потенцијал зависи од активитетот на анализираните јони, се поврзува со референтна (стандардна) електрода чиј потенцијал е познат и константен и не зависи од активитетот на анализираните јони (слика 2). Потенцијалот на индикаторската електрода ($E_{инд}$) се пресметува од изразот за електромоторната сила, при што ЕМС се мери експериментално, а потенцијалот на референтната електрода е познат:

$$E_{МС} = E_{инд} - E_{реф}$$



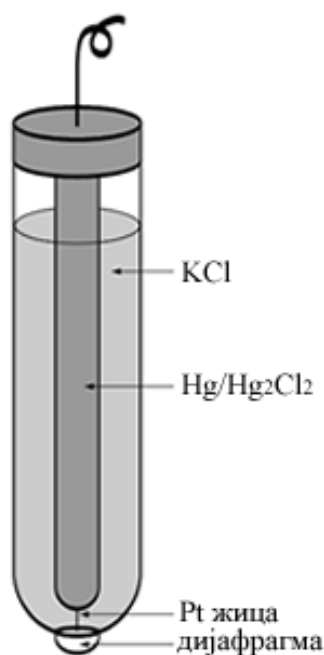
Слика 2. Потенциометриски ситем од индикаторска и референтна електрода

Значи, при потенциометриските мерења се користат два вида на електроди и тоа референтни и индикаторски електроди.

Идеалните референтни електроди имаат познат потенцијал којшто е константен и потполно независен од составот на анализот т.е. растворот којшто се испитува. Овие електроди пожелно е да бидат со едноставна конструкција и при поминување на струја со мала јачина мора да го задржуваат потенцијалот константен.

Стандардната водородна електрода е универзална референтна електрода во однос на која се определуваат потенцијалите на останатите електроди. Но, таа е непрактична за употреба бидејќи нејзиното приготвување и одржување може да предизвика потешкотии и затоа таа најчесто се заменува со други референтни електроди.

Како референтна електрода најчесто се користи каломелова електрода. За разлика од индикаторските електроди, кои се претставени со метал (M) вронет во раствор на свои јони (M^{n+}), референтните електроди се состојат од метал (M), негови тешко растворливи соли (MA) и електролит кој има заеднички анјон со тешко растворливите соли (A^{n-}). Така референтните електроди се прикажуваат на следниот начин:



Слика 3. Каломелова електрода

Потенцијалот на оваа електрода е одреден со концентрацијата т.е. активитетот на анјоните на електролитот ($a_{A^{n-}}$). Концентрацијата на електролитот е релативно висока, така што при тие услови концентрацијата на јоните на тешко растворливата сол е мала и константна (дефинирана со производот на растворливост). Затоа овие електроди имаат константен потенцијал и може да се користат како референтни.

Каломеловата електрода содржи жива, тешко растворив каломел (жива(I) хлорид) и калиум хлорид (слика 3). Платина се користи како проводник за контакт на живата со внатрешниот спроводник. Каломеловата електрода се прикажува на следниот начин:



Идеалните индикаторски електроди пак, даваат брз и репродуцибилен одговор на промената на концентрацијата на јоните од анализот. Постојат два вида индикаторски електроди: метални и мембрански или јоноселективни електроди.

ПОТЕНЦИОМЕТРИСКИ МЕРЕЊА

Потенциометриските мерења овозможуваат да се добие аналитичка функција од типот:

$$c = f[\exp(E/V)]_{I=0}$$

Методите базирани на потенциометриски мерења може да бидат:

- директни методи или методи за определување и
- методи за индикација или методи за определување на завршни точки на титрација.

Во методите за определување спаѓаат различни методи за определување на рН, како и на концентрациите на различни други јони (или супстанции што на соодветен начин може да доведат до образување на јони на кои индикаторската електрода е осетлива) со помош на јоноселективни електроди. Во втората група пак спаѓаат различните видови на потенциометриски титрации.

ДИРЕКТНА ПОТЕНЦИОМЕТРИЈА

Под директна потенциометрија се подразбираат сите оние потенциометриски методи кај кои бараната концентрација се определува директно од измерената вредност на електромоторната сила, т.е. сите потенциометриски методи за определување.

Макар што, на прв поглед, овие методи изгледаат едноставни и мошне погодни, тие во себе кријат определени компликации и несигурности за кои треба да се води сметка. Најчесто користено мерење од овој вид е определувањето на рН.

ПОТЕНЦИОМЕТРИСКИ ТИТРАЦИИ

Другиот тип примени се оние во кои потенциометриските мерења служат како основа за индикација на завршна точка на титрација при различни реакции: ацидиалкалиметриски, таложни, редокс реакции, титрации во безводна средина и сл.

Потенциометриските титрации се квантитативни електрохемиски методи за одредување на концентрацијата на различни видови аналити во раствор. Завршната точка на титрација се определува врз основа на промена на потенцијалот на погодна индикаторска електрода чиј потенцијал зависи од концентрацијата т.е. активитетот на

некој учесник во реакцијата. Потенциометриските титрации своето име го добиле по тоа што потенцијалот на електродата претставува индикатор дека е постигната завршната точка. Заради тоа и електродата која има улога на индикатор се вика индикаторска електрода, затоа што си го менува својот потенцијал во зависност од активитетот на различните јони во растворот.

Оваа метода дава поточни резултати од волуметрија (со визуелна индикација на завршната точка на титрација), а може да се користи и при титрација на многу разредени раствори, заматени или обоени, или во случај кога не постои соодветен индикатор.

Во основа на потенциометриските титрации лежат два процеси зависни еден од друг. Првиот процес е хемиски, т.е. познатата хемиска реакција која настанува помеѓу аналитот од испитуваниот раствор и титрантот. Другиот процес е физичко – хемиски и се однесува на промената на потенцијалот како резултат на промената на концентрацијата на некој од учесниците во реакцијата која се случува при титрацијата.

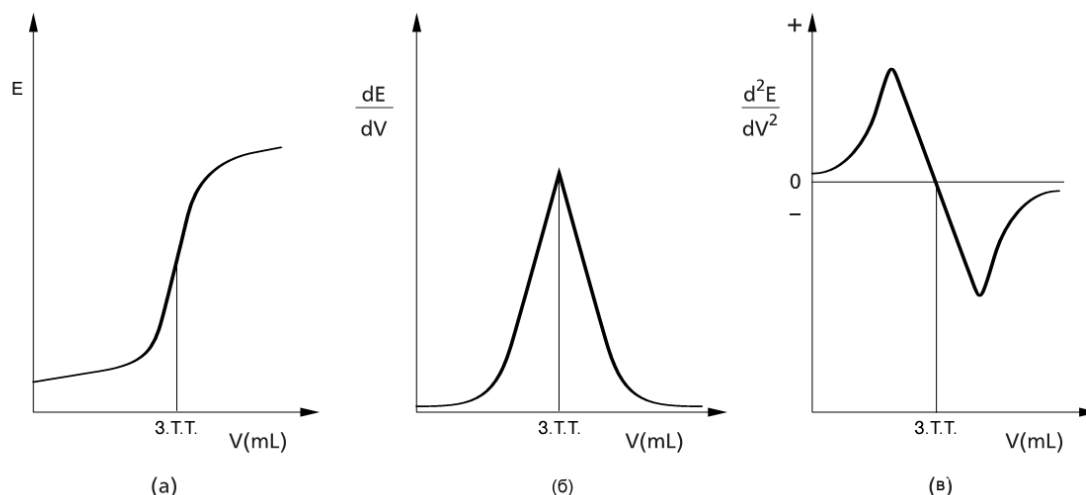
Титрацијата се изведува со постојано мерење на потенцијалот на погодна индикаторска електрода во текот на титрацијата со употреба на инструмент – потенциометар, кој во близина на завршната точка покажува најголема промена на мерениот потенцијал.

На растворот во одредени порции му се додава титрант со позната концентрација и се мери потенцијалот на индикаторската електрода по секоја додадена порција-волумен титрант и се црта крива на зависноста на потенцијалот од волуменот на титрант $E = f(V)$.

Пред и по еквивалентната точка, промените на потенцијалот при додавање на постојано еднакви порции од титрантот се мали во споредба со промената во еквивалентната точка, а титрационата крива (во координати $E-V$, каде V е волуменот на додадениот титрант) го има карактеристичниот S-облик (или, како што уште се вика, сигмоидален облик) (слика 4а) .

Завршната точка на титрацијата понекогаш позгодно може да се определи ако на дијаграмот се нанесува не E како функција од V (слика 4а), туку $\Delta E/\Delta V$ како функција од V (слика 4б), па дури и $\Delta^2 E/\Delta V^2$ како функција од V (слика 4в). Не треба посебно да се нагласува дека не смее да се зборува, на пример, за $\Delta mV/\Delta mL$ и слично!

Макар што денес постојат автоматски титратори кај кои, по електронски пат, може да се врши диференцирање и кои, заради тоа, може да ја регистрираат титрационата крива на било кој од наброените начини, сепак најчесто употребуваниот облик на титрациона крива е оној кај кој на ординатната оска се нанесува потенцијалот на индикаторската електрода (или електромоторната сила на употребениот елемент), а на апсцисната оска се нанесува волуменот на титрантот.

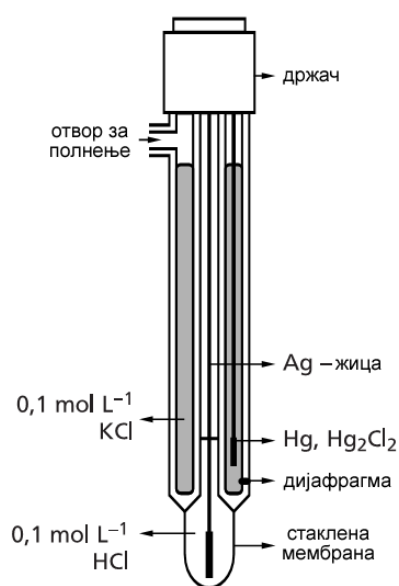


Слика 4. Потенциометриски криви на титрација: а) E како функција V , б) $\Delta E/\Delta V$ како функција од V , в) $\Delta^2 E/\Delta V^2$ како функција од V

РЕАКЦИИ НА НЕУТРАЛИЗАЦИЈА

Потенциометриските титрации при реакции на неутрализација (рН-метричка титрација) се базираат на следење на промена на потенцијалот на електродата осетлива на промена на рН на растворот во текот на титрацијата, односно на мерење на ЕМС на парот од индикаторска и референтна електрода вронети во раствор кој се титрира.

Како индикаторска електрода се користи електрода која е осетлива на промена на рН т.е. на промена на концентрацијата на H^+ јони (наједноставна за работа е стаклената електрода), додека како референтна се користи каломелова електрода. Промената на рН на титрираниот раствор или електромоторната сила на галванскиот елемент во текот на титрацијата се следи со милиамперметар или со рН-метар.

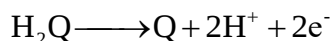
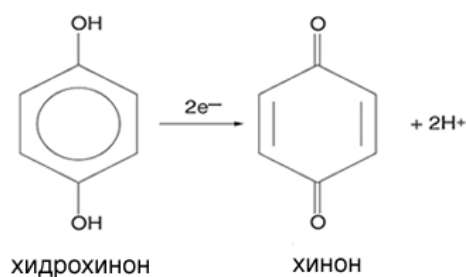


Потенциометриски може да се титрираат и смеси од киселини или бази, но само ако постои голема разлика помеѓу нивните протолитички константи.

Во потенциометриските титрации за определување на рН најчесто се користи комбинирана електрода составена од стаклена и каломелова електрода (слика 5).

Слика 5. Комбинирана електрода за мерење на рН

При реакциите на неутрализација исто така како индикаторска електрода често се користи хинхидронска електрода, Која е пример за редокс електрода. Таа се состои од платина вронета во заситен раствор на хинхидрон, кој претставува еквимоларна смеса од хинон и хидрохинон. Во растворот се случува реверзибилна реакција на помеѓу хинонот (Q) и неговиот редуциран облик (H₂Q):



Хинхидронската електрода е погодна за употреба само во силно кисели раствори т.е. до pH 8,0. Тоа е заради тоа што хинхидронот е слаба киселина, па во алкални раствори значително се зголемува протолизата, односно доаѓа до промена на односот на концентрацијата на хинон и хидрохинон, а тоа предизвикува отстапување од линеарната зависност:

$$E_{\text{хин}} = f(\text{pH})$$

Напиши ја Нернстовата равенка која ја дава зависноста на потенцијалот на хинхидронската електрода од pH!

рН-МЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА НА ОЦЕТНА КИСЕЛИНА

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 100 cm^3 . Од неа се пипетираат 20 cm^3 во чаша од 250 cm^3 и се разблажува со деминерализирана вода до приближен волумен од 100 cm^3 . Во чашата се става тefлонска мешалка и се поставува на магнетна мешалка до рН-метарот. Во растворот се вронува стаклената електрода, која во овој случај е комбинирана заедно со каломеловата електрода. Во случај кога немаме комбинирана стаклена-каломелова електрода, во растворот се потопува стаклена електрода и електролитен мост од KCl за воспоставување на контакт со каломеловата електрода. Растворот добро се промешува и се отчитува вредноста пред почетокот на титрацијата (рН-метарот претходно треба да се калибрира!). Се изведуваат **две титрации**:

1. Со додавање на по 1 cm^3 од станд. р-р од NaOH , растворот се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува рН-вредноста. Откако ќе се забележи поголем скок на рН, титрацијата се продолжува со додавање на уште 2-3 cm^3 од базата (во порции од по 1 cm^3).
2. Титрацијата се повторува со нови 20 cm^3 од пробата, при што во близина на завршната точка на титрацијата, т.е. онаму каде што беше забележан најголем скок на рН при првата титрација, се титрира со по $0,1\text{ cm}^3$ од базата.

Во табела се прикажуваат вредностите за волуменот од потрошената база (cm^3), соодветните вредности за рН и диференцијалните вредности $\Delta\text{pH}/\Delta V$. Графички се претставува диференцијалната крива т.е. зависноста на $\Delta\text{pH}/\Delta V$ од волуменот на базата и од графикот се отчитува завршната точка на титрацијата (при најголемиот скок на рН). Масата на оцетна киселина во пробата се пресметува според следниот израз:

$$m(\text{CH}_3\text{COOH})/20\text{ cm}^3 = V(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{CH}_3\text{COOH})$$

Во дневникот се прикажува:

- табеларен и графички приказ на резултатите од мерењето;
- пресметка и конечен резултат.

ПОТЕНЦИОМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА НА СУЛФУРНА КИСЕЛИНА СО НАТРИУМОВА БАЗА

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 100 cm^3 и се дополнува со дестилирана вода до марката. Од пробата се пипетираат 20 cm^3 во чаша од 250 cm^3 и се разблажува со деминерализирана вода до приближен волумен од 100 cm^3 . Во чашата се става тефлонска мешалка и се поставува на магнетна мешалка. Потоа во растворот се потопуваат платинска електрода како индикаторска и каломелова електрода (преку електролитен мост од KCl) како стандардна. Во чашата се додава малку хинхидрон (на врвот од лажичето), пробата се промешува и се отчитува потенцијалот (изразен во mV), пред почетокот на титрацијата.

Се изведуваат **две титрации**:

1. Со додавање на волумени од 1 cm^3 станд. р-р од NaOH. При секое додавање на база се следат вредностите за потенцијалот - се отчитуваат на потенциометарот. Кога ќе се забележи значителен скок на потенцијалот, титрацијата се продолжува со додавање на уште 2-3 cm^3 база (во порции од по 1 cm^3).
2. Се земаат нови 20 cm^3 од пробата, која се подготвува на истиот начин и се титрира така што во близината на еквивалентната, т.е. завршната точка (каде беше забележана најголема промена на потенцијалот) се додаваат помали порции база ($0,1\text{ cm}^3$) и се мери потенцијалот при секое додавање.

Во табела се прикажуваат вредностите за волуменот од потрошената база (cm^3), соодветните вредности за потенцијалот (mV) и диференцијалните вредности $\Delta E/\Delta V$. Графички се прикажува зависноста на $\Delta E/\Delta V$ од волуменот на базата. Масата на сулфурна киселина во пробата се пресметува користејќи ја вредноста за волуменот на база во завршната точка на титрацијата (при најголем скок на потенцијалот) според следниот израз:

$$m(\text{H}_2\text{SO}_4)/20\text{ cm}^3 = 1/2 \cdot V(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{H}_2\text{SO}_4)$$

Во дневникот се прикажува:

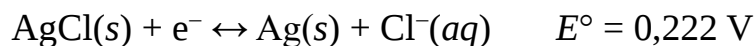
- табеларен и графички приказ на резултатите од мерењето;
- пресметка и конечен резултат.

РЕАКЦИИ НА ТАЛОЖЕЊЕ

Со потенциометриски титрации можат да се следат и таложни реакции во кои како продукт на реакцијата се добива тешко растворлив талог. Како последица на тоа се намалува концентрацијата на карактеристичните јони во растворот на кои реагира индикаторската електрода, па заради тоа доаѓа до промена на нејзиниот потенцијал.

За одредување на халогениди, сулфиди, арсенати, фосфати и оксалати како титрант најчесто се користи раствор од сребро нитрат. Во тој случај, како индикаторска се користи или сребрена (метална електрода од втор вид) или јон-селективна, сребро-сулфидна електрода. Референтната каломелова електрода мора да биде електролитички раздвоена од индикаторската електрода, заради присуство на јони од Cl^- во електролитот на самата електрода. Затоа тогаш се користи електролитен мост од агар-агар со додаток на калиум нитрат или наместо класична каломелова електрода која содржи жива(I) хлорид и калиум хлорид може да се користи електрода која содржи жива(I) сулфат и калиум сулфат.

Потенцијалот на индикаторската сребрена електрода, како метална електрода од втор вид (чиј потенцијал зависи од активитетот на анијонот со кој гради слабо растворливо соединение) може да се изведе имајќи ја предвид електродната реакција:



и е даден со следниот Нернстов израз:

$$E_{\text{инд}} = E_{\text{AgCl/Ag}}^0 - 0,0592 \log a_{\text{Cl}^-} = E_{\text{AgCl/Ag}}^0 + 0,0592 \text{ pCl}$$

ПОТЕНЦИОМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА НА СМЕША ОД ХЛОРИДИ И ЈОДИДИ

Пробата се добива во одмерна тиквичка од 100 cm^3 . Од неа се пипетираат 20 cm^3 во чаша од 250 cm^3 , се разблажува со деминерализирана вода до приближен волумен од 100 cm^3 . Во неа се става тefлонска мешалка и се поставува на магнена мешалка до потенциометарот. Во растворот се потопува сребрена електрода и електролитен мост со KNO_3 за воспоставување на контакт со каломелова електрода. Потоа електродите се приклучуваат на инструментот. Пред да се почне со титрација растворот се промешува, мешалката се исклучува и се отчитува почетниот потенцијал. Титрацијата започнува со додавање на по 1 cm^3 од стандардниот раствор од AgNO_3 . По секое додавање се отчитува вредноста на потенцијалот. Титрацијата се продолжува до појавата на значителен скок на потенцијалот, кој укажува дека јодидите се иститрирани, но продолжува и понатаму до забележување и на вториот значителен скок на потенцијалот, кој се должи на завршната точка на титрација и за хлоридите (потенцијалот на јодидите е понегативен од оној на хлоридите и затоа завршната точка на титрација на јодидите е пред таа на хлоридите).

Втората титрација се изведува со нови 20 cm^3 проба. Титрантот (AgNO_3) се додава во порции од по 1 cm^3 , освен во областите во кои во првата титрација беа забележани скоковите на потенцијалот, каде се додава по $0,1\text{ cm}^3$. Повторно прво се титрираат јодидите, а потоа хлоридите.

Табеларно се претставуваат вредностите за волуменот на потрошениот стандарден раствор од AgNO_3 (cm^3), соодветните вредности за потенцијалот изразени во mV и пресметаните вредности $\Delta E/\Delta V$. Графички се прикажува зависноста на $\Delta E/\Delta V$ од $V(\text{AgNO}_3)$. Масата на јодиди се определува преку потрошениот волумен на титрантот во првата завршна точка (V_1), а масата на хлоридите преку разликата $V_2 - V_1$, каде V_2 е волумен на растворот од AgNO_3 во втората завршна точка, користејќи ги следните изрази:

$$m(\text{I}^-)/20\text{ cm}^3 = V_1(\text{AgNO}_3) \cdot c(\text{AgNO}_3) \cdot M(\text{I}^-)$$

$$m(\text{Cl}^-)/20\text{ cm}^3 = (V_2 - V_1)(\text{AgNO}_3) \cdot c(\text{AgNO}_3) \cdot M(\text{Cl}^-)$$

Во дневникот се прикажува:

- табеларен и графички приказ на резултатите од мерењето;
- пресметка и конечен резултат.