

Determinazioni spettrofotometriche

I°

Coefficiente di Estinzione

Composti quali il 2,2'-diidrossiazobenzene ed il 2,4-diidrossiazobenzene presentano, tranne che per la posizione di una funzione ossidrilica, struttura molecolare identica, possiamo distinguerli tramite la spettrofotometria U.V./Vis. questa diversità può essere espressa mediante il Coefficiente di Estinzione, numero per definizione adimensionale*, legato al valore di assorbanza ad una data lunghezza d'onda, alla concentrazione ed al cammino ottico**

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot b \cdot c$$

dove :

A_{λ} valore di assorbanza a cui si riferisce la lettura (pedice in nm)

ϵ_{λ} coefficiente di estinzione a cui si riferisce la lettura (pedice in nm)

b distanza ottica percorsa espressa in cm

c concentrazione molare

* In realtà è in $M^{-1} cm^{-1}$ (molarità e cammino percorso espresso in cm)

** Ed al solvente

| Lunghezza d'onda max | colore assorbito | colore osservato |
|----------------------|------------------|------------------|
| 380-420 nm | Violetto | Verde-giallo |
| 420-440 nm | Violetto-blu | Giallo |
| 440-470 nm | Blu | Arancione |
| 470-500 nm | Blu-verde | Rosso |
| 500-520 nm | Verde | Porpora |
| 520-550 nm | Verde-giallo | Viola |
| 550-580 nm | Giallo | Violetto-blu |
| 580-620 nm | Arancione | Blu |
| 620-680 nm | Rosso | Blu-verde |
| 680-780 nm | Porpora | Verde |

esperienza

In due matracci tarati da 25 ml si pesano esattamente 0.1 mmoli di 2,2'-diidrossiazobenzene e 0.1 mmoli di 2,4-diidrossiazobenzene, si portano a volume con $CHCl_3$.

Nel frattempo sullo spettrofotometro U.V./Vis. si esegue la scansione completa in due cuvette in quarzo del solvente in uso.

Si riempie una cuvetta con parte del contenuto di un matraccio e si ripete la scansione, annotando l'intervallo migliore di scansione. Qualora la soluzione risultasse di concentrazione elevata, si operano le opportune diluizioni in matracci tarati da 10 ml.

Trovate quindi le condizioni di lavoro si ripete l'operazione per il successivo matraccio.

Si esegue quindi la lettura del massimo di assorbimento ed in base alla formula si risale al valore di ϵ dei due composti.

II°

Determinazione della concentrazione incognita di una soluzione di Ni(II) mediante spettrofotometria di assorbimento.

attrezzatura: bilancia, spettrofotometro UV/vis, celle in quarzo od in plastica, pipette tarate, propipette, matracci tarati, pipette Pasteur, tettarella
prodotti: nichel acetato tetraidrato (MW = 248.86), acqua distillata.

esecuzione :

Avendo un'idea dell'ordine di grandezza della concentrazione incognita di una soluzione acquosa di nichel acetato tetraidrato, si possono preparare per pesata quattro soluzioni a titolo noto di Ni(ac)₂ · 4H₂O di diversa concentrazione

- **1.0 x 10⁻¹ in 50 ml**
- **6.7 x 10⁻² in 50 ml**
- **5.0 x 10⁻² in 100 ml**
- **3.0 x 10⁻² in 100 ml**

utilizzando due matracci da 100 cc e due matracci da 50 cc. Con queste soluzioni si preparano cinque celle a cui se ne aggiunge una contenente il solvente in uso che servirà per determinare il bianco di assorbimento nello spettrofotometro UV/vis a doppio raggio.

Eseguita l'eliminazione del background con la cella contenente acqua e con quella contenente la soluzione a più alta concentrazione, si procede a registrare una scansione in funzione della lunghezza d'onda, in modo tale da trovare quale sia la lunghezza d'onda alla quale si ha il picco di massimo assorbimento del nostro complesso. Ci si posiziona quindi a questa lunghezza d'onda e si fanno letture di assorbanza a λ fissa sulle quattro soluzioni a titolo noto; con i valori trovati si prepara una curva di taratura concentrazione/assorbanza su carta millimetrata. Si procede quindi a leggere l'assorbanza (alla stessa lunghezza d'onda rilevata precedentemente) della soluzione a titolo incognito dalla quale si sarà così in grado di determinare quale sia la concentrazione incognita.

III°

Determinazione spettrofotometrica del manganese per ossidazione con periodato di potassio.

Lo ione manganese(II) è ossidato in ambiente acido a permanganato con KIO_4 . Il dosaggio viene eseguito al massimo di assorbimento della soluzione di permanganato, effettuando una curva di taratura con una soluzione a concentrazione nota di $KMnO_4$. Il procedimento descritto è applicabile alla determinazione del manganese negli acciai.

Reattivi occorrenti :

Soluzione standard di potassio permanganato (0,01 N). Si pesa una quantità di poco superiore alla quantità calcolata di $KMnO_4$ e si scioglie in un litro di acqua distillata lasciando a caldo per circa 30 minuti. Si raffredda, si filtra su lana di vetro, si porta a volume in un pallone tarato e si titola secondo i procedimenti classici dell'analisi volumetrica.

Potassio periodato solido.
Acido solforico concentrato.
Soluzione incognita di manganese(II).

Procedimento.

a)-Prelevare in quattro palloni tarati da 50 mL 2,5- 5,0- 7,5 -10,0 ml della soluzione* a titolo noto di permanganato di potassio e portare a volume con acqua distillata. Effettuare lo spettro di assorbimento di una delle soluzioni così preparata e scegliere la lunghezza d'onda più opportuna per il dosaggio. Riportare in grafico il valore dell'assorbanza, alla lunghezza d'onda prescelta, in funzione della concentrazione del manganese.

b)-Prelevare 50,0 ml della soluzione di manganese(II) a concentrazione incognita** in un becher da 100 mL acidificarli con 10 ml di acido solforico concentrato. Aggiungere una punta di spatola di potassio periodato, agitare con una bacchettina di vetro e riscaldare a 90°C per circa 5 minuti. Raffreddare e portare a volume in un matraccio tarato da 100 ml. Dalla misura dell'assorbanza risalire al contenuto di manganese della soluzione di partenza.

IV°

Determinazione del ferro nel siero per via spettrofotometrica.

Questa determinazione viene utilizzata per misurare il contenuto di ferro legato alla transferrina nel siero. Il siero sarà simulato utilizzando una soluzione acquosa equimolare di Fe(II) e Fe(III). Come agente riducente sarà utilizzato l'acido ascorbico. Sarà verificato inoltre il comportamento di due cromogeni o-fenantrolina e ferrozina*. In questo caso, a differenza dei campioni reali, non saranno utilizzati agenti precipitanti delle proteine come l'acido tricloroacetico. Inoltre l'acqua utilizzata deve essere priva di ferro.

- 1) Soluzione standard di ferro (1mg/ml)

Sciogliere (operare sotto cappa) mg 100 di ferro elettrolitico 99.9% in 10 ml di HCl 37% (eventualmente scaldare), raffreddare e portare a 100 ml con acqua.

- 2) Soluzione standard di lavoro (200 µg/dl)

In un matraccio da 500 ml introdurre 1 ml della soluzione standard e portare a volume con acqua.

- 3) Soluzione riducente e precipitante

Soluzione riducente ml 1000
HCl 0.30 M

(25 ml di HCl 37% sono portati ad un litro)
ac. ascorbico 0.063 M

(11 g. di ac. ascorbico sono solubilizzati con la sol. precedente)

- 4) Soluzioni cromogene

Soluzione cromogena ml 250 o-fenantrolina

A 68 g. di sodio acetato solubilizzato in 250 ml di acqua distillata (è necessario scaldare leggermente) si aggiungono mg 45 di o-fenantrolina (MW= 180.21)

Soluzione cromogena ml 250 FerroZina

A 68 g. di sodio acetato solubilizzato in 250 ml di acqua distillata (è necessario scaldare leggermente) si aggiungono mg 123 di FerroZina (MW= 492.47)

- materiali

Portaprovette, n° 6 provette graduate ml 10, n° 3 pipette tarate ml 2, propipetta, cuvette in plastica.

Segnare tre provette con **B** (bianco), **S** (standard), **C** (campione), aggiungere i seguenti volumi per ogni provetta:

| | B (bianco) ml | S (standard) ml | C (campione) ml |
|------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| acqua distillata | 2.0 | - | - |
| soluzione 2 | - | 2.0 | - |
| siero | - | - | 2.0 |
| soluzione 3 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |

Mescolare, attendere 5 min., centrifugare/decantare. Aggiungere per ognuna

| | | | |
|---------------------------------------|-----|-----|-----|
| soluzione cromogena di o-fenantrolina | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
|---------------------------------------|-----|-----|-----|

agitare, attendere 5 min.. Azzerare lo strumento con il bianco, leggere l'assorbanza dello standard e del campione a 511 nm

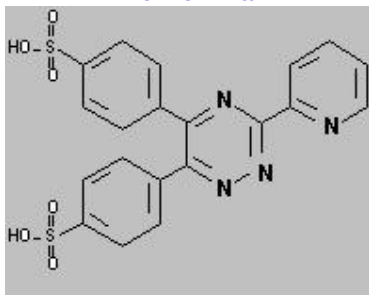
Ripetere le stesse operazioni con una serie nuova di provette fino a: Aggiungere per ognuna

| | | | |
|----------------------------------|-----|-----|-----|
| soluzione cromogena di FerroZina | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
|----------------------------------|-----|-----|-----|

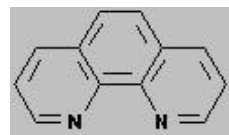
agitare, attendere 5 min.. Azzerare lo strumento con il bianco, leggere l'assorbanza dello standard e del campione a 562 nm

$$\text{Fe}_{\mu\text{g}/\text{dl}} = \frac{A_{\text{campione}}}{A_{\text{standard}}} \cdot 200$$

FerroZina



3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p,p'-disulfonic acid,
monosodium salt hydrate



1,10-Phenanthroline