

ANALIZA CHEMICZNA I ŚLADOWA – laboratorium (CHC0153L)

Ćwiczenie 5. Specjacja - oznaczanie jonów Fe^{2+} i Fe^{3+}

1. Żelazo w przyrodzie i organizmie ludzkim

Żelazo jest jednym z głównych składników skorupy ziemskiej. Jego średnia zawartość wynosi 5 %. Występuje głównie w ultra- i zasadowych skałach magmowych oraz metamorficznych i osadowych. Zazwyczaj w postaci rud takich jak hematyt, magnetyt, piryt czy syderyt.

Zawartość żelaza w glebach i jego rozmieszczenie jest bardzo zróżnicowane. Ilość żelaza w polskich glebach mieści się w zakresie od 0,8 do 1,8 %. Gleby ciężkie mogą zawierać niekiedy dwukrotnie więcej tego składnika niż gleby piaszczyste. Żelazo w glebach występuje w postaci krzemianów, siarczanów i węglanów, a przede wszystkim w postaci tlenów i wodorotlenków krystalicznych i amorficznych. Pierwiastek ten jest bardzo ruchliwy i w warunkach niesprzyjających szybko migruje w głąb profilu glebowego powodując obniżenie ilości form łatwo przyswajalnych dla roślin.

W wodzach naturalnych żelazo występuje w związkach na II i III stopniu utlenienia w formie rozpuszczonej, koloidalnej i zawiesin. Związki żelaza(II) stanowią najczęściej rozpuszczony kwaśny węglan żelaza(II) lub siarczan(IV) żelaza(II) (w wodach torfowisk). Związki żelaza(III) łatwo wytrącają się w wodzie, powodując stopniowe zmętnienie i brunatnienie wód zawierających znaczne ilości związków żelaza. Źródłem związków żelaza w wodach naturalnych są, przede wszystkim, gleba i skały, z których te związki są wymywane, zanieczyszczenia, głównie ściekami przemysłowymi z kopalni, galwanizerni, zakładów metalurgicznych i farbiarskich oraz korozja rur i zbiorników żelaznych i stalowych, z którymi woda miała kontakt.

Fizjologiczna funkcja związków żelaza w roślinach polega głównie na udziale w różnych reakcjach oksydacyjno-redukcyjnych, związanych z wieloma ważnymi procesami metabolicznymi, jak oddychanie, fotosynteza, przemiany związków azotowych. Zawartość żelaza zmienia się znacznie w poszczególnych organach - jego stężenie w tkankach roślin waha się w granicach od 50 do 300 ppm. Żelazo pobierane jest przez rośliny w formie jonowej Fe^{2+} w formie związków chylatowych. W przypadku tego mikroelementu, jego niedobory wynikają najczęściej nie tyle z jego braku w glebie, gdyż występuje on w polskich glebach stosunkowo powszechnie ale z faktu, że w określonych warunkach, czyli przy pH powyżej 6 i przy występowaniu w dużych ilościach innych makro- i mikroelementów nie może być on wykorzystywany przez rośliny.

W organizmie ludzkim znajduje się 3,5 - 4,5 g żelaza. Rola żelaza w organizmie jest prawie wyłącznie związana z procesami oddychania komórkowego. Jest ono składnikiem wielu ważnych białek, np. hemoglobiny czy mioglobiny, występuje również w centrach aktywnych licznych enzymów takich jak: katalaza, peroksydazy oraz cytochromy. Żelazo jest niezbędne dla organizmu jako składnik krwiotwórczy oraz do transportu i magazynowania tlenu. Zapotrzebowanie na żelazo jest zmienne i zależy między innymi od wieku, płci i stanu organizmu. Norma dobowego spożycia waha się w dość dużych granicach. U osób dorosłych: od 10 mg/dobę u mężczyzn, do 20 mg u kobiet, z zastrzeżeniem że w okresie ciąży i karmienia powinno to być ok. 30 mg/dobę. Niedobór spotyka się w stanach zwiększonego zapotrzebowania, zaburzeń wchłaniania lub zwiększonej utraty żelaza. W takim przypadku może wystąpić niedokrwistość.

W przypadku potwierdzonego niedoboru żelaza należy wprowadzić suplementację preparatami żelaza.

Nadmierne spożycie żelaza może prowadzić do zmniejszenia wchłaniania innych składników mineralnych (cynku, miedzi), zwiększenia ryzyka wystąpienia infekcji, nadmiernego gromadzenia żelaza w tkankach i ich uszkodzenie oraz zwiększenia wystąpienia chorób nowotworowych. Sole żelaza(III-VI) są nieszkodliwe, ponieważ się nie wchłaniają.

2. Specjacja, analiza specjacyjna

Według definicji Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (International Union of Pure and Applied Chemistry, w skrócie IUPAC) z 2000 roku specjacja (ang. speciation) [2] jest to występowanie różnych fizycznych i chemicznych form danego pierwiastka, indywidualów (ang. species) w badanym materiale. Natomiast analiza specjacyjna (ang. speciation analysis) to identyfikacja form fizycznych i chemicznych pierwiastka i ich ilościowe oznaczenie w badanym obiekcie. Z kolei terminem frakcjonowanie (ang. fractionation) w ramach badania specjacji określa się jedynie grupy związków danego pierwiastka lub pierwiastków o określonych właściwościach.

Pojęcie specjacja w chemii obejmuje zatem występowanie danego pierwiastka w postaci jonów, związków chemicznych, na różnych stopniach utlenienia, w połączeniu z różnymi ligandami itp. w badanym materiale, który może stanowić np.: żywność, tkanki zwierzęce, próbkach środowiskowych, katalizatorach. Formy, w jakich występuje dany pierwiastek różnią się własnościami fizykochemicznymi i działaniem fizjologicznym.

Analiza specjacyjna, czyli identyfikacja i oznaczenie ilościowe poszczególnych form chemicznych pierwiastka ma coraz większe znaczenie m.in. w medycynie i ekologii, w rozwiązywaniu zagadnień wymagających nie tylko oznaczenia całkowitej zawartości pierwiastków, lecz również uwzględnienia roli związków chemicznych, w których one występują.

Istnieją różne rodzaje specjacji, w zależności od celu analizy. Gdy mamy na celu identyfikację i oznaczenie poszczególnych indywidualów chemicznych mamy do czynienia ze specjacją szczegółową lub właściwą. Specjacja chemiczna polega na oznaczeniu jednego, ściśle określonego składnika, natomiast specjacja grupowa prowadzi do oszacowania zawartości pewnej grupy związków danego pierwiastka, np. sumy związków, w których pierwiastek występuje na danym stopniu utlenienia.

Procedurę mającą na celu wyodrębnienie pierwiastków o określonej aktywności chemicznej lub biologicznej, np. biodostępność czy bioprzyswajalność, nazywamy specjacją funkcjonalną. Ponieważ w czasie tego procesu nie ustalana jest chemiczna natura oznaczanych indywidualów poprawnie jest określać taką procedurę analityczną jako frakcjonowanie. Jednym z rodzajów frakcjonowania jest specjacja operacyjna polegająca na przeprowadzeniu operacji analitycznych powodujących wydzielenie określonej grupy związków danego pierwiastka. Możliwe jest też oddzielenie indywidualów występujących w różnych postaciach fizycznych, takich jak na przykład stan skupienia, czyli przeprowadzenie specjacji fizycznej.

3. Spektrofotometryczne oznaczanie żelaza

- metoda 1,10-fenantrolinowa

Fenantrolina, właściwie o-fenantrolina (1,10-diazofenantren, $C_{12}H_8N_2$) to substancja krystaliczna, rozpuszczalna w wodzie, alkoholu etylowym, acetonie, benzenie, temperaturze topnienia $98^{\circ}C$.

Jony żelaza dwuwartościowego tworzą dla pH w zakresie 2-9 czerwony kompleks z 1,10-fenantroliną. Dla promieniowania o długości fali $\lambda_{\max}=512$ nm, jego molowy współczynnik absorpcji ma wartość $\epsilon = 1,11 \times 10^4$ (absorbancja właściwa 0,2). Roztwory kompleksu Fe (II) z fen są trwałe w czasie, a żelazo (II) w tym kompleksie jest odporne na utlenianie. Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do stężenia żelaza w próbce i oznaczana jest spektrofotometrycznie. W przypadku niedomiaru odczynnika tworzą się kompleksy o stosunku Fe^{2+} do 1,10-fenantroliny 1:1 o barwie żółtej.

Reakcje tworzenia kompleksu 1,10-fenantroliny z Fe (II) przeprowadza się w środowisku octanowym lub cytrynianowym, co zapobiega strącaniu się kationów, których sole hydrolizują w słabo kwaśnym środowisku, np. Ti, Al czy Bi.

Cynk i kadm, jeżeli występują w dużym nadmiarze, można maskować wprowadzając do badanego roztworu wersenian disodu (EDTA). Miedź można maskować kwasem tioglikolowym.

Żelazo Fe^{3+} tworzy również kompleks z 1,10-fenantroliną o barwie zielono niebieskiej przechodzący po pewnym czasie w kompleks o barwie żółtej. W celu oznaczenia żelaza w roztworze zawierającym zarówno Fe^{2+} jak i Fe^{3+} dokonuje się redukcji żelaza trójwartościowego stosując hydroksyloaminę. Optymalne warunki dla redukcji żelaza na trzecim stopniu utleniania przy stosowaniu hydroksyloaminy występują w zakresie wartości pH od 6 do 8.

Kompleks o-fenantroliny z żelazem o nazwie ferroina ($[\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2]_3\text{Fe}^{+2}$) jest wskaźnikiem redoks, który przechodzi z formy niebieskiej (w środowisku utleniającym) do czerwonej (w środowisku redukującym).

W ćwiczeniu została wykorzystana metoda miareczkowania kompleksometrycznego do oznaczenia jonów Fe^{2+} i Fe^{3+} oraz metoda fenantrolinowa do spektrofotometrycznego oznaczania całkowitej ilości żelaza po uprzedniej redukcji Fe(III) do Fe (II).

4. Wykonanie ćwiczenia

A. Kompleksometryczne oznaczanie jonów Fe^{2+} i Fe^{3+}

UWAGA: Otrzymałą w kolbie miarowej próbkę do analizy należy rozcieńczyć do kreski wodą destylowaną i starannie wymieszać.

Kompleksometryczne oznaczenie jonów żelaza polega na miareczkowaniu żelaza roztworem EDTA, przy pH około 2, wobec kwasu sulfosalicylowego. W tej metodzie wykorzystuje się większą trwałość bezbarwnego kompleksu żelaza z wersenianem w porównaniu z trwałością jego kompleksu z kwasem sulfosalicylowym o zabarwieniu czerwono-fioletowym (buraczkowym). W punkcie końcowym miareczkowania następuje zmiana barwy z **czerwono-fioletowej** na **żółtą** (słomkową).

Do starannie umytej kolby stożkowej o pojemności 200 cm^3 wprowadzić $20,00 \text{ cm}^3$ analizowanego roztworu, około 20 cm^3 wody destylowanej i 2 cm^3 wskaźnika (**jeżeli w roztworze są obecne jony Fe^{3+} powinien się on zabarwić na kolor czerwono-fioletowy**). Następnie roztwór miareczkować mianowanym roztworem EDTA do zmiany barwy z koloru czerwono-fioletowego na żółty. Pod koniec należy miareczkować bardzo ostrożnie. Zanotować objętość zużytego $0,0100 \text{ M}$ roztworu EDTA. Następnie do kolby dodać nadsiarczan amonu do zmiany barwy na czerwono-fioletową i powtórnie miareczkować mianowanym roztworem EDTA do zmiany barwy z czerwono-fioletowej na słomkowożółtą. Ponownie odczytać objętość zużytego roztworu titranta.

Ilość nadsiarczanu amonu powinna być tak dobrana, żeby po zakończonym miareczkowaniu i wprowadzeniu niewielkiej ilości utleniacza barwa roztworu nie uległa zmianie.

Oznaczenie należy powtórzyć się przynajmniej dwukrotnie. Na podstawie uzyskanych wyników należy obliczyć średnią zawartość jonów żelaza - jonów Fe^{2+} i Fe^{3+} - w próbce otrzymanej do analizy.

B. Spektrofotometryczne oznaczenie żelaza (II)

Przygotowanie roztworów wzorcowych i pomiar zależności absorbancji od stężenia żelaza – wykonanie krzywej wzorcowej

Do 6 starannie umytych kolb miarowych o pojemności 50 cm³ wprowadzić kolejno: 0; 50; 100; 150; 200 i 250 μl wzorcowego roztworu soli żelaza (II) o stężeniu 500 ppm. Następnie do każdej kolby dodać 2,0 cm³ 10 % roztworu chlorowodoru hydroksloaminy, oraz 5,0 cm³ 10% cytrynianu sodu. Później dodać 5,0 cm³ roztworu 1,10-fenantroliny (0,25% roztwór 1,10-fenantroliny w 0,1M HCl). Uzupełnić kolby wodą destylowaną do kreski i dokładnie wymieszać. Po upływie 5 minut zmierzyć absorbancję roztworu przy długości fali 500 nm (po ustawieniu absorbancji = 0 dla roztworu nie zawierającego żelaza).

Wyznaczenie zawartości żelaza w badanej próbce

UWAGA: Przed przystąpieniem do wykonania oznaczenia roztwór otrzymany do analizy należy rozcieńczyć 20-krotnie. W tym celu należy pobrać pipetą miarową 5,00 cm³ roztworu i umieścić go w czystej kolbie miarowej o pojemności 100,0 cm³. Kolbę uzupełnić do kreski wodą destylowaną. Zawartość starannie wymieszać.

Porcję badanego roztworu (rozcieńczonego!) o objętości 10,00 cm³ wprowadzić do kolby o pojemności 50,00 cm³. Do kolby dodać 2,0 cm³ 10 % roztworu chlorowodoru hydroksloaminy oraz 5,0 cm³ 10% cytrynianu sodu. Następnie dodać 5,0 cm³ roztworu 1,10-fenantroliny (0,25% roztwór 1,10-fenantroliny w 0,1M HCl). Uzupełnić kolby wodą do kreski i dokładnie wymieszać. Po upływie 5 minut zmierzyć absorbancję roztworu przy długości fali 500 nm (po ustawieniu absorbancji = 0 dla roztworu nie zawierającego żelaza).

Z krzywej zależności absorbancji od stężenia wyznaczyć wartość stężenia jonów żelaza w badanej próbce. Obliczyć zawartość żelaza w roztworze badanym.

C. Sprawozdanie

Sprawozdanie powinno zawierać krótki opis stosowanych metod, dokładny opis przeprowadzonych doświadczeń (w tym procedur przygotowania próbek do pomiaru), wyznaczoną krzywą wzorcową oraz wyniki obliczeń zawartości jonów żelaza Fe^{2+} i Fe^{3+} oraz całkowitej ilości żelaza w otrzymanej do analizy próbce w **mg** (masa jonów żelaza w analizowanej próbce) i w **ppm** (stężenie poszczególnych jonów a próbce do analizy).

5. Literatura

1. A. Kabata – Pendias, *Biogeochemia pierwiastków śladowych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1999
2. W. Semczuk, *Toksykologia*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1994
3. D. Templeton, A. Ariese, R. Cornelis, L. G. Danielsson, H. Muntau, H. P. van Leeuwen, R. Łobinski, *Pure Appl. Chem.*, 72, 8 (2000) 1453 -1470
4. A. Hulanicki, *Współczesna chemia analityczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001
5. Z. Marczenko, M. Balcerzak, *Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1998

6. A. Cygański, *Chemiczne metody analizy ilościowej*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1994
7. I. Kupryszewski Gotfryd, *Podstawowe zasady bezpiecznej pracy w laboratorium chemicznym*, Wydawnictwo Gdańskie, Gdańsk 1999 → omówienie zagrożeń związanych z użyciem określonych chemikaliów i procedur laboratoryjnych.

6. Zagadnienia do kolokwium

1. Specjacja, analiza specjacyjna, frakcjonowanie.
2. Miareczkowanie kompleksometryczne – warunkowe stałe trwałości kompleksów metali z EDTA, wpływ pH roztworu, na procesy kompleksowania, wskaźniki, typy miareczkowań kompleksometrycznych, kompleksometryczne oznaczanie jonów Fe^{2+} i Fe^{3+} .
3. Zasada oznaczeń spektrofotometrycznych - prawa absorpcji, aparatura spektrofotometryczna, metoda krzywej wzorcowej.
4. Oznaczanie żelaza metodą o fenantrolinową - zasada oznaczenia, stosowane odczynniki i roztwory, sposób wykonania pomiarów.
5. Obliczanie stężeń pierwiastków, przeliczanie stężeń (ppm, ppb).