

**Міністерство освіти і науки України
Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя**

Кафедра харчової біотехнології і хімії

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторної роботи № 3
з курсу
„Інструментальні методи аналізу”

***Спектральні методи дослідження.
Спектрофотометрія. Визначення феруму (III) у
вигляді сульфосаліцилату***

для студентів напрямку 6.051702
"Технологічна експертиза та
безпека харчової продукції"

Тернопіль - 2017

**Міністерство освіти і науки України
Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя**

Кафедра харчової біотехнології і хімії

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторної роботи № 3
з курсу
„Інструментальні методи аналізу”

***Спектральні методи дослідження.
Спектрофотометрія. Визначення феруму (III) у
вигляді сульфосалицилату.***

для студентів напрямку 6.051702
"Технологічна експертиза та
безпека харчової продукції"

Тернопіль - 2017

Методичні вказівки до лабораторної роботи №3 з курсу „Інструментальні методи аналізу” для студентів напряму 6.051702 "Технологічна експертиза та безпека харчової продукції"– Тернопіль: ТНТУ, 2017.

Укладачі:

ст.викл. Шпилик О.Б.

ст.викл. Кушнірук Н.В.

Рецензент: д.б.н., професор Юкало В.Г.

Відповідальний за випуск: Шпилик О.Б.

Методичні вказівки розглянуті і затверджені на засіданні кафедри харчової біотехнології та хімії

Протокол № 7 від 18 травня 2017 р.

Схвалено методичною комісією факультету інженерії машин, споруд та технологій

Протокол № 8 від 25 травня 2017 р.

Вступ

Однією із задач спектрофотометричного метода є кількісне визначення величин, які характеризують поглинання даною речовиною монохроматичного випромінювання різних довжин хвиль. Ці величини можуть бути використані як для якісної характеристики речовини, так і для кількісного визначення в розчині чи в суміші з іншими речовинами. В сучасних хімічних дослідженнях широко застосовують спектральні методи.

Серед оптичних методів найбільш доступною, а тому і самою поширеною є видима і ультрафіолетова (УФ) спектрофотометрія, яка дозволяє на відносно нескладному обладнанні швидко і точно проводити кількісний аналіз речовин.

Спектрофотометрія у видимій області і УФ-областях дозволяє оцінювати ступінь чистоти речовини, ідентифікувати по спектру різні сполуки, визначати константи дисоціації кислот і основ, досліджувати процеси комплексоутворення.

Спектрофотометричними методами можна встановити зміст, кофеїну в чаї та каві, теоброміну в какао, барвників в плодах і овочах, у виноградних винах, вміст аміаку, нітритів і нітратів у м'ясних продуктах, свинцю - у консервах, деяких вітамінів, кольоровість цукру і харчових жирів.

Тема: Спектрофотометрія. Визначення феруму (III) у вигляді сульфосаліцилату

1. Теоретична частина

1.1. Фізичні основи методу

Здатність випромінювати і поглинати електромагнітне випромінювання є загальною властивістю всіх атомів і молекул. Випромінювання (поглинання) вельми виборче, тобто випромінювання тільки певної довжини хвилі даною молекулою інтенсивно поглинається, тоді як випромінювання інших довжин хвиль поглинається слабо або зовсім не поглинається. Крива залежності поглинання від довжини випромінюваної хвилі (або частоти випромінювання) називається спектром поглинання речовини, який є специфічною характеристикою даної речовини. Для молекулярних рідин, розчинів і пари області поглинання спостерігаються у вигляді смуг, які несуть інформацію про будову досліджуваних речовин і їх концентрації. Для збудження електронних переходів молекул звичайно необхідне видиме або ультрафіолетове випромінювання. Таким чином, природа смуг поглинання (молекулярних спектрів) в УФ і видимій частинах спектру пов'язана з різними електронними переходами в поглинаючих молекулах і іонах (електронна спектроскопія). У ІЧ області вона пов'язана з коливальними переходами в молекулах (коливальна спектроскопія).

Спектрофотометричний метод аналізу це метод фотометричного аналізу, в якому визначення вмісту речовини

проводять за поглинанням нею монохроматичного світла у видимій, УФ- та ІЧ-областях спектра. У спектрофотометрії, на відміну від фотометрії, монохроматизація забезпечується не світлофільтрами, а монохроматорами, що дозволяють безперервно змінювати довжину хвилі. Як монохроматори використовують призми або дифракційні решітки, які забезпечують значно вищу монохроматичність світла, ніж світлофільтри, тому точність спектрофотометричних визначень вища.

Спектрофотометричні методи порівняно з фотоколориметричними дозволяють вирішувати ширше коло задач:

- проводити кількісне визначення речовин у широкому інтервалі довжин хвиль від 185 до 1100 нм;
- здійснювати кількісний аналіз багатокомпонентних систем (одночасне визначення кількох речовин).

Спектрофотометри, як і фотометри, бувають одно- і двопробові. У двопробових приладах світловий потік яким-небудь чином роздвоюють або усередині монохроматора, або після виходу з нього: один потік потім проходить через розчин, який випробовують, інший - через розчинник. Однопробові прилади особливо зручні при виконанні кількісних визначень, оснований на вимірюванні оптичної густини при певній довжині хвилі. В цьому випадку простота приладу і легкість експлуатації дають істотну перевагу. Велика швидкість і зручність вимірювання при роботі з двопробовими приладами корисні при проведенні якісного аналізу, коли для отримання спектра

оптична густина повинна бути виміряна у великому інтервалі довжин хвиль. Крім того, двопроменевий пристрій легко пристосувати для автоматичного запису оптичної густини, що безперервно змінюється. У всіх сучасних спектрофотометрах для цієї мети використовують саме двопроменеву систему.

І одно і двопроменеві прилади придатні для вимірювань у видимій та УФ-областях. В основі ІЧ-спектрофотометрів завжди лежить двопроменева схема.

1.2. Основи якісного та кількісного аналізу

Якісний аналіз речовин за їх спектрами поглинання проводять двома способами:

- за відомими параметрами спектра поглинання досліджуваної речовини;
- порівнянням спектрів поглинання розчину стандартної речовини і розчину досліджуваної речовини одного й того ж складу.

Застосування в кількісному аналізі методу спектрофотометрії, як і інших фотометричних методів, ґрунтується на використанні для визначення концентрацій речовин закону Бугера—Ламберта—Бера. На відміну від фотоколориметричних визначень у спектрофотометрії можна аналізувати не тільки забарвлені, але й безбарвні розчини. В останньому випадку аналіз проводять не у видимій, а в УФ- або ІЧ-ділянках спектра.

Спектрофотометричні методи в порівнянні з

фотоколориметричними дозволяють вирішити більш широке коло питань:

- одночасне кількісне визначення декількох компонентів багатокomпонентних сумішей;
- визначення складу і констант стійкості комплексних сполук;
- визначення констант іонізації кислот, основ та ін.

У спектрофотометричному аналізі, як і у фотоколориметрії, необхідно створювати оптимальні умови для досягнення певної точності і відтворюваності результатів. Відносна помилка спектрофотометричних визначень індивідуальних речовин не перевищує 2 %.

При вимірюваннях у видимій та УФ-ділянках спектра придатні розчинники, які не містять домішок, що поглинають у цій спектральній ділянці. Як розчинники використовують воду, спирти, хлороформ, розчини кислот та лугів. Характер спектра (структура і розміщення смуг поглинання) може змінюватися в різних розчинниках, а також при зміні рН середовища. Концентрацію розчину та товщину шару підбирають таким чином, щоб значення оптичної густини знаходилось у межах 0,2—0,7, що забезпечує мінімальну помилку вимірювань.

У кількісному аналізі використовують так звані аналітичні смуги поглинання, які повинні мати достатньо високий показник поглинання для індивідуальної речовини (використовують максимум або мінімум смуги поглинання).

Використання ділянок крутого спаду або підйому кривої

призводить до більших помилок вимірювань. У випадку наявності інших компонентів у розчині обрана смуга по можливості не повинна накладатися на смуги інших компонентів.

З метою перевірки правильності показань спектрофотометрів використовують стандартний зразок калію дихромату, з якого готують розчин, що містить 60,06 мг зазначеного зразка в одному літрі розчину, який готують за допомогою розчину сульфатної кислоти (концентрація 0,005 моль/дм³).

Величини оптичних густин для зазначеного розчину при різних довжинах хвиль повинні відповідати наведеним у таблиці:

λ , нм	235	257	313	350
D	0,748	0,845	0,292	0,640

Основні методи визначення концентрації розчинів за допомогою абсорбційної спектрофотометрії:

- метод порівняння оптичної густини стандартного і досліджуваного розчинів;
- метод градувального графіка;
- метод визначення за середнім значенням молярного коефіцієнта поглинання;
- метод домішок;
- метод фотометричного (спектрофотометричного) титрування.

1.3. Оптична схема спектрофотометра

У спектрофотометричних методах застосовуються

спектрофотометри — прилади, що дозволяють проводити аналіз як забарвлених, так і безбарвних з'єднань по виборчому поглинанню монохроматичного випромінювання у видимій, ультрафіолетовій (УФ) і інфрачервоній (ІЧ) областях спектру. В *спектрофотометрах* монохроматизація забезпечується спеціальними оптичними пристроями — *монохроматорами*, які дозволяють безперервно змінювати довжину хвилі електромагнітного випромінювання, що проходить крізь розчин, який аналізують. Сучасні спектрофотометри мають дві принципові схеми — одно- і двопробневу і складаються, як правило, з п'яти основних вузлів:

- джерела видимого, ІЧ- або УФ-випромінювання;
- монохроматора (призми або дифракційної ґратки);
- кюветного відділення з кюветами;
- фотоелементів;
- індикатора сигналу фотоструму (гальванометр, цифровий вольтметр, мікропроцесор).

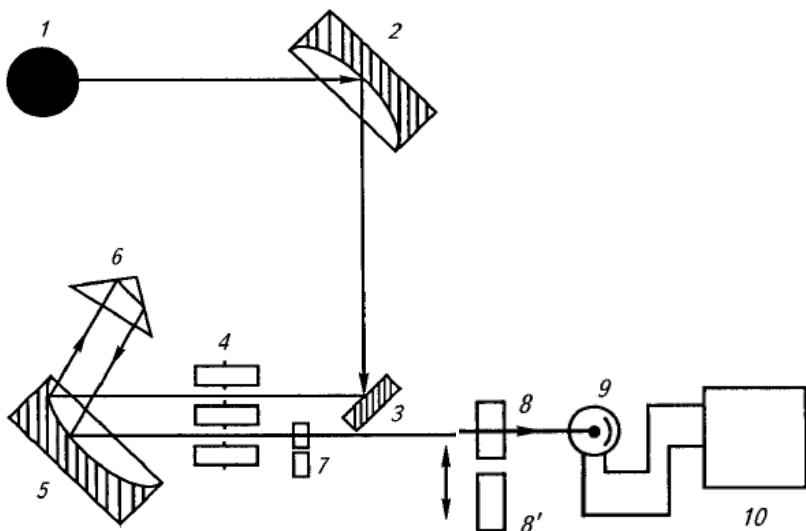


Рис.1. *Оптична схема спектрофотометра.*

1 - джерело випромінювання; 2, 3, 5 - дзеркала; 4 - вхідна і вихідна щілини; 6 - призма; 7 - світлофільтри; 8, 8' - кювети; 9 - фотоелементи; 10 - підсилювач.

Прилад має 3 джерела світла; лампа розжарювання, воднева і ртутна лампи. Світло від джерела падає на дзеркальний конденсор, який збирає його і направляє на плоске дзеркало. Дзеркало відхиляє пучок променів на 90^0 і направляє його через лінзу у вхідну щілину, через яку світло проникає на дзеркальний об'єктив, який являє собою сферичне дзеркало. Від дзеркального об'єктива паралельний пучок променів попадає на кварцеву призму, яка розкладає його в спектр (диспергує). Диспергований пучок направляється знову на об'єктив і фокусується ним на вихідній щілині, яка розміщена під вхідною щілиною. Обертаючи

кварцеву призму, можна одержувати на виході світло різних довжин хвиль. Довжина хвилі залежить від кута повороту призми. Монохроматичні промені, пройшовши щілину, кварцеву лінзу і світлофільтр, який поглинає розсіяне світло, попадають в кювету з контрольним чи досліджуваним розчином. Тут частина світла поглинається, а промені, які пройшли через розчин попадають на фотоелемент.

1.4. Будова і порядок роботи на спектрофотометрі СФ-46

Будова приладу:



Рис. 2. Загальний вигляд спектрофотометра СФ-46

1 - відліковий пристрій встановлення довжини хвиль; 2 - рукоятка повороту дифракційної решітки; 3 - кнопка "мережа" (+ індикаторна лампа); 4 - клавіатура вбудованої мікропроцесорної системи (МПС); 5 - перемикач ланцюга; 6 - рукоятка каретки; 7 - рукоятка; 8 - рукоятка перемикання шторки; 9 - рукоятка "нуль"; 10 - важіль.

Призначення клавіш МПС

<i>Клавіша</i>	<i>Призначення</i>	<i>Сигналізація на табло</i>
ПУСК	Запуск МПС	кома
Ш(0)	Вимірювання і облік темного струму - "шуму"	0 в лівій частині табло
К(1)	Вимірювання і облік сигналу від розчину порівняння - "контрольного розчину"	1 в лівій частині табло
Т(2)	Вимірювання коефіцієнта пропускання, %	2 в лівій частині табло
D(5)	Вимірювання оптичної густини	5 в лівій частині табло
Ц/Р	Перемикання МПС із одиничного режиму в циклічний і навпаки	Освітлений індикатор "Р" або "Ц"

Підготовка спектрофотометра до роботи

1. До початку роботи кнопка (3) "Мережа" повинна бути вимкнена, кришка кюветного відділення - закрита, рукоятка перемикання шторки (8) - закрита, перемикач ланцюга (5) - встановити на ширину щілини 0,15нм.

2. Приєднати спектрофотометр до мережі 220 В, ввімкнути кнопку "Мережа", повинна засвітитися індикаторна лампа "Мережа".

3. Натиснути клавішу "Пуск" на клавіатурі МПС. На табло з лівої сторони повинна засвітитися миготлива лампочка.

4. Вибрати необхідне джерело випромінювання поворотом перемикача (10) в положення „Д” – для вимірювання в межах 190-350 нм (дейтерієва лампа, яка запалюється автоматично через 1 хв. після увімкнення приладу) чи „Н” (вольфрамова лампа розжарення) для вимірювання в межах 340-1110 нм.

Рукою (7) встановити потрібний фотоелемент.

5. Витримати увімкненим спектрофотометр 30 хвилин.

Підготовка до вимірювань

1. Вставити в тримач кювети з розчином порівняння (ближча комірка) і від однієї до трьох з досліджуваними зразками. Поставити тримач з кюветами на каретку в кюветному відділенні. Закрити кришку кюветного відділення.

2. Встановити потрібну довжину хвилі, повертаючи рукоятку (2) в сторону збільшення хвилі.

3. Встановити необхідний фотоелемент поворотом ручки (7) в положення „Ф” при вимірюванні в області 190-700 нм, чи в положення „К” для області 600-1100 нм.

Вимірювання оптичної густини

1. При закритій шторці (перемикач 8) натиснути кнопку "Ш(0)" на панелі мікропроцесора, при цьому на табло висвітиться значення сигналу, пропорційного значенню темного фотоструму.

2. Рукояткою „ Нуль ” (9) встановити любе значення, яке лежить в межах від 0,05 до 0,1 (ручка має грубий та тонкий режим

регулювання). Покази значень перевіряють повторним натисканням кнопки "Ш(0)" до одержання стабільних і відтворюваних значень (± 0.001).

3. Переміщуючи каретку ручкою (6) встановити на шляху світлового потоку розчин порівняння (контрольний зразок „холостий ”)

4. Відкрити шторку переміщенням перемикача (8).

5. Натиснути клавішу „K1”, при цьому на табло висвітлюється певне значення. Це значення повинно лежати в межах 0,5-5,0. При висвітленні менших значень, поворотом ручки почергово встановити більшу ширину щілини, покази знімати шляхом повторного натискання на кнопку „K1”, до одержання необхідного і стабільного результату. Поява на табло знаку „П” свідчить про засвічування елемента, для усунення якого слід зменшити щілину і через певний час повторним натисканням клавіші одержати вказаний результат.

6. Натиснути клавішу "Ц/Р", з правої сторони засвітиться індикатор режиму "Ц".

7. Натиснути на клавішу „Д5” при цьому на табло повинно висвітлитись значення 0,000 - 0,001. Якщо цього не спостерігається то повторити операції пункту №5.

10. Натиснути клавішу „Ц/Р” і знову „Д5” при цьому прилад починає автоматично фіксувати оптичну густину через рівні проміжки часу (5 секунд) (циклічний режим).

11. Встановити по черзі на шляху світлового потоку

досліджувані зразки і записати отримані значення оптичних густин кожного зразка.

2. Експериментальна частина

Дослід 1. *Спектрофотометричне визначення феруму (III) із сульфосаліциловою кислотою*

Мета роботи — опанування методикою спектрофотометричного аналізу речовин у розчинах, набути навиків практичного проведення спектрофотометричного аналізу.

Залежно від рН розчину іони Феруму (III) з сульфосаліциловою кислотою утворюють декілька комплексних сполук. При рН 1,8-2,5 утворюється комплексна сполука зі співвідношенням компонентів 1:1, розчини якої мають фіолетове забарвлення.

Моносульфосаліцилат феруму має максимум поглинання при 510 нм і молярний показник поглинання $1,8 \cdot 10^3$. При збільшенні рН до 4-8 виникає червоно-коричневе забарвлення розчину. При цьому утворюється комплексна сполука зі співвідношенням компонентів 1:2.

При рН = 9,0-11,5 утворюється комплексна сполука, розчини якої мають жовте забарвлення ($\lambda = 416$ нм, $\varepsilon = 5,8 \cdot 10^3$). При її утворенні приєднується третя молекула сульфосаліцилової кислоти.

Для практичного визначення феруму (III) використовуються дві з цих сполук, які утворюються в кислому і лужному середовищах. При рН > 12 комплексна сполука руйнується з виділенням осаду феруму гідроксиду. Комплексні сполуки Феруму із сульфосаліциловою кислотою стійкіші від

тіоціанатних комплексів Феруму (III), що дає можливість застосовувати дану методику для визначення феруму (III) у присутності фосфатів, ацетатів і боратів.

У присутності катіонів Магнію, Алюмінію і лужноземельних елементів беруть великий надлишок реагенту, особливо якщо визначати в лужному середовищі, оскільки при цих значеннях рН багато елементів здатні зв'язувати сульфосаліцилову кислоту. Катіони Мангану заважають визначенню катіонів Феруму в аміачному середовищі.

У присутності всіх перерахованих елементів найчастіше застосовується методика визначення феруму в лужному середовищі.

Обладнання, прилади, матеріали:

- спектрофотометр СФ -46
- терези аналітичні;
- мірні колби місткістю 50 см³;
- мірний циліндр місткістю 20 см³;
- піпетка калібрована місткістю 10 см³;
- дистильована вода;
- стандартний розчин солі Феруму (III) з концентрацією феруму 30 мкг/мл;
- кислота сульфосаліцилова, 10 %-й розчин;
- 5 %-й розчин аміаку.

Порядок виконання роботи

Вибір аналітичної довжини хвилі. У мірну колбу місткістю 50,0 мл вносять 10,0 мл стандартного розчину солі Феруму (III), 1 мл якого містить 30 мкг феруму (III), додають 5 мл розчину кислоти сульфосаліцилової, 10 мл розчину аміаку і доводять водою до позначки. Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють в інтервалі довжин хвиль 360-500 нм. Аналітичною довжиною хвилі вибирають довжину хвилі, яка відповідає максимуму поглинання забарвленої сполуки.

Побудова градуувального графіка. У мірні колби місткістю 50,0 мл вносять по 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 і 10,0 мл стандартного розчину солі Феруму (III), по 5 мл 10% розчину кислоти сульфосаліцилової, по 10 мл 5 % розчину аміаку та об'єм розчину доводять водою до позначки. Паралельно готують розчин порівняння. Вимірюють інтенсивність забарвлення розчинів Феруму (III) сульфосаліцилату навпроти розчину порівняння при аналітичній довжині хвилі. Розчином порівняння є розчин суміші реагентів, приготований в аналогічних для стандартних розчинів умовах. Отримані дані заносять у таблицю 1.

**Дані для побудови градувального графіка для
спектрофотометричного визначення феруму
(III)**

Розчин Феруму(III), (мл)	Розчин Феруму(III), (мкг)	D_1	D_2	D_3
1,0				
3,0				
5,0				
7,0				
10,0				

Градувальний графік для спектрофотометричного визначення феруму (III) будують у системі координат оптична густина (вісь ординат) - вміст феруму (III) у стандартних розчинах (мкг) (вісь абсцис).

Розрахунок питомого ($A_{1\text{см}}^{1\%}$) і молярного (ϵ_λ) показників поглинання.

На основі отриманих при побудові градувального графіка даних розраховують питомий і молярний показники поглинання феруму (III) сульфосаліцилату згідно формул:

$$A_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D_\lambda}{\varpi l}$$

де ω — масова частка розчиненої речовини, %.

$$\varepsilon_{\lambda} = \frac{D_{\lambda}}{c \cdot l}$$

де c — концентрація розчину, моль/дм³; l — товщина шару розчину, см.

Визначення кількісного вмісту феруму (III) у розчинах. У мірну колбу місткістю 50,0 мл вносять 1,0 мл досліджуваного розчину солі Феруму (III), який містить 30-300 мкг феруму (III), додають 5 мл 10 % розчину кислоти сульфосаліцилової, 10 мл 5 % розчину аміаку і об'єм розчину у колбі доводять водою до позначки. Інтенсивність забарвлення розчину вимірюють в умовах побудови градууювального графіка, за яким знаходять вміст феруму (III).

Також концентрацію феруму (III) (у відсотках або у моль/л) знаходять за допомогою розрахованих питомого і молярного показників поглинання феруму (III) сульфосаліцилату згідно формул:

$$c = \frac{D}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot l}$$

$$c = \frac{D}{\varepsilon \cdot l}$$

Питання для самоконтролю

1. Суть методу фотоколориметрії.
2. Основний закон світлопоглинання.
3. З яких етапів складається колориметричне визначення ?
4. Які переваги методу колориметрії ?
4. Які характеристики необхідно враховувати для повного переведення йона, який визначають, у забарвлену сполуку ?
5. Назвіть причини зміни складу забарвлених сполук.
6. Обмеження та умови застосування закону Бугера-Ламберта-Бера.
7. Як залежить чутливість колориметричного визначення від молярного коефіцієнта поглинання ?
8. Що таке оптична густина розчину ?
9. Як змінюється оптична густина розчину залежно від концентрації, товщини шару розчину та молярного коефіцієнта поглинання?
10. В яких ділянках спектра проводять фотометричний аналіз?
11. Яким законом описують залежність поглинання від концентрації речовини і товщини шару розчину?
12. У чому полягає принцип вибору світлофільтрів?

ЛІТЕРАТУРА

1. Практикум з аналітичної хімії. Навч. Посіб. Для студ. вищ. навч. закл. / В.В.Болотов, Ю.В.Сич, О.М.Свечнікова та ін.; За заг. Ред.. В.В.Болотова. - Х: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки.2003.- 240с.
- 2.Колісник, О.Г. Кизим, Т.В. Жукова, М.А. Зареченський, Т.А. Бережна; За заг. ред. В.В. Болотова. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. –240 с.
3. Аналітична хімія: навчальний посібник / О.М. Гайдукевич, В.В. Болотов, Ю.В. Сич та інш. – Х.: Основа, Вид-во НФаУ, 2000. – 432 с.
4. Федущак Н,К. та інші. Аналітична хімія. Основи теорії та практика.-Нова Книга,2012.-640с.
5. Кузьма Ю.Б. Аналітична хімія.- Львів: ЛНУ, 2001.
6. Луцевич Д.Д., Мороз А.С.,Грибальська О.В. Аналітична хімія: підручник.- К.:Медицина, 2009.-416с.

ЗМІСТ

Вступ	3
1. Теоретична частина	4
1.1. Фізичні основи методу	4
1.2. Основи якісного та кількісного аналізу	6
1.3. Оптична схема спектрофотометра	8
1.4. Будова і порядок роботи на спектрофотометрі СФ-46	11
2. Експериментальна частин	26
Дослід 1. Спектрофотометричне визначення феруму (ІІІ) із сульфосаліциловою кислотою	16
Питання для самоконтролю	21
Література	22
Зміст	23

