

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МУРМАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
к лабораторным работам

По дисциплине: Б1.В.03.ДВ.01.02 Практические аспекты спектральных методов
анализа

указывается цикл (раздел) ОП, к которому относится дисциплина, название дисциплины

для направления подготовки (специальности) 04.04.01 Химия

код и наименование направления подготовки (специальности)

Физическая и коллоидная химия

наименование профиля /специализаций/образовательной программы

Квалификация выпускника, уровень подготовки магистр

(указывается квалификация (степень) выпускника в соответствии с ФГОС ВО)

Форма обучения: очная

Кафедра - разработчик: Химия

название кафедры - разработчика рабочей программы

Составитель – Новиков Андрей Игоревич, м.н.с.

МУ к лабораторным работам рассмотрены и одобрены на заседании кафедры-разработчика

Химии

название кафедры

24.06.2019 протокол № 12.

Правила оформления отчета о выполнении лабораторной работы.

Отчет о выполнении лабораторной работы оформляется письменно или в электронном виде с предоставлением индивидуального печатного варианта. Отчет должен содержать цели(задачи) лабораторной работы, ход её выполнения и выводы, сделанные на основе проведенного эксперимента.

Лабораторная работа 1.

Измерение УФ-спектров поглощения аминокислот в свободном состоянии

Цели работы: снять спектры поглощения аминокислот в различных растворителях; проверить справедливость закона Бугера-Ламберта-Бера; рассчитать молярные коэффициенты экстинкции аминокислот.

Оборудование и реактивы: спектрофотометр T-70 UV/VIS Spectrometer, аминокислоты: триптофан, тирозин, фенилаланин, серная кислота с концентрацией 5М и 13М, хлороводородная кислота с концентрацией 0,1н, гидроксид натрия с концентрацией 0,1н.

Теоретические сведения.

Ароматические аминокислоты обладают поглощением в ближнем ультрафиолете. Незначительный вклад в поглощение вносят также гистидин и пептидные связи. На рис. 1 приведены структурные формулы основных белковых хромофоров.

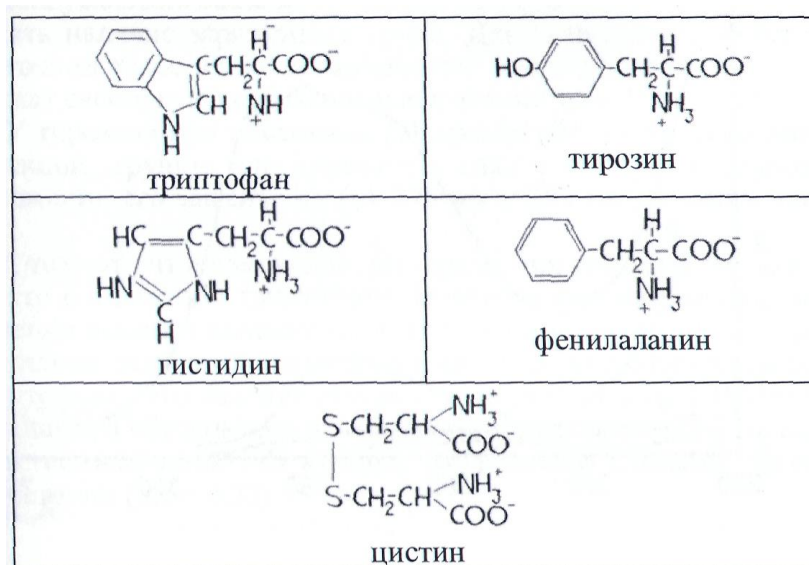


Рис. 1. Аминокислоты - белковые хромофоры

В области дальнего ультрафиолета ($\lambda < 210$ нм) сильно поглощают все аминокислотные остатки, в том числе и хромофоры ближнего ультрафиолета, а также пептидные связи. В видимой области аминокислотные остатки не поглощают. Для ароматических аминокислот характерны два максимума поглощения: основной находится при 210-220 нм, другой в ближнем ультрафиолете (260-280 нм).

В области ближнего ультрафиолета спектры хромофоров являются характеристическими. Несмотря на значительное перекрытие спектров, они заметно отличаются друг от друга по структуре: наличию и положению максимумов, их соотношению, по абсолютному значению молярных коэффициентов экстинкции, по полуширине полос поглощения, а также по тонкой структуре спектра (рис. 2, табл. 1).

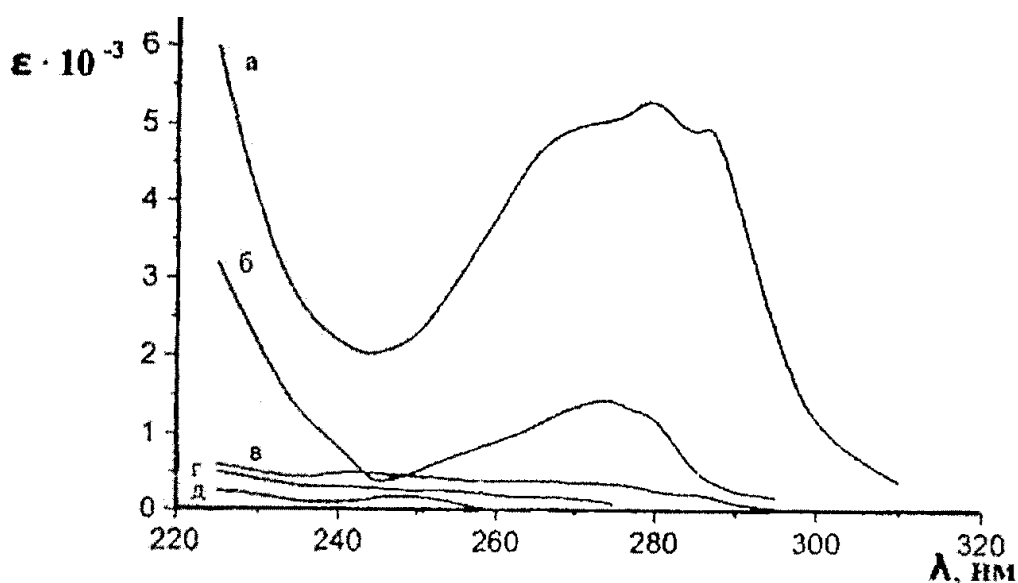


Рис. 2. Спектры поглощения при нейтральном рН триптофана (а), тирозина (б), гистидина (в), цистина (г), фенилаланина (д).

Таблица 1

Спектральные параметры аминокислот - хромофоров в ближнем ультрафиолете при нейтральном значении рН

Аминокислоты	Спектральные параметры		
	$\epsilon_{\text{макс}}$	Главный максимум	Тонкая структура спектра
			Дополнительные максимумы; λ , нм
Триптофан	5600	279,5	272, 288

Тирозин	1380	275	280
Фенилаланин	180	257	семь максимумов
Гистидин	80	240*	нет

*Спектр гистидина не структурирован, значения A уменьшаются с увеличением λ . Значения ϵ_{240} для гистидина приводятся для сравнения со значением $\epsilon_{\text{макс}}$ других аминокислот.

Из рис. 61 и табл. 14 видно, что ароматические аминокислоты обладают значительно большим поглощением, чем серосодержащие, причем $\epsilon_{\text{макс}}$ для триптофана приблизительно в 4 раза больше, чем для тирозина. Эти остатки имеют хорошо структурированные спектры, в которых в ближнем ультрафиолете, помимо главного максимума, можно наблюдать так называемые «плечи».

На спектр поглощения аминокислот может влиять наличие заряженных групп. Для аминокислот в свободном состоянии такое влияние оказывается заметным, поскольку они содержат свободные карбоксильные и аминогруппы.

У тирозина при изменении pH происходит также ионизация ионогенной группы, что приводит к сдвигу спектра, т.е. изменению положения его максимума (от 275 нм к 293 нм), а также значения $\epsilon_{\text{макс}}$.

Изменение pH среды практически не влияет на спектр поглощения триптофана. Однако в кислых условиях при изменении высоких концентраций H_2SO_4 в диапазоне 5-13 М происходит длинноволновый сдвиг и изменение формы спектра свободного триптофана. Это явление связано не со свободными NH или COOH группами, а обусловлено протонированием пиррольного кольца. При этом ионизируется NH группа, обладающая слабыми основными свойствами ($pK = 6,23$).

Порядок выполнения работы

Проведите в оптимальных условиях по значению оптической плотности ($A = 0,3 - 0,7$) измерение спектров поглощения аминокислот в интервале длин волн 200 – 350 нм в растворителях, указанных в табл. 2, и объясните наблюдаемые различия.

Таблица 2

Приготовление растворов аминокислот

№	Аминокислота	Концентрация мг/мл	Растворитель		
			H_2O	H_2SO_4	
1	Триптофан	0,0147	$\text{pH}=7,0$	5М	13М

2	Тирозин	0,053	H ₂ O pH=7,0	HCl 0,1 н	NaOH 0,1 н
3	Фенилаланин	0,352	H ₂ O pH=7,0	HCl 0,1 н	NaOH 0,1 н

Проверьте справедливость закона Ламберта-Бера - линейную зависимость оптической плотности от концентрации для растворов триптофана при нейтральном значении рН в концентрациях: 0,00735; 0,0147; 0,0294; 0,294 мг/мл.

По полученным значениям оптических плотностей рассчитайте молярные коэффициенты экстинкции триптофана, тирозина, фенилаланина при нейтральных значениях рН для длин волн 250 и 280 нм по формуле (1.1):

$$\varepsilon = \frac{A}{C \cdot l} \quad (1.1)$$

где ε - молярный коэффициенты экстинкции; A – оптическая плотность; C – концентрация, моль/л; l – толщина кюветы, см.

Контрольные вопросы:

1. Типы взаимодействия излучения с веществом
2. Как осуществляют качественный анализ в УФ-спектроскопии?
3. Как осуществляют количественный анализ в УФ-спектроскопии?

Лабораторная работа 2.

УФ-спектры поглощения белков

Цели работы: снять спектры белков в УФ-области; проверить справедливость закона Бугера-Ламберта-Бера; рассчитать молярные коэффициенты экстинкции.

Оборудование и реактивы: спектрофотометр T-70 UV/VIS Spectrometer, белки: рибонуклеаза, трипсин.

Теоретические сведения.

При нейтральных значениях рН спектр поглощения белка хорошо совпадает со спектром поглощения эквимольярной смеси составляющих белок аминокислот. В данном случае не учитывают вклад пептидных связей в поглощение и изменение спектров аминокислот при включении их в белки. Практически эти вклады незначительны. Изменение спектров индивидуальных аминокислот при формировании ими белковой молекулы объясняется следующим.

Прежде всего, образование пептидной связи снимает индуктивное влияние заряженных карбоксильных и аминных групп. Возможность изменения других ионогенных групп, таких как фенольной у тирозина и NH-группы у триптофана, и их влияние на спектры поглощения следует учитывать при включении этих остатков в белковую молекулу. Кроме того, при включении аминокислот в белки исчезает тонкая структура спектров, а также происходит небольшой сдвиг спектров (на 1-4 нм): коротковолновой для фенилаланина и длинноволновой для тирозина и триптофана.

Порядок выполнения работы.

Измерьте спектры поглощения белков в интервале длин волн 200 – 350 нм при концентрациях 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 мг/мл:

- трипсина (триптофаносодержащий белок),
- рибонуклеазы (тирозиносодержащий белок).

Проверьте справедливость закона Ламберта-Бера для перечисленных концентраций каждого белка.

Сравните спектры поглощения трипсина, рибонуклеазы и объясните различия.

Рассчитайте по формуле (1.1) для указанных белков ϵ в областях минимума и максимума белкового спектра из экспериментальных и табличных данных (таблица 2 и рис. 2). Сравните полученные результаты.

Таблица 3

Хромофоры белков

№	Белок	Растворитель	M	Содержание хромофоров				
				гистидин	цис-тин	фенил-аланин	тирозин	триптофан
1	Рибо- нуклеаза	H ₂ O	13700	4	8	3	6	0
2	Трипсин	H ₂ O	23800	3	12	3	9	4

Контрольные вопросы:

1. Закон Бугера-Ламберта-Бера
2. Применение спектров поглощения для качественного и количественного анализа.
3. Основные величины, используемые в абсорбционной спектроскопии
4. Что называют коэффициентом экстинкции?

Лабораторная работа 3.

Определение состава комплексного соединения и величин констант нестойкости

Цель работы: установить состав и величину константы нестойкости комплексного соединения кобальта с роданид-ионом.

Оборудование и реактивы: спектрофотометр, кюветы с крышками толщиной 1 см; мерные колбы объемом 50 см³; мерные пипетки или микробюретки; аналитические весы; бюксы с притертой крышкой объемом 10 см³; нитрат кобальта; роданид калия; ацетон.

Теоретические сведения.

В фотометрическом анализе количество вещества определяется по интенсивности окраски или светопоглощению окрашенных соединений. Окрашенные вещества в большинстве случаев представляют собой комплексные соединения. Интенсивность окраски растворов этих соединений зависит от их свойств и от состава среды.

Окрашенное комплексное соединение применяют для фотометрических измерений, если оно имеет постоянный состав. Постоянный состав окрашенного соединения является главным фактором, влияющим на точность фотометрических измерений. Основные причины непостоянства состава окрашенного соединения заключаются в следующем.

Изменение состава окрашенного комплекса в связи со ступенчатым характером его образования и диссоциации. Для того чтобы избежать ошибок из-за непостоянства интенсивности окраски анализируемых растворов, необходимо выбирать такие реагенты, с которыми определяемый ион будет образовывать прочный комплекс. Если такой реагент выбрать невозможно, то определение следует проводить при одинаковых избыточных концентрациях реагента в стандартном и исследуемом растворах.

Многие соединения изменяют интенсивность своей окраски во времени. В фотометрическом анализе используют окрашенные соединения, которые сохраняют устойчивую окраску не менее 10-15 минут. Если устойчивых окрашенных соединений получить не удастся, то используют стойкие имитирующие растворы, либо к исследуемому окрашенному раствору добавляют специальные стабилизирующие окраску вещества: желатин, крахмал, некоторые органические растворители.

Перед фотометрированием необходимо убедиться в возможности получения стойкой окраски исследуемого раствора. Для этого приготавливают 2-3 пробы окрашенного раствора и следят за изменением интенсивности его окраски во времени, сравнивая со свежеприготовленными окрашенными растворами той же концентрации или периодически измеряя оптическую плотность.

Посторонние ионы, способные к комплексообразованию, часто оказывают влияние на результат фотометрических измерений. Если определяемый ион М образует с реагентом R менее прочное соединение, чем с посторонним ионом, то определение иона М этим реагентом становится практически невозможным. В этом случае необходимо или удалить посторонний ион, или подобрать новый реагент, который образует с определяемым ионом более прочное соединение.

Количественно устойчивость комплекса MR_n может быть выражена константой нестойкости

$$K_{нест} = \frac{[M][R]^n}{[MR_n]}$$

или константой устойчивости $K_{уст.} = 1/K_{нест.}$ (n - число лигандов).

Прочность окрашенного соединения и его устойчивость в водных растворах увеличиваются с уменьшением константы нестойкости. Чем выше прочность окрашенного комплекса MR_n , тем полнее связывается определяемый ион М с реагентом R, тем больше точность и чувствительность фотометрического определения, и меньше влияние посторонних ионов, присутствующих в растворе. Поэтому реагенты для фотометрирования необходимо выбирать так, чтобы окрашенное соединение определяемого иона было достаточно устойчивым ($K \leq 1 \cdot 10^{-8}$) и более прочным, чем соединения этого иона с другими компонентами, присутствующими в растворе.

Порядок выполнения работы.

1. Приготовление рабочих растворов: а) 0,05М раствор нитрата кобальта. Рассчитанную навеску соли кобальта помещают в мерную колбу емкостью 50 см³ и растворяют в небольшом количестве ацетона. Общий объем раствора доводят до метки также ацетоном.

б) 0,05М раствор роданида калия. Рассчитанную навеску соли калия помещают в мерную колбу емкостью 50 см³ и растворяют в небольшом количестве ацетона. Объем раствора доводят до метки также ацетоном.

2. Приготовление смесей и измерение оптической плотности. В бюкс из микробюретки помещают 3,2 мл раствора нитрата кобальта в ацетоне и из другой микробюретки добавляют 0,8 мл раствора роданида калия в ацетоне. Смесью растворов перемешивают в бюксе с хорошо притертой крышкой. Перемешивание выполняют осторожно, т.к. парами ацетона может выбить крышку бюкса.

Если при перемешивании растворов образуется осадок, то ему дают отстояться, затем прозрачный раствор сливают в измерительную кювету с толщиной слоя 1 см. Кювету закрывают крышкой и измеряют оптическую плотность при длинах волн 650 нм, 570 нм и 500 нм.

Такие же операции выполняют, смешивая 2,4 мл раствора соли кобальта и 1,6 мл раствора роданида калия; 2,0 мл раствора соли кобальта и 2,0 мл раствора роданида калия; 1,33 мл раствора соли кобальта и 2,66 мл раствора роданида

калия; 1,0 мл раствора соли кобальта и 3,0 мл раствора роданида калия; 0,8 мл раствора соли кобальта и 3,2 мл раствора роданида калия; 0,57 мл раствора соли кобальта и 3,42 мл раствора роданида калия; 0,4 мл раствора соли кобальта и 3,6 мл раствора роданида калия. (Таким образом получают растворы с различным соотношением $\text{Co}^{2+} : \text{SCN}^-$).

Полученные значения оптической плотности заносят в таблицу 4.

Таблица 4

Экспериментальные данные.

№ n/n	Объем раствора соли кобальта, мл	Объем раствора роданида калия, мл	Отношение $\text{Co}^{2+} : \text{SCN}^-$	Оптическая плотность A при длине волны, нм		
				650	570	500

Рассчитывают отношение $\text{Co}^{2+} : \text{SCN}^-$ в растворе для каждой приготовленной смеси по порядку. Из таблицы 18 для данной длины волны находят наибольшее значение показания оптической плотности, соответствующее наиболее устойчивому комплексу при данном соотношении кобальта к роданиду, и пишут формулу комплекса.

3. Вычисление константы нестойкости. Для каждой длины волны строят график зависимости оптической плотности от состава исследуемого раствора. Пример такой зависимости приведен на рис. 3. К полученной кривой (A - соотношение $\text{Co}^{2+} : \text{SCN}^-$) проводят касательные, по точке пересечения которых находят значения A_0 и A_1 . По формуле $\alpha = (A_0 - A_1)/A_0$ находят степень диссоциации комплекса.

Константу нестойкости рассчитывают по формуле:

$$K_{\text{нест}} = \alpha^2 C / (1 - \alpha),$$

где C - общая концентрация раствора.

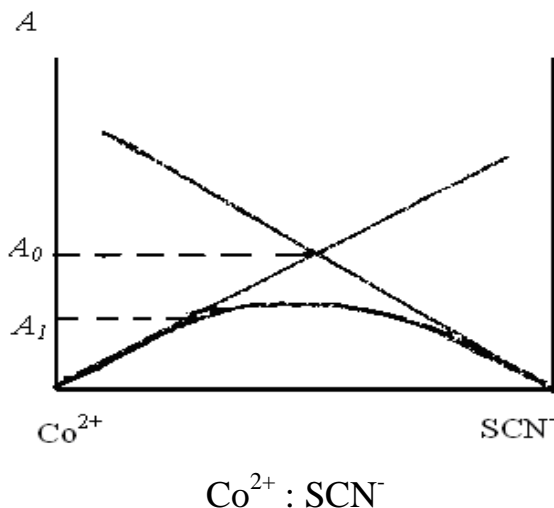


Рис. 3. Определение константы нестойкости комплексного соединения

Контрольные вопросы:

1. Какие соединения называют комплексными?
2. Что называют лигандом?
3. Что называют константой устойчивости комплексного соединения?
4. Как методом фотометрии определяют константу нестойкости комплекса?

Лабораторная работа 4.

Определение содержания в растворе бесцветных веществ методом ультрафиолетовой фотометрии. Количественное определение содержания висмута в свинце

Цель работы: освоить методику количественного определения содержания висмута с использованием ультрафиолетовой спектрофотометрии.

Оборудование и реактивы: ультрафиолетовый спектрофотометр T-70 UV/VIS Spectrometer, аналитические весы, мерные колбы емкостью 100 и 50 мл, стакан, пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл, воронка для фильтрования, фильтровальная бумага, стеклянная палочка; оксид висмута, водные растворы хлороводородной кислоты (1:1 и 0,2M), насыщенный раствор хлорида свинца, водный раствор азотной кислоты (1:2), 0,5%-й раствор хлорида железа(III), аммиак (1:2), бромид калия, аскорбиновая кислота, исследуемый образец (свинец + висмут).

Теоретические сведения.

Количественно висмут определяют фотометрическими методами, часто весовым путем в виде Bi_2S_3 , BiPO_4 , окси-хинолината и т.д., комплексометрически при pH 1-2 в присутствии 1-(2-пиридилазо)-2-нафтола, пирокатехинового фиолетового и др.

В спектрофотометрических методах определения висмута основным требованием является отсутствие свинца в исследуемом растворе. В основе определения содержания висмута в присутствии больших количеств свинца методом фотометрирования в ультрафиолетовой области спектра лежит различное отношение комплексных соединений висмута и свинца с бромидом калия к поглощению ультрафиолетовых лучей с длиной волны 365 нм. В этих условиях фотометрируется соединение висмута $\text{K}_3[\text{BiBr}_6]$, которое обладает максимумом поглощения при длине волны 365 нм. При этой длине волны поглощение комплекса свинца $\text{K}_3[\text{PbBr}_6]$ незначительно

Бромид калия в области длины волны 365 нм поглощением не обладает (его максимальное поглощение находится при 195 нм). Соляная кислота также не обладает поглощением в рабочей области спектра. Однако соляная кислота способна образовывать с висмутом комплекс H_3BiCl_6 с максимумом поглощения при 322 нм. Поэтому содержание соляной кислоты не может быть выше 0,2

моль/л. Мешающее влияние соляной кислоты и хлоридов можно устранить, добавляя избыточное количество бромида калия (1-1,5М) по сравнению с теоретическим (0,4М).

Определение проводят в присутствии хлороводородной кислоты из-за гидролиза висмута. Содержание хлороводородной кислоты должно быть точно учтено в исследуемом и стандартном растворах. Для устранения влияния железа в исследуемые растворы вводят аскорбиновую кислоту.

Порядок выполнения работы.

1. Приготовление стандартного раствора соли висмута. На аналитических весах отвешивают 0,1115 г оксида висмута и растворяют при легком нагревании в 5 мл соляной кислоты (1:1). После полного растворения раствор переносят в мерную колбу емкостью 100 мл; стакан ополаскивают 0,2М раствором соляной кислоты, сливая все в мерную колбу и доводя объем до метки раствором соляной кислоты (0,2М). Полученный раствор содержит 1 мг/мл висмута (1000 мкг/мл). Пипеткой Мора переносят 10 мл полученного раствора в мерную колбу емкостью 100 мл, доводят до метки 0,2М раствором соляной кислоты, тщательно перемешивают. Полученный раствор содержит 0,1 мг/мл (100 мкг/мл).

2. Построение калибровочного графика. В мерные колбы емкостью 50 мл помещают по 2 мл насыщенного раствора хлорида свинца, 5 мл насыщенного раствора бромида калия и добавляют стандартный раствор соли висмута; объем раствора доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Снимают спектральную характеристику одного из приготовленных стандартных растворов на УФ-спектрофотометре в кювете толщиной 1 см в интервале длин волн 200 – 500 нм (в качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду). Подбирают длину волны, соответствующую максимальному значению оптической плотности.

Для построения калибровочного графика измеряют оптическую плотность на выбранной длине волны серии растворов с содержанием в них висмута: 40, 80, 120, 160, 200, 240 и 280 мкг в 50 мл раствора.

3. Определение содержания висмута в анализируемом образце.

Навеску свинца (0,3-0,5 г), содержащего висмут, растворяют при нагревании в разбавленной (1:2) азотной кислоте. К полученному раствору добавляют 1 мл 0,5%-ного раствора хлорида железа(III) (5 мг), раствор нагревают и к нему по каплям добавляют аммиак (1:2) до выпадения гидроксида железа, который является коллектором для висмута (*pH раствора не должен превышать четырех*). Гидроксид железа, содержащий висмут, отфильтровывают, промывают горячей водой и растворяют в горячей 0,2М соляной кислоте.

Осадок растворяют непосредственно на фильтре. Количество хлороводородной кислоты должно быть минимальным. Фильтрат переносят в мерную колбу объемом 100 мл и добавляют 5 мл насыщенного раствора бромида

калия и аскорбиновую кислоту (10 мг); объем раствора в мерной колбе доводят до метки водой и тщательно перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора.

По калибровочному графику находят содержание висмута в анализируемой пробе. Рассчитывают процентное содержание висмута в исходном образце.

Контрольные вопросы:

1. Основы УФ-спектроскопии
2. Перечислите основные узлы спектрофотометра.
3. Закон Бугера-Ламберта-Бера.
4. Построение калибровочного графика.

Лабораторная работа 5.

Фотометрическое количественное определение содержания хрома в растворе

Цели работы: снять спектральную характеристику раствора, определить содержание хрома в образце стали.

Оборудование и реактивы: спектрофотометр, кюветы, воронка для фильтрации, стеклянная палочка; бихромат калия, серная кислота (1:3) и (1:9), дифенилкарбазид (0,1%-й раствор), ледяная уксусная кислота, этиловый спирт или ацетон, азотная кислота концентрированная, сталь, перманганат калия (1 %-й раствор), карбонат натрия, мерные колбы емкостью 50 и 100 см³, мерные пипетки, коническая колба емкостью 100 мл.

Теоретические сведения.

Фотометрическое определение хрома возможно с использованием растворов, окрашенных за счет ионов $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ или CrO_4^{2-} , а также в результате образования соединений бихромата с бензидином. В фотометрическом анализе хром определяют в виде иона $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.

Ион шестивалентного хрома, содержащийся в хромовой кислоте, окисляет дифенилкарбазид с образованием растворимого красно-фиолетового соединения. Окрашенный продукт окисления легко экстрагируется изоамиловым спиртом. Действие хромовой кислоты на дифенилкарбазид специфично, так как многие другие окислители не дают такого окрашивания с этим реагентом. При недостаточном количестве реагента избыток Cr^{+6} окисляет окрашенное соединение с образованием бесцветного продукта. Реакция иона шестивалентного хрома с дифенилкарбазидом чрезвычайно чувствительна. Для обеспечения полноты реакции требуется 1,5-2-кратный избыток реагента. Максимальное значение оптической плотности наблюдается при длине волны 540 нм, толщине кюветы 10

мм, концентрации хромовой кислоты $0,25 \text{ моль/дм}^3$. Окраска развивается в течение нескольких секунд и устойчива 1,5-2 часа при температуре не выше 22° .

Мешают определению иона Cr^{+6} : ионы шестивалентного молибдена при содержании свыше 0,5-1 мг в 50 мл раствора, ванадий - при более чем 10-кратном избытке по отношению к хрому, а также серебро и свинец, осаждающие хромовую кислоту.

Порядок выполнения работы.

1. Приготовление стандартного раствора соли хрома. 0,05 г химически чистого перекристаллизованного бихромата калия растворяют в воде в мерной колбе емкостью 100 мл и разбавляют водой до метки; хорошо перемешивают и 10 мл полученного раствора переносят в колбу емкостью 100 мл и доводят водой до метки. 1 мл этого раствора содержит 0,017 мг хрома.

2. Построение калибровочного графика. В 9 мерных колб емкостью 50 мл каждая помещают по 1 мл; 1,5 мл; 2,5 мл; 3,5 мл; 4,0 мл; 5,0 мл; 6,0 мл; 7,0 мл и 8,0 мл стандартного раствора, отбираемого мерной пипеткой. Туда же вносят по 5 мл разбавленной (1:3) серной кислоты (осторожно, небольшими порциями!) и охлаждают до комнатной температуры. К охлажденным растворам прибавляют по 5 мл 0,1%-ого раствора дифенилкарбазида (0,1 г дифенилкарбазида растворяют на холоду в 10 мл ледяной уксусной кислоты и прибавляют 90 мл этилового спирта или ацетона), доводят объем до метки водой и тщательно перемешивают.

Снимают спектральную характеристику одного из приготовленных растворов на спектрофотометре в кювете толщиной 1 см (в качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду). Подбирают длину волны, соответствующую максимальному значению оптической плотности.

Через 10 минут после приготовления растворов измеряют оптическую плотность растворов на выбранной длине волны по сравнению с водой. По полученным данным строят калибровочный график: по оси ординат откладывают оптическую плотность, по оси абсцисс - концентрацию раствора соли хрома в мкг/мл.

3. Определение хрома в образце стали (*опыт выполняют в вытяжном шкафу*). Навеску стали 0,1-0,2 г растворяют при нагревании в 10 мл разбавленной (1:9) серной кислоте в конической колбе емкостью 100 мл. Далее к раствору для разрушения карбидов приливают по каплям концентрированную азотную кислоту до прекращения вспенивания раствора. Раствор кипятят до его полного осветления и удаления окислов азота. Затем к кипящему раствору добавляют по каплям 2-3 мл 1 %-го раствора перманганата калия и продолжают кипячение до полного разрушения перманганата (раствор не должен иметь розовой окраски). После этого раствор быстро охлаждают и к нему небольшими порциями прибавляют сухой карбонат натрия для осаждения железа.

4. Полученный раствор с осадком количественно переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, доводят объем раствора до метки водой, хорошо перемешивают, дают отстояться и фильтруют в чистую колбу (первую порцию фильтрата отбрасывают). Отбирают аликвоту 25 мл. Помещают её в мерную колбу емкостью 50 мл, добавляют 10 мл разбавленной (1:3) серной кислоты (осторожно! небольшими порциями, при перемешивании!), охлаждают раствор до комнатной температуры, приливают 5 мл 0,1%-ого раствора дифенилкарбазида и доводят объем раствора до метки водой.

После тщательного перемешивания (особо осторожно, так как выделяющаяся углекислота может выбросить раствор!) измеряют оптическую плотность раствора при выбранной ранее длине волны в кювете с толщиной слоя 1 см. Содержание хрома в анализируемой пробе находят по калибровочному графику.

Если значение оптической плотности анализируемого раствора не укладывается на калибровочной зависимости, то следует выполнить дополнительное разведение раствора (в случае больших значений оптической плотности), или взяв меньше аликвоту, приготовить новый раствор.

Контрольные вопросы:

1. Как осуществляется выбор длины волны при проведении количественного спектрофотометрического анализа?
2. Основы УФ-спектроскопии.
3. Закон Бугера-Ламберта-Бера.
4. Погрешности при измерении спектров пропускания