ANALIZA SPECJACYJNA

Oznaczanie Se(IV) w obecności Se(VI) metodą katodowej woltamperometrii inwersyjnej.

(dr Agnieszka Nosal – Wiercińska; Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej, Wydział Chemii UMCS w Lublinie)

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Specjacją nazywamy zjawisko występowania różnych fizycznych i chemicznych form danego pierwiastka w badanym materiale. Analiza specjacyjna zajmuje się identyfikacją tych różnych form pierwiastka i ich ilościowym oznaczaniem w badanej próbce.
Pierwiastki mogą występować w różnych postaciach jako:
- wolne jony (na różnych stopniach utlenienia)
- jony kompleksowe
- związki organiczne
- związki nieorganiczne.

Różne formy tego samego pierwiastka mogą być niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych, bądź też mogą być toksyczne np.
- Cr(III) jest niezbędny w metaboliźmie tłuszczy, a chromiany (Cr(VI)) są silnie toksyczne i mogą być przyczyną powstawania nowotworów
- nieorganiczne związki As(III) są silnie toksyczne, natomiast związki organiczne As(III) nie wykazują toksyczności.

Współczesne badania specjacji dotyczą przede wszystkim różnych elementów środowiska, a więc atmosfery, hydrosfery, litosfery i biosfery. Biosfera jest szczególnie wdzięcznym ale i trudnym obiektem do badania, jest niesłychanie różnorodna – obejmuje bowiem zarówno materiały roślinne, jak i tkanki zwierzęce. Tę grupę obiektów można jeszcze rozszerzyć na żywność, tkanki ludzkie i płyny fizjologiczne. Ta różnorodność sprawia, że zazwyczaj w każdym szczegółowym przypadku konieczne jest opracowanie nowych procedur analitycznych, a przynajmniej istotne modyfikowanie i adaptowanie już istniejących.
Najczęściej badana jest specjacja pierwiastków, o których wiadomo, że ich związki są szczególnie toksyczne. Dotyczy to: rtęci, arsenu, ołowiu, selenu, kadmu, czy antymonu.
Analizie specjacyjnej stawia się szczególne wymagania:

- próbka musi być tak pobrana i przygotowana do analizy aby nie nastąpiła zmiana specjacji.
- stosowane techniki analityczne muszą charakteryzować się doskonałą wykrywalnością
- zasady pracy powinny być bardziej rygorystyczne niż w analizie śladowej, gdyż mamy tu do czynienia nierzadko ze stężeniami na poziomie ppb.

Aby zapewnić odpowiednią dokładność, jakość oznaczeń w analizie specjacyjnej:

- porównuje się dane uzyskane w różnych laboratoriach
- stosuje się certyfikowane materiały odniesienia
- prowadzi się oznaczenia kilkoma metodami.

Do bezpośredniego oznaczania specjacji stosuje się następujące metody:

- potencjometrię z elektrodami jonoselektywnymi (szczególnie w analityce klinicznej np. do oznaczania nieskompleksowanych jonów wapnia i magnezu we krwi i w surowicy krwi)
- woltamperometrię (w ochronie środowiska np. do oznaczania w wodzie labilnych, elektroaktywnych form pierwiastków)
- atomową spektrometrię absorpcyjną
- spektrometrię mas z jonizacją w plaźmie sprzężonej indukcyjnie

Selen jest pierwiastkiem zarówno toksycznym jak i niezbędnym dla organizmu człowieka i zwierząt. W środowisku selen występuje w skałach i glebach, a stąd przedostaje się do wód i jest przyswajalny przez rośliny. Selen w dużych stężeniach jest toksyczny. Znane są przypadki zatruć bydła, ryb i ptactwa wodnego w wyniku kumulacji selenu w roślinach i zbiornikach wodnych. Z drugiej strony selen jest istotnym składnikiem białek enzymatycznych, odpowiada za sprawne działanie systemu immunologicznego, ponadto opóźnia procesy starzenia i przyspiesza regenerację komórek. Spełnia on również ważną rolę w terapii antynowotworowej.

Granica między korzystnym i toksycznym działaniem selenu jest bardzo wąska i zależy zarówno od stopnia utlenienia jak i formy chemicznej. Dlatego istnieje konieczność analizy specjacyjnej tego pierwiastka przede wszystkim w glebach i wodach.

I. CEL ĆWICZENIA

Celem ćwiczenia jest:

a. oznaczenie stężenia Se(IV) w próbce z wykorzystaniem metody wielokrotnego dodatku wzorca
b. zbadanie wpływu obecności Se(VI) na sygnał analityczny Se(IV).

W naszym ćwiczeniu wykorzystano najczęściej stosowaną w analizie specjacyjnej selenu metodę elektrochemiczną jaką jest katodowa woltamperometria inwersyjna na elektrodzie rtęciowej. W metodzie tej proces zatężania prowadzi się przy bardziej dodatnich potencjałach, wówczas na elektrodzie rtęciowej gromadzą się sole, które z jonami rtęci tworzą nierozpuszczalny film na powierzchni elektrody rtęciowej. W wyniku katodowej zmiany potencjału następuje redukcja soli do postaci rtęci i wyjściowego jonu, co daje katodowy pik prądu.

Katodowa woltamperometria inwersyjna pozwala na bezpośrednie oznaczenie Se(IV), ponieważ Se(VI) jest elektrochemicznie nieaktywny.

Z przebiegu proponowanej procedury analizy specjacyjnej selenu wynika, że selen jest nagromadzany na elektrodzie rtęciowej w postaci związku z miedzią Cu_2Se przy potencjale -350mV (zgodnie z reakcją (2)):

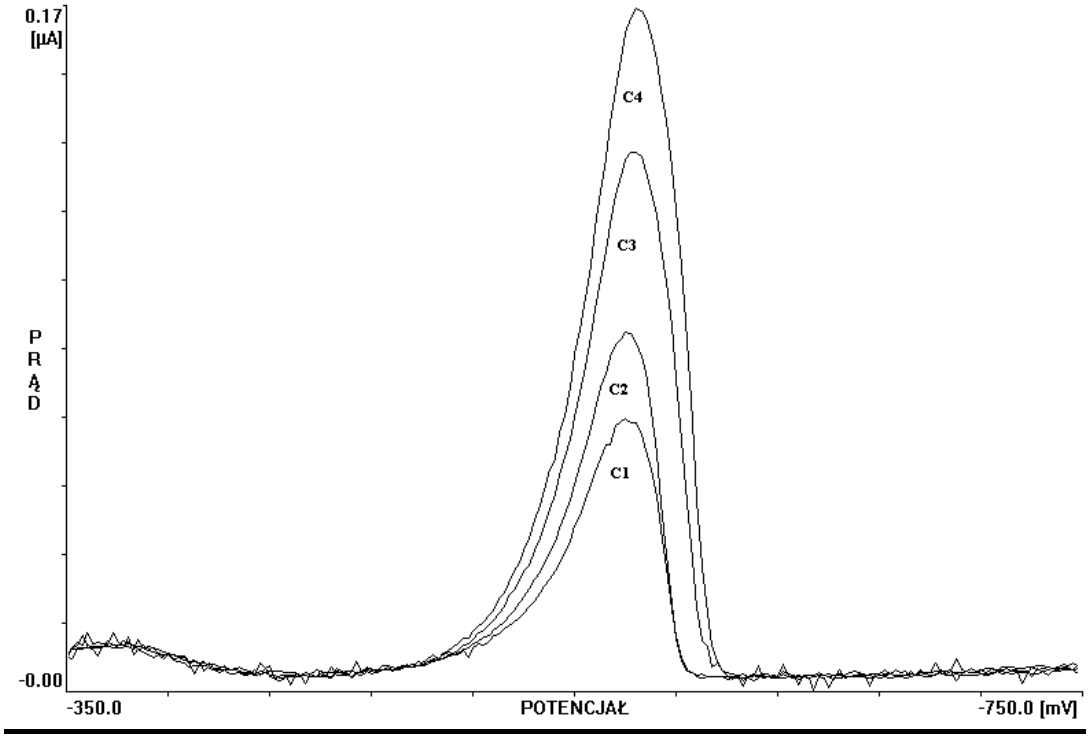
$$Cu^{2+} + 2\bar{e} + Hg \rightarrow Cu(Hg) \qquad (1)$$

$$2Cu(Hg) + H_2SeO_3 + 4H^+ + 4\bar{e} \rightarrow Cu_2Se(Hg) + 3H_2O \qquad (2)$$

Po etapie nagromadzania w wyniku przyłożenia do elektrody zmieniającego się potencjału w zakresie od -350mV do -750mV następuje redukcja Cu(I) zawartej w Cu_2Se do miedzi metalicznej (reakcja (3))

$$Cu_2Se(Hg) + 2H^+ + 2\bar{e} \rightarrow H_2Se + 2Cu(Hg) \qquad (3)$$

Towarzyszący temu procesowi prąd rejestrowany jest w postaci woltamperogramu (krzywa c1).



Wraz ze wzrostem zawartości Se(IV) w analizowanej próbce wzrastają wysokości pików na krzywej woltamperometrycznej (krzywe c2, c3, c4).

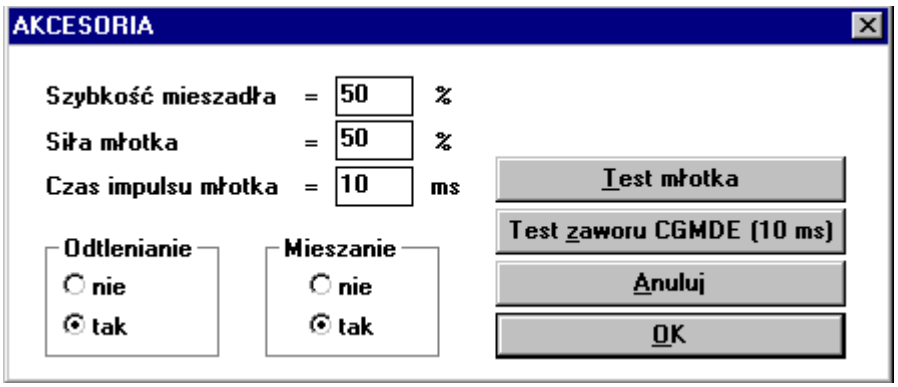
CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

a. oznaczenie stężenia Se(IV) w próbce z wykorzystaniem metody wielokrotnego dodatku wzorca

II a. SPOSÓB WYKONANIA ĆWICZENIA

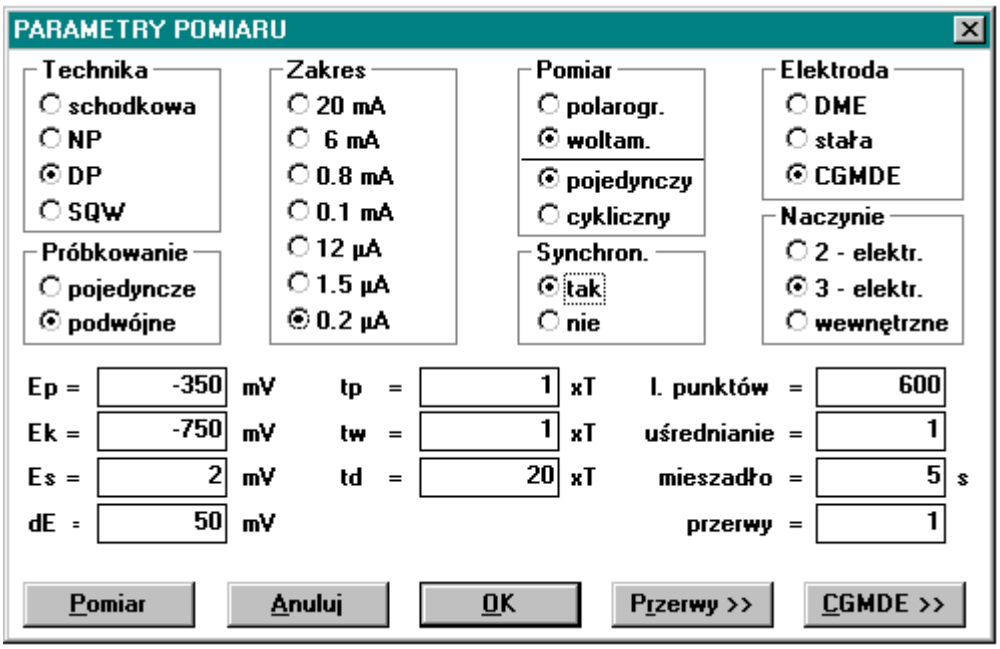
1. Do otrzymanej w kolbce o pojemności 50 ml próbki dodać 1ml $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l $CuSO_4$ oraz 5 ml 1M $HClO_4$ i uzupełnić woda redestylowaną do kreski.
2. Bardzo delikatnie zdjąć ze statywu elektrodowego naczyńko pomiarowe (NP) z mieszadełkiem magnetycznym. W tym celu podtrzymując jedną ręką NP, drugą ostrożnie nacisnąć mieszadło elektromagnetyczne, odsunąć je w lewą stronę, a naczyńko pomiarowe przesunąć ku dołowi i wyjąć spod układu elektrod.
3. Do NP odpipetować 10 ml roztworu badanego.

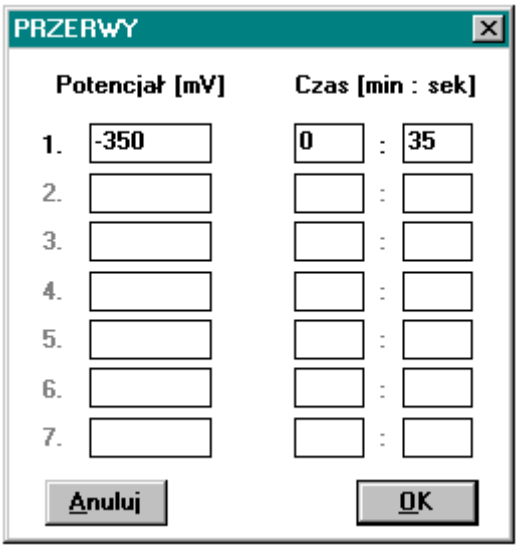
4. NP podstawić pod układ elektrod i przesunąć pod nie mieszadło magnetyczne.
5. Elektrodę chlorosrebrową (REF) (znajduje się ona w brązowej buteleczce), podłączyć do zestawu poprzez przyłączenie jej do kabelka oznaczonego etykietą REF i umieszczenie jej w NP. przez otwór z prawej strony uchwytu elektrod.
6. Włączyć zasilanie na listwie, włączyć komputer oraz drukarkę. Na tylnym panelu (po lewej stronie) analizatora elektrochemicznego **Model M161** i statywu elektrodowego **Model M164** wyłączniki zasilania przełączyć w pozycję **On (-).**
7. Wywołać właściwy dla metody program klikając myszką na ikonce o nazwie **EA 9_PL5** znajdującej się na pulpicie.
8. Odtlenić roztwór przez 10 minut. W tym celu odkręcić zawór główny i zawór redukcyjny na butli z azotem. Przejść do menu **Pomiar/Akcesoria** i dostosować się do zaleceń w okienku dialogowym.

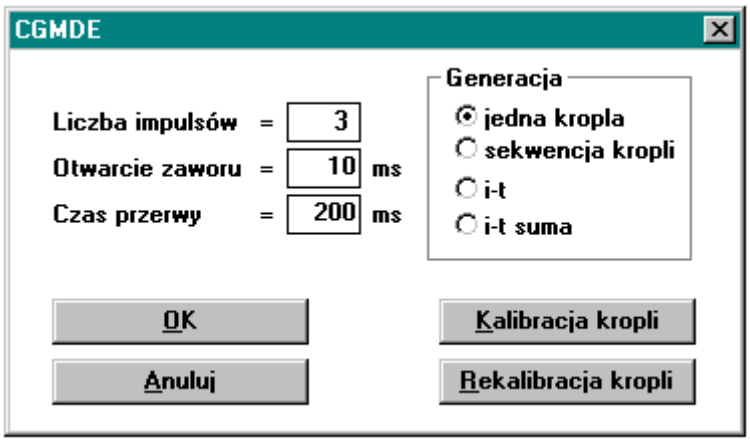


Po tych ustawieniach przez roztwór powinien być przepuszczany azot, którego intensywność przepływu można regulować zaworem redukcyjnym na butli. Mieszadełko magnetyczne powinno się obracać.

9. Podczas odtleniania ustawić parametry prowadzenia pomiarów odpowiednie dla ćwiczenia.
   Przejść do menu **Pomiar/Techniki impulsowe – parametry** i w okienku dialogowym ustawić parametry jak pokazano na poniższych rysunkach:







Po dostosowaniu się do zaleceń klikamy każdorazowo myszką **ok.**

10. Po zakończeniu odtleniania zarejestrować woltamperogram próbki. Należy przejść do menu **Pomiar/Start pomiaru**. Po wybraniu tej opcji azot zostaje skierowany nad roztwór i rozpoczyna się etap zatężania (przy potencjale -350 mV) w trakcie którego mieszadło pozostaje w ruchu, a następnie po automatycznym zatrzymaniu mieszadła rejestrowana jest krzywa. Po zarejestrowaniu krzywej pojawi się okienko dialogowe z komunikatem „czy chcesz zachować wynik pomiaru w pliku?" Jeśli pomiar przebiegł poprawnie wybieramy **Tak.**
    Po tej operacji (pojawi się kolejne okno dialogowe) zapisujemy dane z wykonanego pomiaru oraz parametry prowadzenia pomiaru na dysku w **kartotece c:\...\pulpit** w pliku z rozszerzeniem *.vol (max. 8 znaków). Po wypełnieniu wszystkich okienek klikamy **ok**.
11. W dalszej części ćwiczenia należy zarejestrować trzy woltamperogramy po dodaniu roztworu wzorca do próbki. Należy do NP odpipetować za pomocą mikropipety 50µl roztworu wzorcowego $[Se^{4+}] = 1 \cdot 10^{-5}$mol/l przez wolny otwór w uchwycie elektrod.
12. Roztwór należy odtlenić przez około 20 sekund. Po tym czasie rejestrujemy woltamperogram (dokładnie jak w pkt 10). Czynności powtarzamy dla kolejnych wzorców. Proszę zwrócić uwagę na zapis kolejnych krzywych, mianowicie, zapisujemy w tym samym pliku, zmieniamy natomiast nazwę krzywej.
13. Po zarejestrowaniu i zapisaniu wszystkich krzywych (w sumie czterech), wydrukować raport z wykonanych pomiarów, potrzebny do wykonania opracowania.
14. Po zakończeniu pierwszej części ćwiczenia zdjąć NP, wyjąć mieszadełko magnetyczne. Roztwór z rtęcią wylać do naczynia na zlewki rtęci (brązowy słój). NP przepłukać wodą destylowaną,

b. zbadanie wpływu obecności Se(VI) na sygnał analityczny Se(IV).

II b. SPOSÓB WYKONANIA ĆWICZENIA

1. Z próbką przygotowaną w sposób opisany w części **a** opracowania postępujemy dokładnie jak w punktach **2a-4a**.
2. Po czym roztwór należy odtlenić przez 10 minut i zarejestrować woltamperogram. Zarejestrowaną krzywą zapisać w nowym pliku. (punkt **10a**).
3. Kolejnym etapem jest zarejestrowanie woltamperogramu po dodaniu za pomocą mikropipety 50µl roztworu Se(VI) o stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$mol/l.

4. Do NP. odpipetować 50µl roztworu Se(VI) przez wolny otwór w uchwycie elektrod.
5. Roztwór odtlenić przez około 15 sekund, po czym zarejestrować woltamperogram (punkt **10a**).
6. Zarejestrowaną krzywą zapisać w tym samym pliku jak w punkcie **3b**, ale nadać jej inną nazwę.
7. Po zarejestrowaniu i zapisaniu krzywych woltampero-metrycznych wydrukować raport z wykonanych pomiarów.
8. Po zakończeniu całego ćwiczenia zdjąć NP, wyjąć mieszadełko magnetyczne. Roztwór z rtęcią wylać do naczynia na zlewki rtęci (biały pojemnik). NP przepłukać wodą destylowaną, po czym napełnić je wodą destylowaną i po umieszczeniu pod zestawem elektrod przepuścić przez około 30 sekund azot przez roztwór. Z naczyńka wyjąć elektrodę chlorosrebrową, opłukać wodą destylowaną i włożyć ją do brązowej buteleczki.
   Zdjąć naczyńko pomiarowe, wylać wodę, wysuszyć je bibułką, włożyć suche mieszadełko magnetyczne i naczyńko umieścić pod układem elektrod.
9. Przejść do menu **Pomiar/Akcesoria**: w wyświetlonym okienku w ramce zaznaczyć odtlenianie i mieszanie **nie** i kliknąć **tak**.
10. Przejść do menu **Koniec**, wybrać **tak** aby zakończyć program. Następnie wyłączyć analizator elektrochemiczny **Model M161,** statyw elektrodowy **Model M164,** komputer oraz listwę zasilającą.
    Zakręcić zawory na butli z azotem.

III. OPRACOWANIE WYNIKÓW

W pracowaniu proszę zamieścić następujące informacje:
- zasadę pomiaru metodą katodowej woltamperometrii inwersyjnej
- krótkie omówienie analizy specjacyjnej
- wyznaczone potencjały i prądy pików Se(IV) w próbce oraz w próbce z dodatkiem wzorców (**ćwiczenie a**)(sposób wyznaczania zaznaczyć na wydrukowanych woltamperogramach)
- wyznaczone potencjał i prąd piku Se(IV) w próbce oraz potencjał i prąd piku w obecności Se(VI) (**ćwiczenie b**)
- wykres właściwy dla metody wielokrotnego dodatku wzorca i wyznaczone z tego wykresu stężenie Se(IV) [mol/l] w badanej próbce (**ćwiczenie a**).
- wnioski wyciągnięte z porównania woltamperogramów otrzymanych dla Se(IV) i w obecności Se(VI)
- podpisane przez prowadzącego wydrukowane raporty z wykonanych pomiarów
- tabele z zamieszczonymi wynikami:

Ćwiczenie a:

Oznaczenie stężenia Se(IV) w próbce		
Imię i nazwisko		
	Ep/mV	Ip/μA
Próbka		
Próbka+50μl wzorca		
Próbka+100μl wzorca		
Próbka+150μl wzorca		
Stężenie Se(IV)w próbce [mol/l]		

Ćwiczenie b:

Wpływ obecności (VI) na sygnał analityczny Se(IV)		
Imię i nazwisko		
	Ep/mV	Ip/μA
Próbka Se(IV)		
Próbka Se(IV) + 50μl Se(VI)		

IV. LITERATURA

1. A. Hulanicki „Współczesna chemia analityczna”, PWN, Warszawa 2001.
2. T. Zajt „Metody woltamperometryczne i elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna”, Wydawnictwo Gdańskie, Gdańsk 2001.
3. W. Szczepaniak „Metody instrumentalne w analizie chemicznej”, PWN, Warszawa 1996.