Određivanje stehiometrije i konstante formiranja kompleksa Cu(I) i neokuproina korištenjem slijedne analize injektiranjem spektofotometrijski detektor te klasične spektofotometrije

Božinović Karauz, Marijan

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:420443

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

Određivanje stehiometrije i konstante formiranja kompleksa Cu(I) i batokuproin disulfonske kiseline korištenjem slijedne analize injektiranjem uz spektrofotometrijski detektor te klasične spektrofotometrije

ZAVRŠNI RAD

NIKOLINA ANĐELKOVIĆ

253

SPLIT, rujan 2017.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

Određivanje stehiometrije i konstante formiranja kompleksa Cu(I) i batokuproin disulfonske kiseline korištenjem slijedne analize injektiranjem uz spektrofotometrijski detektor te klasične spektrofotometrije

ZAVRŠNI RAD

NIKOLINA ANĐELKOVIĆ

253

SPLIT, rujan 2017.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMISTRY

Determination of stoichiometry and formation constant of Cu(I) and bathocuproine disulfonic acid using Sequential Injection Analysis with spectrophotometric detector and classical spectrophotometric method

BACHELOR THESIS

NIKOLINA ANĐELKOVIĆ

253

SPLIT, September 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu
Studij preddiplomski studij kemije

Znanstveno područje: prirodne znanosti
Znanstveno polje: kemija
Tema radaje prihvaćena na 21. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta
Mentor:doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun
Pomoć pri izradi: Maja Biočić, mag. ing. cheming.

Određivanje stehiometrije i konstante formiranja kompleksa Cu(I) i batokuproin disulfonske kiseline korištenjem slijedne analize injektiranjem uz spektrofotometrijski detektor te klasične spektrofotometrije

Nikolina Anđelković, 253

Sažetak:

Cilj istraživanja koje je prikazano u ovom radu je spektrofotometrijsko određivanje bakra(I) u obliku kompleksnog spoja s batokuproin disulfonskom kiselinom (BCS) primjenom klasične spektrofotometrije i slijedne analize injektiranjem. Opisane metode temelje se na redoks reakciji i reakciji nastajanja kompleksa. U prvom stupnju L-askorbinska kiselina reducira bakrov(II) ion do bakrovog(I) iona, koji u drugom stupnju formira narančasti kompleks $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ čiji se apsorpcijski maksimum bilježi pri 483 nm. Metodom molarnih omjera i metodom kontinuirane varijacije određena je stehiometrija spoja Cu^+ : BCS = 1 : 2. Konstanta formiranja nastalog kompleksa iznosi $K_f = 4{,}6 \times 10^{10}$te su određene spektrometrijske karakteristike koje uključuju molarnu apsorptivnost (ε = 10 675 L mol^{-1} cm^{-1}) i Sandellovu osjetljivost ($S = 5{,}95 \times 10^{-6}$ µg cm^{-2}). Konstruirana je krivulja umjeravanja na temelju eksperimentalnih podataka predložene reakcije formiranog kompleksa za određivanje bakra(I). Postignuta je linearnost u području koncentracija od $4{,}0 \times 10^{-7}$ do $1{,}0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}, uz jednadžbu pravca $y = 19661\,x + 0{,}048$. Izračunate su vrijednosti granica dokazivanja $1{,}2 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} i granica određivanja $4{,}0 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}. Slijednom analizom injektiranjem uz metodu kontinuirane varijacije također je određena, te potvrđena stehiometrija kompleka. Metode analize u protoku, točnije metoda slijedne analize injektiranjem pruža prednost primjene naspram klasične spektrofotometrije. Razlog tome je niska potrošnja otopina analita i reagensa uz malu količinu otpadnih tvari te brzu, automatiziranu i ponovljivu analizu.

Ključne riječi: bakar(I), batokuproin disulfonska kiselina (BCS), spektrofotometrija, slijedna analiza injektiranjem
Rad sadrži: 36 stranica, 20 slika, 7 tablica, 0 priloga, 21 literaturnih referenci
Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

1. doc. dr. sc. Ivica Blažević - predsjednik
2. doc. dr. sc. Franko Burčul - član
3. doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun –član-mentor

Datum obrane: 29.09.2017.
Rad je u tiskanom i elektroničnom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Study Undergraduate study of chemistry

Scientific area: Nature Science
Scientific field: Chemistry
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21.
Mentor: Lea Kukoč Modun, Assistant Prof. PhD
Technical assistance: Maja Biočić, mag. ing. cheming.

Determination of stoichiometry and formation constant of Cu(I) and bathocuproine disulfonic acid using Sequential Injection Analysis with spectrophotometric detector and classical spectrophotometric method

Nikolina Anđelković, 253

Abstract:

The aim of the research presented in this thesis is the spectrophotometric determination of copper(I) compound in a complex formed with batocuproin disulfonic acid (BCS) using classical spectrophotometry and sequential injection analysis. The described methods are based on the redox reaction and complex formation reaction. In the first stage, the L-ascorbic acid reduces the copper(II) ion to the copper(I) ion, which in the second stage forms an orange complex $[Cu(BCS)_2]^{-3}$ with whose absorption peak at 483 nm. The stoichiometry of the measured compound using molar ratio method and continuous variation method was Cu^+: BCS = 1: 2. Calculated formation constant of the resulting complex was $K_f = 4{,}6 \times 10^{10}$. The spectrometric characteristics were also calculated and include molar absorptivity (ε = 10 675 L mol^{-1} cm^{-1}) and Sandell's sensitivity ($S = 5{,}95 \times 10^{-6}$ μg cm^{-2}). The calibration curve was constructed for the determination of copper(I) based on the experimental data and it follows the equation $y = 19661\ x + 0{,}048$. The graph was linear in the concentration range of $4{,}0 \times 10^{-7}$ to $1{,}0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}. By the sequential injection analysis the stoichiometry is confirmed using continuous variation method. Flow analysis method, more specifically, sequential injection analysis, provides greater advantage over conventional spectrophotometry. The reason for this is the low consumption of analytes and reagent solutions with a small amount of waste and a fast, automated and repeatable analysis.

Keywords: copper(I), bathocuproine disulfonic acid (BCS), spectrophotometry, Sequential Injection Analysis
Thesis contains: 36 pages, 20 figures, 7 tables, 0 supplements, 21 references
Original in: Croatian

Defence committee:

1. PhD Ivica Blažević, Assistant Professor – chair person
2. PhD Franko Burčul, Assistant Professor - memeber
3. PhD Lea Kukoč Modun, Assistant Professor – supervisor

Defence date: 29.09.2017.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Lee Kukoč Modun uz neposredno vodstvo Maje Biočić, mag. ing. cheming. u razdoblju od veljače do lipnja 2017. godine.

Iskreno se zahvaljujem članovima Zavoda za analitičku kemiju, posebno svojoj mentorici doc. dr. sc. Lei Kukoč Modun, te asistentici Maji Biočić mag. ing. cheming. *na pomoći pri izvedbi ekperimentalnog dijela rada. Želim se zahvaliti i članovima komisije doc.* dr. sc. *Ivici Blaževiću i doc.* dr. sc. *Franku Burčulu na korisnim savjetima tijekom izrade ovoga rada.*

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na neizmjernoj podršci tijekom studija.

Nikolina Anđelković

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak završnog rada je odrediti stehiometriju i konstantu formiranja kompleksa bakar(I) i batokuproin disulfonske kiseline primjenom klasične spektrofotometrije i slijedne analize injektiranjem uz spektrofotometrijski detektor. Nadalje je potrebno odrediti spektralne karakteristike formiranog kompleksa: molarnu apsorptivnost te Sandellovu osjetljivost.

Određivanje sastava formiranog kompleksa uključuje dvije metode:

1. Metodu molarnih omjera;
2. Metodu kontinuirane varijacije.

Kemijska reakcija formiranja kompleksa između bakra(I) i batokuproin disulfonske kiseline primjenit će se na razvoj metode određivanja bakra(I) te je potrebno odrediti i analitičke karakteristike razvijene metode:

a) područje djelovanja Beerovog zakona (linearno dinamičko područje-LDP);
b) jednadžbu regresijskog pravca;
c) koeficijent linearne regresije R^2;
d) granicu dokazivanja i granicu određivanja.

SAŽETAK

Cilj istraživanja koje je prikazano u ovom radu je spektrofotometrijsko određivanje bakra(I) u obliku kompleksnog spoja s batokuproin disulfonskom kiselinom (BCS) primjenom klasične spektrofotometrije i slijedne analize injektiranjem. Opisane metode temelje se na redoks reakciji i reakciji nastajanja kompleksa. U prvom stupnju L-askorbinska kiselina reducira bakrov(II) ion do bakrovog(I) iona, koji u drugom stupnju formira narančasti kompleks $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ čiji se apsorpcijski maksimum bilježi pri 483 nm. Metodom molarnih omjera i metode kontinuirane varijacije određena je stehiometrija spoja Cu^+ : BCS = 1 : 2. Konstanta formiranja nastalog kompleksa iznosi K_f = 4,6 × 10^{10}, te su određene spektrometrijske karakteristike koje uključuju molarnu apsorptivnost (ε = 10 675 L mol^{-1} cm^{-1}) i Sandellovu osjetljivost (S = 5,95 × 10^{-6} µg cm^{-2}). Konstruirana je krivulja umjeravanja na temelju eksperimentalnih podataka predložene reakcije formiranog kompleksa uz bakar(I) kao analit. Postignuta je linearnost u području koncentracija od 4,0 × 10^{-7} do 1,0 × 10^{-4} mol L^{-1}, uz jednadžbu pravca y = 19661 x + 0,048. Izračunate su vrijednosti granica dokazivanja 1,2 × 10^{-7} mol L^{-1} i granica određivanja 4,0 × 10^{-7} mol L^{-1}. Slijednom analizom injektiranjem uz metodu kontinuirane varijacije također je određena, te potvrđena stehiometrija kompleksa. Metoda analize u protoku, točnije metoda slijedne analize injektiranjem pruža prednost primjene naspram klasične spektrofotometrije. Razlog tome je niska potrošnja otopina analita i reagensa uz malu količinu otpadnih tvari te brzu, automatiziranu i ponovljivu analizu.

Ključne riječi: bakar(I), batokuproin disulfonska kiselina (BCS), spektrofotometrija, slijedna analiza injektiranjem

SUMMARY

The aim of the research presented in this thesis is the spectrophotometric determination of copper(I) compound in a complex formed with batocuproin disulfonic acid (BCS) using classical spectrophotometry and sequential injection analysis. The described methods are based on the redox reaction and complex formation reaction. In the first stage, the L-ascorbic acid reduces the copper (II) ion to the copper (I) ion, which in the second stage forms an orange complex $[Cu(BCS)_2]^{-3}$ with whose absorption peak is recorded at 483 nm. The stoichiometry of the measured compound using molar ratio method and continuous variation method was Cu^+: BCS = 1 : 2. Calculated formation constant of the resulting complex was $K_f = 4{,}6 \times 10^{10}$, and spectrometric characteristics that include molar absorptivity (ε = 10 675 L mol^{-1} cm^{-1}) and Sandell's sensitivity ($S = 5{,}95 \times 10^{-6}$ µg cm^{-2}). The calibration curve was constructed for the determination of copper(I) based on the experimental data, and it follows the equation $y = 19661\ x + 0{,}048$. The graph was linear in the concentration range of $4{,}0 \times 10^{-7}$ to $1{,}0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}. By the sequential injection analysis method the stoichiometry is confirmed using continuous variation method. Flow analysis method, more specifically, sequential injection analysis, provides greater advantage over conventional spectrophotometry. The reason for this is the low consumption of analytes and reagent solutions with a small amount of waste and a fast, automated and repeatable analysis.

Keywords: copper(I), bathocuproine disulfonic acid (BCS), spectrophotometry, Sequential Injection Analysis

Sadržaj

1. UVOD 2
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. Kompleksni spojevi 3
2.1.1. Reakcije nastajanja kompleksa 3
2.1.2. Mehanizam nastajanja kompleksa i konstanta nastajanja kompleksa 4
2.2. Spektroskopske analitičke metode 5
2.2.1. Elektromagnetski spektar 5
2.2.2. Apsorpcija zračenja 6
2.2.4. Beerov zakon 7
2.3. Određivanje sastava kompleksnog spoja bakar(I) batokuproin disulfonska 9
2.3.1. Metoda molarnih omjera 9
2.3.2. Metoda kontinuirane varijacije 9
2.4. Analiza u protoku 10
2.4.1. Slijedno injektiranje 10
2.4.2. Formiranje zona 11
2.5. Batokuproin disulfonska kiselina (BCS) 13
3. EKSPERIMENTALNI DIO 15
3.1. Materijali 15
3.1.1. Priprava otopina 15
3.2. Instrumentacija 16
3.2.1. Spektrofotometar 16
3.2.2. Sustav za slijednu analizu injektranjem 17
3.2.3. Ostala instrumentacija 18
3.3. Metode rada 19
3.3.1. Metoda molarnih omjera 19
3.3.2. Metoda kontinuirane varijacije 21
3.3.3. Krivulja umjeravanja i linearno dinamičko područje 22
3.3.4. Slijedna analiza injektiranjem (SIA) 24
4. REZULTATI I RASPRAVA 26
4.1. Metoda molarnih omjera klasičnom spektrofotometrijom 26
4.2. Metoda kontinuirane varijacije 28
4.3. Linearno dinamičko područje, LDP 30
4.4. Slijedna analiza injektiranjem 32

5. ZAKLJUČAK 34
6. LITERATURA 35

1. UVOD

Kompleksni spojevi su kemijski spojevi u kojima ioni ili molekule tvore kordinacijske veze s atomima ili ionima metala. Ligand je molekula ili ion koji s ionom metala tvori kovalentnu vezu tako što mu daje elektronski par. Koordinacijski broj predstavlja broj kovalentnih veza koje ion metala može stvoriti s ligandom.

U ovome radu razmatrat će se formiranje kompleksa metala bakra(I) i liganda batokuproin disulfonske kiseline te odrediti osnovne karakteristike ovog kompleksa uz pomoć spektrometrijske tehnike. Batokuproin disulfonska kiselina (engl. *bathocuproine disufolic acid*, BCS), je kiselina koja ima visoku selektivnost i osjetljivost prema bakru(I) te se koristi kao kelatirajući reagens u spektrometrijskom određivanju bakra.

Spektroskopija je grana znanosti koja se bavi svjetlošću razlučenom u valne duljine koje tvore spektar. Spektrometrijske tehnike se učestalo koriste zbog svoje jednostavnosti, ekonomske prihvatljivosti i široke dostupnosti. Korištena je klasična spektrometrija u vidljivom području. Razmatrana je reakcija nastajanja narančastog kompleksa $[Cu\ (BCS)_2]^{3-}$ koji apsorbira pri valnoj duljini od 483 nm.

U radu se koristi i slijedna analiza injektiranjem (SIA) sa spektrofotometrijskim detektorom. Ona ima mnoge prednosti kao što su jednostavnost i ponovljivost te mogućnost automatizacije analize.

Stehiometrija i konstanta formiranja razmatranog kompleksa određene su metodom molarnih omjera i metodom kontinuirane varijacije.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Kompleksni spojevi

Kompleksni spojevi su kemijski spojevi u kojima molekule ili ioni tvore kordinacijske veze s atomima ili ionima metala.

Ligand je molekula ili ion koji s ionom metala tvori kovalentnu vezu tako što mu daje elektronski par. Taj elektronski par ostaje podijeljen između liganda i iona metala. Za stvaranje veze ligandi moraju imati najmanje jedan slobodan elektronski par. Ovisno o broju slobodnih elektronskih parova, ligandi mogu biti: monodentatni, bidentatni, tridentatni, tetradentatni, pentadentatni i heksadentatni.

Koordinacijski broj predstavlja broj kovalentnih veza koje ion metala može stvoriti s ligandom. Spojevi koji nastaju ravnotežom nastanja kompleksa mogu biti neutralni, negativni ili pozitivni.[1]

2.1.1. Reakcije nastajanja kompleksa

Kada su stvoreni uvijeti za nastanje kompleksa, u otopini se uspostavlja dinamička ravnoteža. Ona podrazumijeva trajan proces nastajanja i razgradnje kompleksa:

$$\mathrm{M} + \mathrm{L} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ML}\,.$$

U ravnotežnom stanju se brzine nastajanja i razgradnje izjednačuju:

$$k_1 \times [\mathrm{M}] \times [\mathrm{L}] = k_{-1} \times [\mathrm{ML}].$$

Iz navedenog slijedi:

$$\frac{[\mathrm{ML}]}{[\mathrm{M}] \times [\mathrm{L}]} = \frac{k_1}{k_{-1}} = K_1\,.$$

Konstanta ravnoteže (K_1) određena je odnosom konstanti brzine reakcije nastajanja (k_1) i razgradnje (k_{-1}).[1]

2.1.2. Mehanizam nastajanja kompleksa i konstanta nastajanja kompleksa

Prije dodatka liganda, ioni metala okruženi su molekulama otapala. Zbog toga ligandi ne zauzimaju slobodna koordinacijska mjesta, već se ugrađuju u strukturu kompleksa tako što istiskuju molekule otapala.

Istiskivanje molekula otapala teče postepeno. U reakciji s monodentatnim ligandom ioni metala gube najprije jednu molekulu vode, zatim drugu itd. Broj zamijenjenih molekula ovisit će o koncentraciji dodanog liganda.

$$\mathrm{M}^{n+} + \mathrm{L}^{v-} \rightleftarrows \mathrm{ML}^{(n-v)+} \qquad K_1$$

U reakcijama nastajanja kompleksa, u vodenim otopinama, voda koja se oslobodi ne utječe na stanje ravnoteže. Za prikaz nastajanja kompleksa rabe se reakcije adicije i pripadajuće pojedinačne konstante formiranja (nastajanja) kompleksa, K_f.

Za gore navedenu jednadžbu, konstanta nastajanja ima oblik:

$$K_\mathrm{f} = \frac{\left[\mathrm{ML}^{(n-v)+}\right]}{\left[\mathrm{M}^{n+}\right] \times \left[\mathrm{L}^{v-}\right]}.$$

Konstante nastajanja pružaju informaciju o koncentraciji različitih kompleksa koje metal tvori u određenim ravnotežnim smjesama.

Kelatni efekt jest sposobnost povezivanja polidentatnih liganda u stabilnije komplekse metala od onih koje tvore monodentatni ligandi.[1]

2.2. Spektroskopske analitičke metode

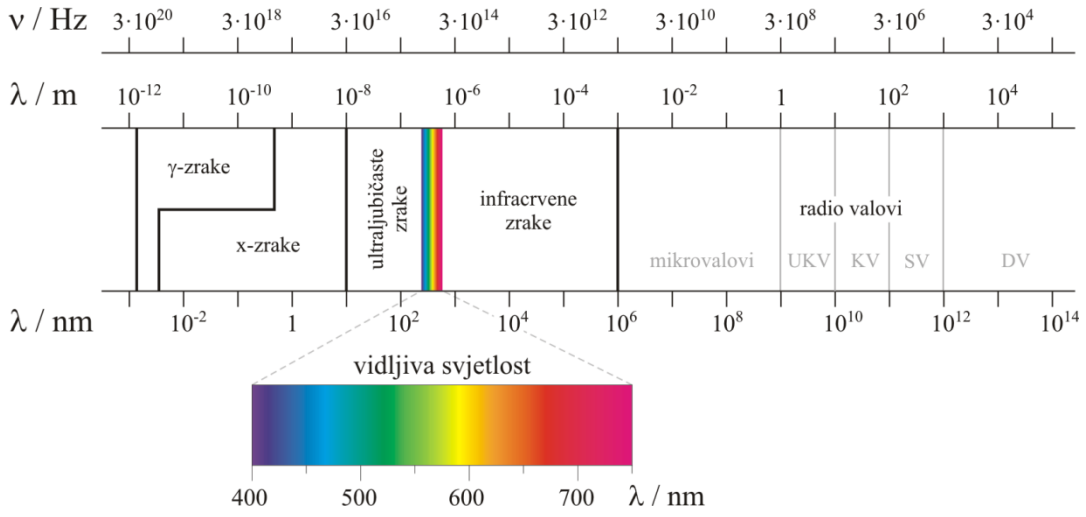
Spektroskopija je grana znanosti koja se bavi svjetlošću razlučenom u valne duljine koje tvore spektar. Spektroskopija se primjenjuje u mnogim granama prirodnih znanosti jer daje informaciju o sastavu i građi tvari. Najširа upotreba je u analitičke svrhe.

2.2.1. Elektromagnetski spektar

Elektromagnetsko zračenje je vrsta energije koja velikom brzinom prolazi kroz prostor. Njegova se svojstva opisuju frekvencijom, brzinom, valnom duljinom i amplitudom. Elektromagnetsko zračenje promatra se kao struja pojedinačnih čestica energije koje se nazivaju fotonima. Energija fotona E je pritom razmjerna frekvenciji zračenja ν te je prikazana jednadžbom:

$$E = h \cdot \nu$$

u kojoj je h Planckova konstanta koja iznosi $6{,}63 \times 10^{-34}$ J s.

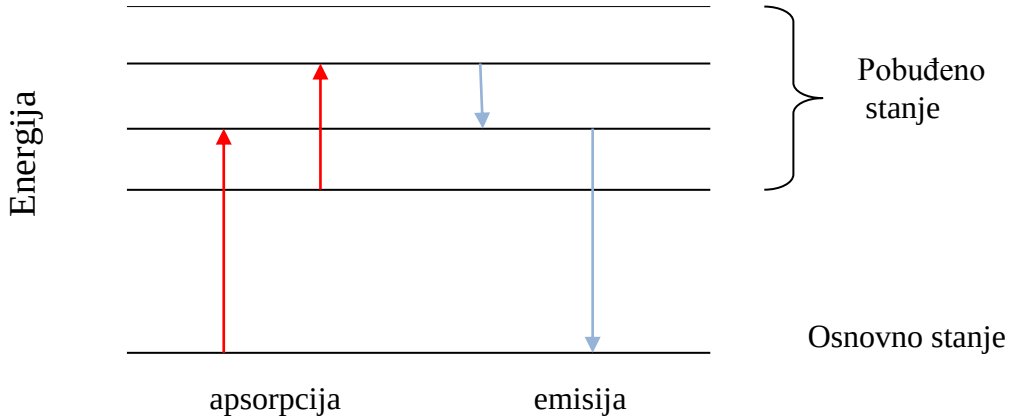


Slika 2-1 Osnovna podjela elektromagnetskog spektra[2]

Područje valnih duljina od 190 do 1100 nm primjenjivo je u analitičkoj spektroskopiji jer posjeduje energiju koja odgovara energijama pojedinih elektronskih prijelaza.[3] U atomima i molekulama postoji više energijskih razina, a energija apsorbiranog ili emitiranog zračenja odgovara razlici između tih razina.

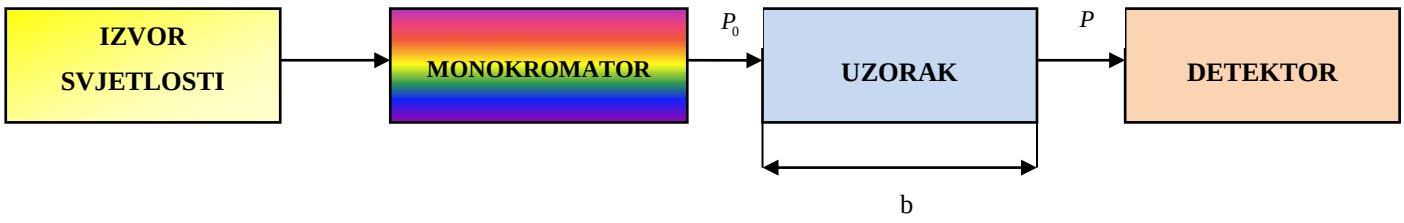
2.2.2. Apsorpcija zračenja

Kada molekula emitira foton, energija molekule se smanjuje. Ako molekula apsorbira foton, energija molekule se poveća. Kažemo da je molekula u *pobuđenom stanju*. Najniže energijsko stanje molekule naziva se *osnovno stanje* (slika 2-2).[4]



Slika 2-2 Energijski prijelaz elektrona uslijed emisije odnosno apsorpcije

Kada uzorak apsorbira svjetlost, zračenje snopa svjetlosti se smanjuje. Snaga zračenja, P, je energija zračenja koja u 1 sekundi pada na 1 cm^2 površine detektora. Svjetlost se propušta kroz monokromator (prizma, rešetka ili filter) za odabir jedne valne duljine, ili vrpce bliskih valnih duljina. Monokromatska svijetlost, uz zračenje P_0, udari u uzorak duljine b. Izraz zračenja koje izlazi s druge strane uzorka je P. Kada je svjetlost apsorbirana od strane uzorka, $P \leq P_0$.[4]



Slika 2-3 Shematski dijagram jednosnopnog spektrometrijskog eksperimenta

Transmitacija *T* otopine definira se kao dio upadnog zračenja koje prolazi kroz otopinu i izražava se u postocima:

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Apsorbancija *A* otopine definira se jednadžbom:

$$A = -\log_{10} T = -\log \frac{P}{P_0} = \log \frac{P_0}{P}$$

Nasuprot transmitaciji, apsorbancija otopine povećava se s prigušivanjem osnovnog snopa.[5]

2.2.4. Beerov zakon

Beerov zakon je funkcijski odnos između veličine mjerene apsorpcijskom metodom (*A*) i one koju određuje koncentracija (*c*).

$$A = \log \frac{P_0}{P} = a \cdot b \cdot c$$

Apsorptivnost (apsorpcijski koeficijent), *a*, je konstanta proporcionalnosti, a *b* predstavlja duljinu puta zračenja kroz uzorak. Budući da je apsorpcija veličina bez dimenzije, jedinica za apsorptivnost određuje se uz pretpostavku da je lijeva strana jednadžbe bezdimenzijska.

Kada se koncentracija u prvoj jednadžbi izražava u molovima po litri, a *b* u centimetrima, konstanta proporcionalnosti naziva se molarnom apsorptivnošću (molarnim apsorpcijskim koeficijentom) s uobičajenim simbolom ε.

Tada je

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \ ;$$

gdje se ε izražava u L cm^{-1} mol^{-1}.[5]

Sandellova osjetljivost (engl. *Sandell´s sensitivity*) definirana je kao količina tvari izražena u miligramima koja je nužna za postizanje apsorbancije od 0,001. Sandellova osjetljivost izražava se u μg cm^{-2}, a može se izračunati koristeći slijedeći izraz

$$S = \frac{10^{-3}}{a} \quad \left(\mu g\ cm^{-2}\right) \ ;$$

kada je *a* apsorptivnost izražena u jedinicama L g^{-1} cm^{-1}.[6]

2.2.4.1. Ograničenje Beerovog zakona

Prema Beerovom zakonu, apsorbancija je proporcionalna koncentraciji apsorbirajuće vrste. Kemijska odstupanja posljedica su asocijacije, disocijacije ili reagiranja vrste koja apsorbira, s otapalom, pri čemu nastaju produkti čije se apsorpcijske značajke razlikuju od značajki analita.

Beerov zakon vrijedi za monokromatska zračenja u razrijeđenim otopinama ($c \leq 0{,}01$ mol L^{-1}). Kad su koncentracije vrsta od interesa veće od 0,01 mol L^{-1} smanjuju se udaljenosti između čestica vrste koja apsorbira do stupnja pri kojem svaka čestica utječe na raspodjelu naboja na susjednim česticama. To za posljedicu ima odstupanje od linearnog odnosa apsorbancije o koncentraciji.

Ako se u razrijeđenim otopinama tvari koje aspsorbiraju, nalaze velike koncentracije drugih vrsta, pojavljuje se sličan učinak, jer blizina stranih iona i tvari koje apsorbiraju mijenja molarnu apsorptivnost ove druge, što uzrokuje odstupanje od Beerovog zakona.[3]

2.3. Određivanje sastava kompleksnog spoja bakar(I) batokuproin disulfonska

Spektrofotometrija je korisna tehnika za određivanje sastava kompleksnih iona i za određivanje njihovih konstanti nastajanja. Prednost ove tehnike jest u tome da se kvantitativna apsorpcijska mjerenja izvode bez narušavanja ravnoteža. Dvije su metode određivanja sastava kompleksnog spoja: (a) metoda molarnih omjera, (b) metoda kontinuirane varijacije.[3]

2.3.1. Metoda molarnih omjera

Primjena ove metode temelji se na pripremi niza otopina u kojima je analitička koncentracija jednog od reaktanata stalna (to je najčešće koncentracija kationa), a koncentracija drugog se mijenja. Iz dobivenih rezultata mjerenja napravi se grafički prikaz apsorbancije u ovisnosti o molarnom omjeru reaktanata. Dobivena dva pravca različitih nagiba se sijeku u vrijednosti molarnog omjera koji odgovara omjeru komponenata u kompleksu. Iz podataka grafičkog prikaza dobivenog metodom molarnih omjera, može se izračunati konstata nastajanja kompleksa (K_f), kao što je pokazano u eksperimentalnom dijelu rada.[3]

2.3.2. Metoda kontinuirane varijacije

Primjenom ove metode, otopine kationa i liganda identičnih analitičkih koncentracija se miješaju, tako da ukupan volumen i ukupan broj molova reaktanata budu stalni, a da se pritom molarni omjer reaktanata sustavno mijenja (primjer 9:1, 8:2 itd.). Potom se mjeri apsorbancija svake otopine pri odgovarajućoj valnoj duljini te korigira za bilo koju vrijednost apsorbancije koju bi mjerena smjesa mogla imati bez reakcije (slijepa proba). Vrijednost korigirane apsorbancije grafički se prikaže u ovisnosti o volumnom udjelu jednog od reaktanata, tj. $V_M/(V_M + V_L)$, pri čemu je V_M volumen otopine kationa, a V_L volumen otopine liganda.[3]

2.4. Analiza u protoku

Analiza injektiranjem u protoku (engl. *Flow Analysis*) je analitička tehnika koja je doprinijela automatizaciji, učestalosti analiza te smanjenju volumena uzoraka i reagensa, a ostvarila je i nižu cijenu analiza.[7]

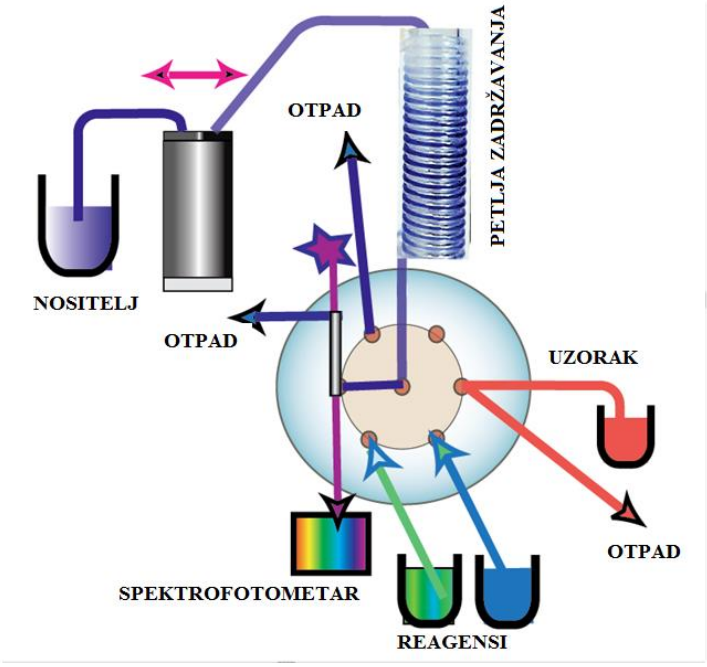
Analiza u protoku spada u kinetičke analitičke metode, jer se signal uzrokuje pod fizikalnim, kemijskim i fizikalno-kemijskim neravnotežnim uvjetima odnosno kada reakcija nije ušla u stanje termodinamičke ravnoteže.[6]

Analiza u protoku se dijeli u četiri kategorije: injektiranje u protok (engl. *Flow Injection,* FI), slijedno injektiranje (engl. *Sequential Injection,* SI), injektiranje u suspenziju čestica (engl. *Bead injection,* BI) i kromatografija slijednim injektiranjem (engl. *Sequential Injection Chromatography,* SIC).[7]

2.4.1. Slijedno injektiranje

Slijedna analiza injektiranjem (engl. *Sequential Injection Analysis,* SIA) je druga generacija analize u protoku, a opisali su je Ružička i Marshall 1990. godine.[8]

Sastoji se od dvosmjerne crpke koja usisava osnovnu otopinu (nositelj) u sustav, višepozicijskog selekcijskog ventila (on omogućuje slijedno injektiranje nekoliko različitih otopina uzoraka ili reagensa), petlje zadržavanja i detektora (slika 2-4).



Slika 2-4 Shematski prikaz instrumentacije za slijednu analizu injektiranjem[9]

Ovaj sustav temelji se na injektiranju slijeda uzoraka i reagensa u struju otopine nositelja. Zone uzoraka i reagensa injektiraju se jedna pored druge u struju nositelja te se tijekom procesa raspršuju jedna u drugoj unutar petlje zadržavanja i na njihovom sučelju formira se produkt reakcije. Protokom kroz detektor bilježe se odgovarajuće fizikalne promjene.

Prednost SIA sustava je mnogo manja potrošnja reagensa i stvaranje manje količine otpadnih kemikalija. Napredak u SIA tehnici je korištenje progamiranog protoka za optimizaciju pojedinih koraka analitičkog postupka. Posebnost sustava SIA je poboljšana kontrolirana zona uzoraka i reagensa uzrokovana promjenom smjera protoka u petlji zadržavanja.

Glavne karakteristike SIA sustava su: visoka učestalost analiza, širok raspon područja koncentracija i visoka osjetljivost. SIA sustav odlikuju i konstantan protok, mala količina otpada, niska potrošnja reagensa, robusnost i ponovljivost.[10]

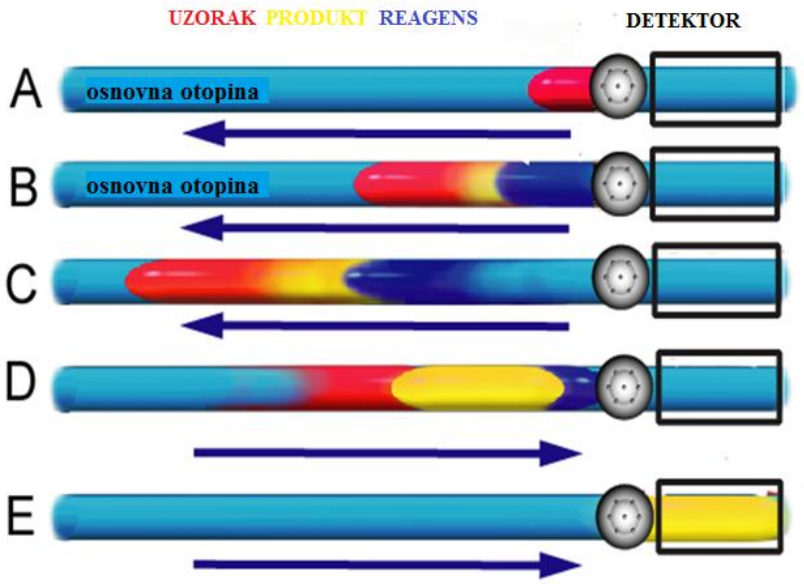
2.4.2. Formiranje zona

U uvjetima dvosmjernog i diskontinuiranog protoka, zona uzorka prenosi se do detektora i pri tome se miješa s osnovnom otopinom i zonom reagensa. Miješenjem zona

dolazi do kontinuiranog razrjeđenja i nastajanja produkta reakcije. Ovaj proces se naziva raspršenje ili kontrolirano raspršenje.

Raspršenje je složen proces koji se može opisati kao dinamično miješanje zona uzorka, reagensa i/ili nositelja, uzrokovano dinamikom fluida kroz savijene cijevčice (petlja zadržavanja).

Na slici je prikazano raspršenje u SIA sustavu. Injektiranjem uzorka (A) te zatim reagensa (B) u struju osnovne otopine, reagens prodire u područje uzorka zbog paralelog raspršenja. Zatim kao formirana zona se premješta uzvodno (C). Nakon promjene smjera toka (D) dolazi do turbolentnog strujanja uzrokovanog ubrzanjem okomitog i paralelnog raspršenja. Kada reakcijska smjesa dođe do detektora (E) okomito raspršenje je završeno.[10]



Slika 2-5 Formiranje zone koja se prenosi do detektora (zona uzorka miješa se s osnovnom otopinom i zonom reagensa pri čemu nastaje produkt reakcije) [11]

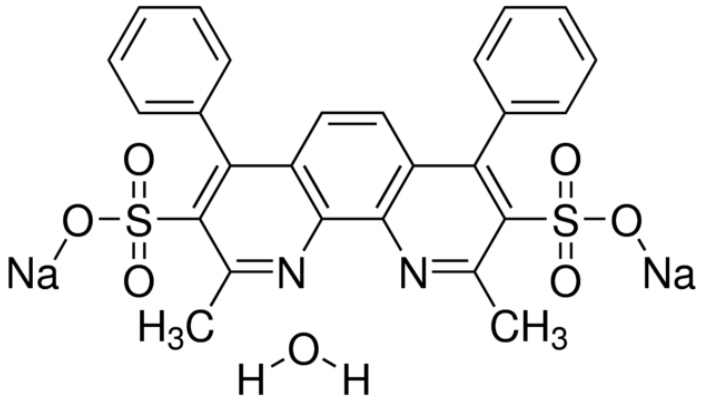
Raspršenju uzorka doprinosi difuzija zbog koncentracijskog gradijenta između uzorka i osnovne otopine. Difuzija se javlja paralelno i okomito na smjer gibanja uzorka (slika 2-6). U slijednoj analizi injektiranjem važna je samo okomita difuzija.



Slika 2-6 Okomito i paralelno raspršenje (i difuzija) – utjecaj na koncentracijski gradijent[12]

2.5. Batokuproin disulfonska kiselina (BCS)

Batokuproin disulfonska kiselina, BCS, je kiselina čija je molekulska formula $C_{26}H_{18}N_2Na_2O_6S_2 \times H_2O$. Njena molekulska masa iznosi 564,54 g mol^{-1}.



Slika 2-7 Strukturna formula batokuproin disulfonske kiseline[13]

Pri sobnoj temperaturi BCS je prah boje pijeska s temperaturom taljenja pri 300 °C. Topljiv je u vodi. BCS ima visoku selektivnost i osjetljivost prema bakru te se koristi kao kelatirajući reagens u spektrofotometrijskom određivanju bakra.

U literaturi su predložena određivanja bakra(I) pomoću BCS korištenjem klasične spektroskopije. Prvi rad spektrofotometrijski određuje bakar(I) pomoću BCS. Apsorpcijski maksimum se bilježi na valnoj duljini od 480 nm, a molarna apsorptivnost je 14 000 L mol^{-1} cm^{-1}. U radu se koristi acetatni pufer i pH iznosi 5,5.[14]

Drugi rad je također spektrometrijsko određivanje kompleksa Cu-BCS. Apsorpcijski maksimum se bilježi na valnoj duljini od 484 nm, a molarna apsorptivnost je 13 863 ± 45 L mol^{-1} cm^{-1}.[15] U trećem radu za određivanje bakra(I) korištenjem batokuproina postignuta je granica dokazivanja od $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} za uzorak morske vode. Apsorpcijski

makimum bilježi se pri valnoj duljini od 480 nm. Zaključeno je da na stabilnost i apsorpciju kompleksa Cu-BCS utječe pH.[16]

Pretragom literature pronađeno je nekoliko radova određivanja BCS koje se temelje na primjeni analiza u protoku uz spektrofotometrijski detektor. U literaturi su predložena određivanja BCS korištenjem analize u protoku.

Prvi rad koristi srebrnu redukcijsku minikolonu u svrhu redukcije bakra(II) u bakar(I), koji se detektira spektrofotometrijski pomoću BCS. Bakar reducira pri brzinama protoka do 4 mL min^{-1}, što omogućuje ubrizgavanje uzorka brzinom od 120 h^{-1}. Razvijenom analizom u protoku ostvareno je linerno dinamičko područje u rasponu koncentracija od $5{,}0 \times 10^{-7}$ do $1{,}0 \times 10^{-4}$.[17] U drugom radu, apsorpcijska faza ion-izmjenjivača primjenjuje se na analizu u protoku za tragove bakra u vodi. Povećava se apsorbancija obojanog kompleksa s BCS, koji je koncentriran na ionski izmjenjivač u protočnoj ćeliji, kako bi se izmjerio kontinuirano s spektrofotometrom pri 484 nm. Predložena metoda omogućila je vrlo osjetljivo i selektivno određivanje bakra u krškim podzemnim vodama.[18]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Priprava otopina

Sve otopine su pripravljene korištenjem kemikalija čistoće stupnja analitičkog reagensa i deionizirane vode. Za provedbu eksperimentalnih mjerenja, sve standarne otopine, kao i otopine nižih koncentracija bile su svježe pripremljene. U radu se koristi acetatni pufer (pH = 5,0) zbog veće preciznosti, a pH vrijednost je u neposrednoj blizini pK_a octene kiseline (pK_a = 4,75) osiguravajući tako dovoljan kapacitet puferiranja.

Otopina Cu^{2+}, {$c = 1\times10^{-3}$ mol L^{-1}}

Otopina bakrovih (II) iona pripravlja se otapanjem 0,0240 g bakrovog (II) sulfata pentahidrata ($CuSO_4\times5H_2O$, Kemika, Zagreb, Hrvatska, M = 249,68 g mol^{-1}) u deioniziranoj vodi koja je dodana do oznake 100 mL na odmjernoj tikvici. Radne otopine nižih koncentracija pripravljene su dnevnim razrjeđivanjem standarne otopine bakra acetatnim puferom, pH = 5.

Otopina standarda batokuproin disulfonske kiseline

Standardna otopina batokuproin disulfonske kiseline {c(BCS) = 1×10^{-3} mol L^{-1}}, pripravljena je otapanjem 0,0589 g BCS ($C_{26}H_{18}N_2Na_2O_6S_2 \times H_2O$, Alfa Aesar, M = 582,42 mol L^{-1}) u deioniziranoj vodi koja je dodana do oznake 100 ml na odmjernoj tikvici. Potrebne radne otopine nižih koncentracija pripravljene su dnevno, razrjeđivanjem standardne otopine BCS acetatnim puferom, pH = 5.

Otopina acetatnog pufera, {c = 0,05 mol L^{-1}}, pH = 5

Otopina acetatnog pufera pripravlja se otapanjem 3,1500 g bezvodnog natrijevog acetata (CH_3COONa, Kemika, Zagreb, Hrvatska, M = 82,03 mol L^{-1}) u deioniziranoj vodi te dodatkom 1,04 mL octene kiseline (CH_3COOH, Kemika, Zagreb, Hrvatska, M = 60,05 mol L^{-1}, ρ = 1,05 kg L^{-1}). Otopina je razrijeđena deioniziranom vodom do oznake 1 L na odmjernoj tikvici. Ovako pripravljena otopina ima pH = 5.

Otopina askorbinske kiseline

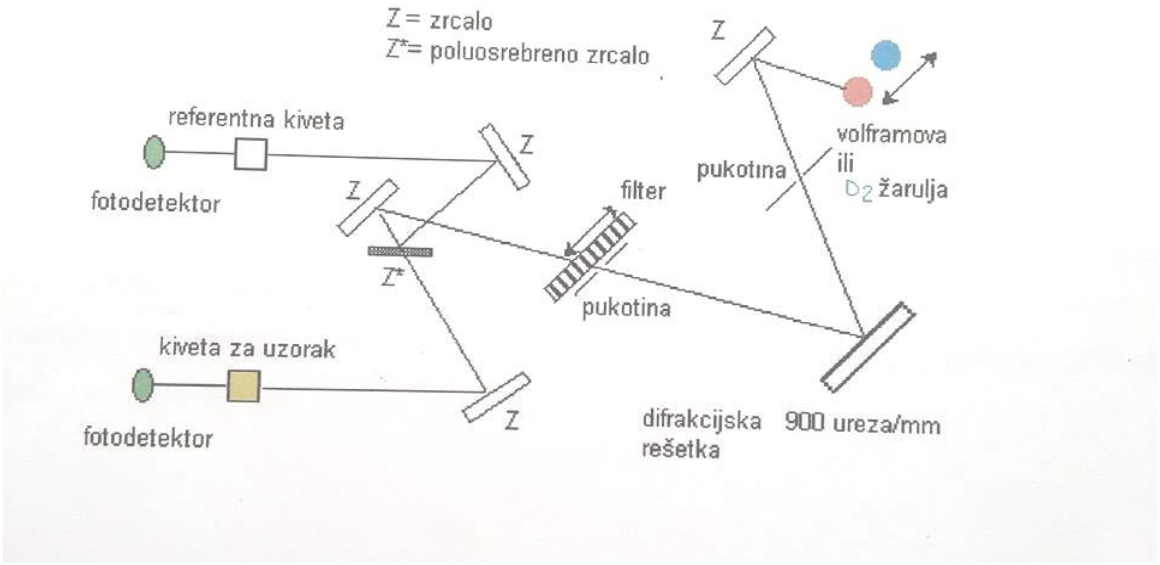
Otopina askorbinske kiseline {c(AA) = 1 × 10^{-3} mol L^{-1}} pripravljena je otapanjem 0,0176 g L-(+)-askorbinske kiseline ($C_6H_8O_6$, Kemika, Zagreb, Hrvatska, M = 176,13 mol L^{-1}) u deioniziranoj vodi koja je dodana do oznake 100 mL na odmjernoj tikvici.

3.2. Instrumentacija

3.2.1. Spektrofotometar

Sustav za spektrofotometrijska mjerenja sastoji se od spektrofotometra i osobnog računala, odnosno programa za očitavanje signala. Instrument za mjerenje je dvosnopni spektrofotometar Shimadzu UV-1601 (Shimadzu, Kyoto, Japan) s optičkom kvarcnom kivetom spojen na osobno računalo s programskom podrškom Hyper UV-VIS software zbog prikupljanja i obrade podataka.

Korišteni spektrofotometar temelji se na radu s dva snopa koja nastaju u prostoru, pomoću sklopa zrcala koja se nazivaju djeliteljem snopa. Jedan snop prolazi kroz referentnu otopinu prema fotodetektoru, a drugi istodobno prolazi kroz uzorak prema drugom fotodetektoru. Spektrometar je za sva mjerenja podešen na valnu duljinu λ = 483 nm.

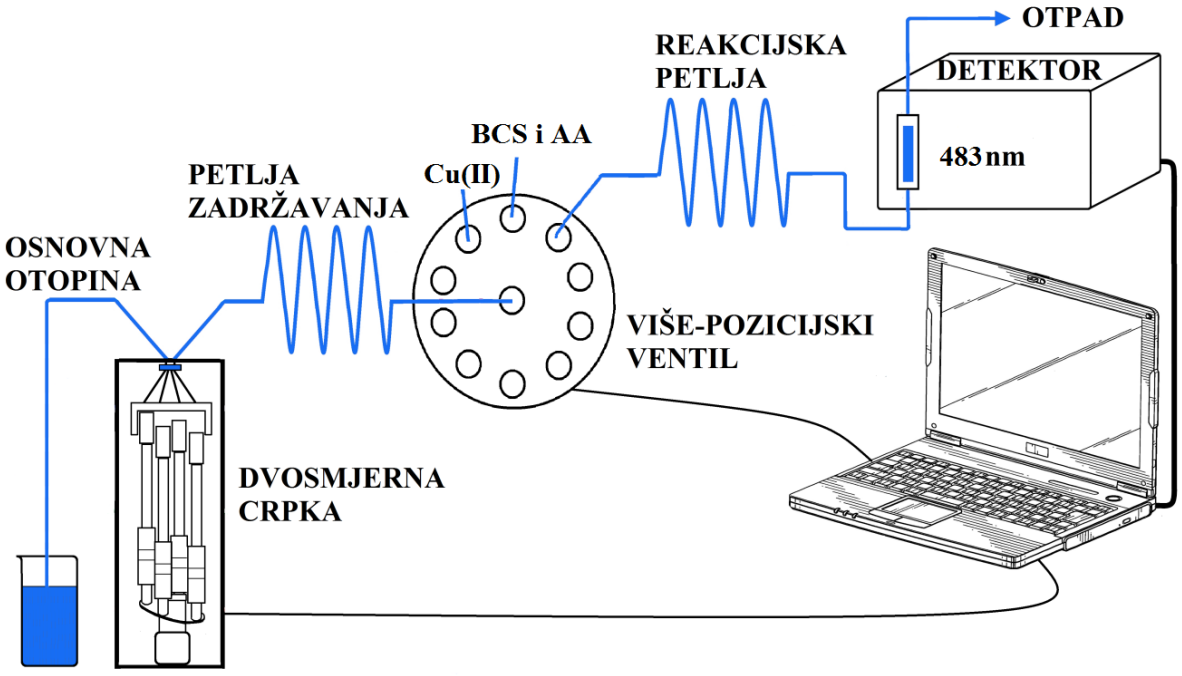


Slika 3-1 Shematski prikaz spektrofotometra Shimadzu UV – 1601[5]

3.2.2. Sustav za slijednu analizu injektranjem

Sustav za slijednu analizu injektiranjem sastoji se od više-pozicijskog selekcijskog ventila i dvosmjerne crpke koji su povezani petljom zadržavanja. Crpka usisava u sustav osnovnu otopinu te se potom u petlju zadržavanja slijedno injektiraju određeni volumeni otopina reagensa i uzorka kroz odabrane otvore više-pozicijskog ventila. U posljednjem koraku, protok osnovne otopine gura zonu uzorka i reagensa kroz otvor selekcijskog ventila koji je reakcijskom petljom povezan s detektorom.

Zone uzorka i reagensa se miješaju pod utjecajem raspršenja, pri čemu nastaje produkt, čijim je prolaskom kroz protočnu kivetu odziv detektora zabilježen kao koncentracijski gradijent (pik). Kao detektor korišten je dvosnopni spektrofotometar Shimadzu UV-1601 (Shimadzu, Kyoto, Japan) s protočnom kvarcnom kivetom spojen na osobno računalo. Rad SIA sustava potpuno je programski kontroliran.



Slika 3-2 Shematski prikaz SIA sustava[19]

3.2.3. Ostala instrumentacija

Za mjerenje pH-vrijednosti otopina korišten je milivoltmetar Mettler Toledo SevenMulti (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Švicarska) opremljen kombiniranom staklenom elektrodom, Mettler Toledo InLab® (slika 3-3).



Slika 3-3 Milivoltmetar Mettler Toledo SevenMulti opremljen kombiniranom staklenom elektrodom[20]

Za precizno dodavanje različitih mikrolitarskih volumena otopina, korištene su mikropipete po Eppendorfu s ručnim držačem, Nichiryo (Nichiryo, Tokyo, Japan), za raspone volumena od 10 do 100 µL te od 100 do 1000 µL (slika 3-4).



Slika 3-4 Mikropipeta s ručnim držačem[21]

3.3. Metode rada

Kako bi se odredio stehiometrijski odnos i konstanta formiranja kompleksa Cu(I)-BCS potrebno je bakrove(II) ione potpuno reducirati do bakra(I). Redukcija bakra(II) se odvija uz L-askorbinsku kiselinu (reducens). Reducirani bakrovi(I) ioni u sljedećem stupnju formiraju narančasto obojeni $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ kompleks prema reakciji:

$$2Cu^{2+} + H_2A \rightleftharpoons 2Cu^{+} + DA + 2H^{+};$$

$$Cu^{+} + 2BCS^{2-} \rightleftharpoons \left[Cu\left(BCS\right)_2\right]^{3-}.$$

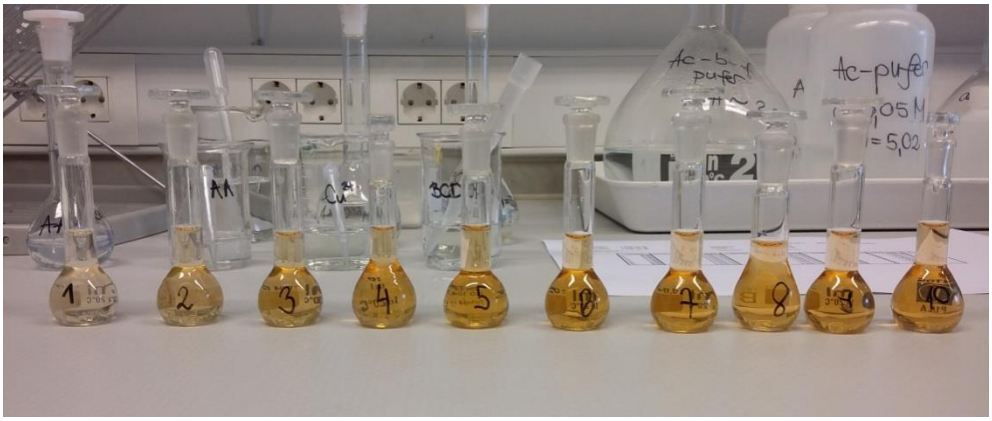
Nastali narančasti kompleks apsorbira elektromagnetsko zračenje pri valnoj duljini od 483 nm.

3.3.1. Metoda molarnih omjera

Da bi se odredila stehiometrija kompleksa potrebno je napraviti niz otopina (tablica 3-1, slika 3-5) u kojima je koncentracija Cu^{2+} konstantna, dok se koncentracija BCS mijenja. Reducens je L-aksorbinska kiselina, koja se dodaje u suvišku kako bi se bakrov(II) ion potpuno reducirao u bakrov(I) ion. Mjeri se apsorbancija svih otopina pri valnoj duljini λ_{max} = 483 nm. Zatim se, iz grafičkog prikaza ovisnosti apsorbancije pri λ_{max} o molarnom omjeru reaktanata određuje stehiometrija kompleksnog spoja.

Tablica 3-1 Priprava otopina za određivanje stehiometrije kompleksa metodom molarnih omjera

***V* (pufer) mL**	***V* (Cu^{2+}) mL**	***c*(Cu^{2+}) $molL^{-1}$**	***V* (BCS) mL**	***c*(BCS) $mol\ L^{-1}$**	c_L/c_M	***V* (AA) mL**	***c* (AA) $mol\ L^{-1}$**
8,40	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	0,20	$2,0 \times 10^{-5}$	0,5	1	$1,0 \times 10^{-4}$
8,20	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	1	1	$1,0 \times 10^{-4}$
8,00	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	0,60	$6,0 \times 10^{-5}$	1,5	1	$1,0 \times 10^{-4}$
7,80	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	0,80	$8,0 \times 10^{-5}$	2	1	$1,0 \times 10^{-4}$
7,60	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	1,00	$1,0 \times 10^{-4}$	2,5	1	$1,0 \times 10^{-4}$
7,40	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	1,20	$1,2 \times 10^{-4}$	3	1	$1,0 \times 10^{-4}$
7,20	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	1,40	$1,4 \times 10^{-4}$	3,5	1	$1,0 \times 10^{-4}$
7,00	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	1,60	$1,6 \times 10^{-4}$	4	1	$1,0 \times 10^{-4}$
6,60	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	2,00	$2,0 \times 10^{-4}$	5	1	$1,0 \times 10^{-4}$
6,20	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	2,40	$2,4 \times 10^{-4}$	6	1	$1,0 \times 10^{-4}$



Slika 3-5 Pripravljene otopine za određivanje stehiometrije kompleksa metodom molarnih omjera

3.3.2. Metoda kontinuirane varijacije

Za metodu kontinuirane varijacije miješaju se otopine (tablica 3-2, slika 3-6) kationa bakra(II) i liganda BCS, istih analitičkih koncentracija, tako da ukupan volumen i ukupan broj molova reaktanata u svakoj smjesi bude stalan, a da se pri tome omjer reaktanata sustavno mijenja. Zatim se mjeri apsorbancija svake otopine pri λ_{max} sustava. Vrijednost apsorbancije grafički se prikaže u ovisnosti o volumnom udjelu jednog od reaktanata. Iz grafa određujemo udio metala, $c_M/(c_M + c_L)$.

Tablica 3-2 Priprava otopina za određivanje udjela metala metodom kontinuirane varijacije

$V(Cu^{2+})$ mL	**$c(Cu^{2+})$ mol L^{-1}**	**V (BCS) mL**	**c (BCS) mol L^{-1}**	**omjer BCS : Cu^{2+}**	**$c_M/(c_M + c_L)$**	**V (AA) mL**	**c (AA) mol L^{-1}**
0	0	1	$1,0 \times 10^{-4}$		0	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,10	$1,0 \times 10^{-5}$	0,90	$9,0 \times 10^{-5}$	9 : 1	0,10	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,20	$2,0 \times 10^{-5}$	0,80	$8,0 \times 10^{-5}$	4 : 1	0,20	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,25	$2,5 \times 10^{-5}$	0,75	$7,5 \times 10^{-5}$	3 : 1	0,25	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,33	$3,3\times 10^{-5}$	0,67	$6,67 \times 10^{-5}$	2 : 1	0,33	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	0,60	$6,0 \times 10^{-5}$	1,5 : 1	0,40	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,50	$5,0 \times 10^{-5}$	0,50	$5,0 \times 10^{-5}$	1 : 1	0,50	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,60	$6,0 \times 10^{-5}$	0,40	$4,0 \times 10^{-5}$	1 : 1,5	0,60	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,67	$6,7 \times 10^{-5}$	0,33	$3,3 \times 10^{-5}$	1 : 2	0,67	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,75	$7,5 \times 10^{-5}$	0,25	$2,5 \times 10^{-5}$	1 : 3	0,75	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,80	$8,0 \times 10^{-5}$	0,20	$2,0 \times 10^{-5}$	1 : 4	0,80	1	$1,0 \times 10^{-4}$
0,90	$9,0 \times 10^{-5}$	0,10	$1,0 \times 10^{-5}$	1 : 9	0,90	1	$1,0 \times 10^{-4}$
1	$1,0 \times 10^{-4}$	0	0		1	1	$1,0 \times 10^{-4}$



Slika 3-7 Pripravljene otopine za određivanje udio metala metodom kontinuirane varijacije

3.3.3. Krivulja umjeravanja i linearno dinamičko područje

Krivulja umjeravanja je grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o koncentraciji bakra(I) u otopini. Za konstruiranje krivulje umjeravanja pristupilo se pripravi otopina (tablica 3-3, slika 3-8), u kojima se koncentracija iona Cu^{2+}, koji se reducira u Cu(I), dok se koncentracija BCS drži konstantnom i u suvišku kako bi se sav metal vezao u kompleks. Konstantnom se drži koncentracija i volumen reducensa (askorbinske kiseline). Nakon mjerenja apsorbancije svih pripravljenih otopina, konstruira se krivulja umjeravanja za određivanje Cu^{+}.

Granica dokazivanja (engl. *Detection limit*) je najmanja količina analita u uzorku, koja se može kvalitativno odrediti. Izraz za izračunavanje granice dokazivanja glasi:

$$D_L = \frac{3 \cdot s_b}{m}$$

gdje je s_b standardna devijacija slijepe probe, a m je nagib krivulje umjeravanja.

Granica određivanja (engl. *Quantitation limit*) je najmanja količina analita u uzorku koja se može odrediti uz odgovarajuću preciznost i točnost. Izraz za izračunavanje granice određivanja glasi:

$$Q_L = \frac{10 \cdot s_b}{m}$$

gdje je s_b standardna devijacija slijepe probe, a m je nagib krivulje umjeravanja.[6]

Tablica 3-3 Priprava otopina za konstruiranje krivulje umjeravanja bakrovog(I) iona

***V* (pufer) mL**	***V* (Cu^{2+}) mL**	***c* (Cu^{2+}) mol L^{-1}**	***V* (BCS) mL**	***c* (BCS) mol L^{-1}**	***V* (AA) mL**	***c* (AA) mol L^{-1}**
2,96	0,04	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,94	0,06	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,92	0,08	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,90	0,10	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,80	0,20	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,60	0,40	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,40	0,60	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,20	0,80	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,00	1,00	$1,0 \times 10^{-4}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,80	0,20	$1,0 \times 10^{-3}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,60	0,40	$1,0 \times 10^{-3}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,40	0,60	$1,0 \times 10^{-3}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,20	0,80	$1,0 \times 10^{-3}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$
2,00	1,00	$1,0 \times 10^{-3}$	6	$6,0 \times 10^{-4}$	1	$1,0 \times 10^{-4}$



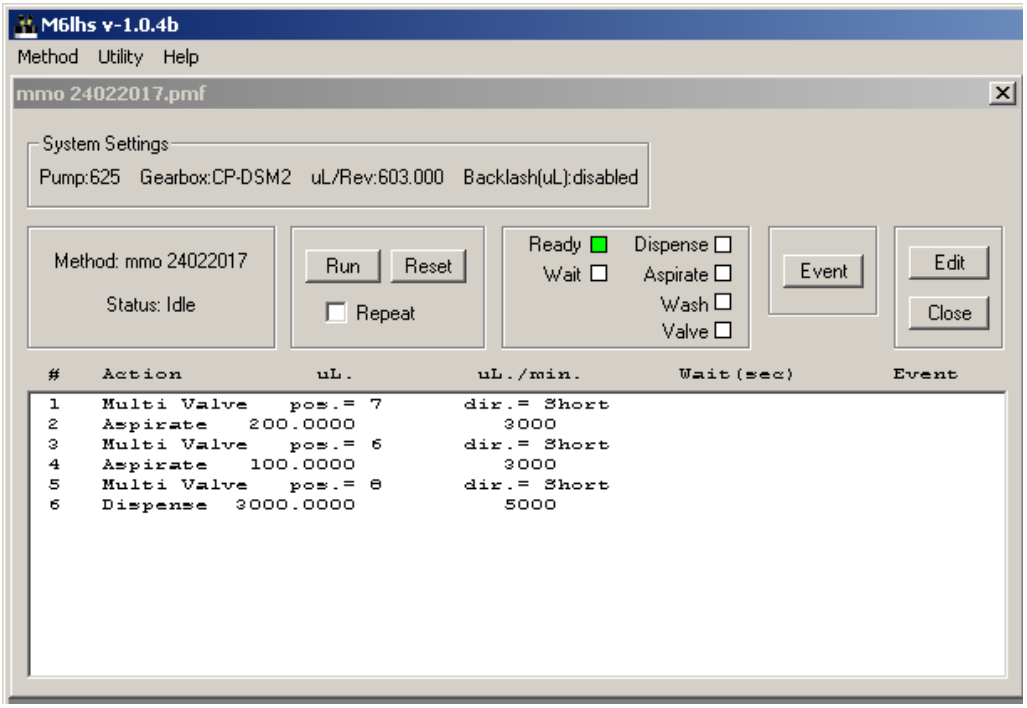
Slika 3-8 Pripravljene otopine za određivanje LDP-a bakra(I)

3.3.4. Slijedna analiza injektiranjem (SIA)

Za slijednu analizu injektiranjem korišten je razvijen i optimiziran sustav uz spektrofotometrijski detektor. Slijednom analizom injektiranjem metodom kontinuirane varijacije provjerena je stehiometrija kompleksa dobivena klasičnim spektrometrijskim metodama, te je pokazano da se u određivanju kompleksa s BCS može koristiti i ova tehnika.

Programiranje protoka

Prije početka mjerenja potrebno je napuniti cijeli sustav s otopinama. Navedeni program prikazan je na slici 3-9.



Slika 3-9 Programski slijed punjenja cijevčica

Potrebno je odabrati selekcijski ventil (pozicije otvora od 1 do 10, slika 3-2) i smjer protoka otopina. Protok usmjeren od otvora na selekcijskom ventilu prema crpki (engl. *aspirate* - usisavanje) ili protok usmjeren od crpke prema selekcijskom ventilu (engl. *dispense* - isisavanje). Protokom usmjerenim od otvora 7 (otopina liganda BCS i askorbinske kiseline) i 6 (otopina Cu^{2+}) prema crpki, napune se cijevčice sustava otopinama te se zatim u suprotnom smjeru protoka guraju osnovnom otopinom (nositeljem) prema otvoru 8, koji je povezan s protočnom kivetom u optičkom putu spektrofotometra.

Mjerenje se provodi tako da se podešavanjem toka određeni volumeni analita i reagensa usisaju u petlju zadržavanja te se zatim kao zajednička zona, uz pomoć osnovne otopine suprotnog toka, šalju prema detektoru. Korištena osnovna otopina je deionizirana voda.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Predložene spektrometrijske metode zasnivaju se na dvjema reakcijama: redoks reakciji i reakciji formiranja kompleksa. Redukcija Cu^{2+} iona odvija se u prisustvu L-askorbinske kiseline (H_2A), a potom reducirani Cu^{+} ioni u prisutnosti liganda BCS formiraju narančasto obojeni $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ kompleks, koji apsorbira elektromagnetsko zračenje pri valnoj duljini λ = 483 nm.

$$2Cu^{2+} + H_2A \rightleftharpoons 2Cu^{+} + DA + 2H^{+};$$

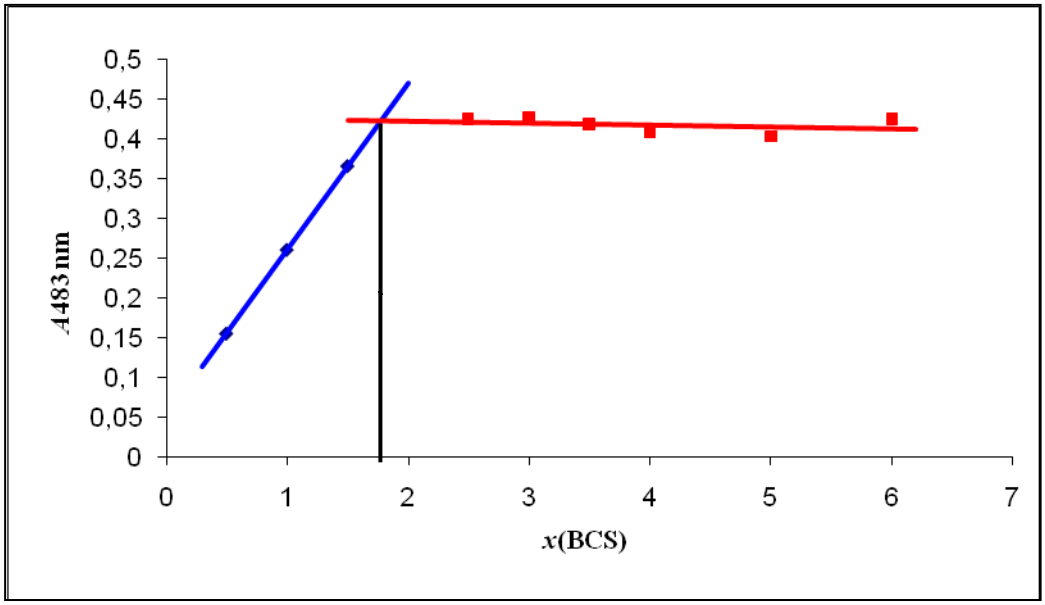
$$Cu^{+} + 2BCS^{2-} \rightleftharpoons \left[Cu\left(BCS\right)_2\right]^{3-}.$$

4.1. Metoda molarnih omjera klasičnom spektrofotometrijom

Metodom molarnih omjera izmjerena je apsorbancija nastalog kompleksa pri λ_{max}. Iz grafičkog prikaza ovisnosti apsorbancije pri λ_{max} o molarnom omjeru određena je stehiometrija kompleksnog spoja.

Tablica 4-1 Izmjerene vrijednosti apsorbancija metodom molarnih omjera

c_L/c_M	A_{483nm}
0,5	0,06
1	0,156
1,5	0,261
2	0,366
2,5	0,425
3	0,427
3,5	0,419
4	0,409
5	0,404
6	0,425



Slika 4-1 Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o molarnom omjeru BCS

Iz grafičkog prikaza (slika 4-1), odredivši sjecište dvaju pravaca, vidljivo je da dobivena stehiometrija bakra i liganda BCS iznosi (Cu^{+}) : (BCS) = 1 : 2. Nakon postignute ravnoteže, iz očitane apsorbancije i prethodno određenong apsorpcijskog koefcijenta može se izračunati koncentracija nastalog kompleksa a time i konstanta formiranja kompleksa.

$$\left[\mathrm{ML_2^+}\right] = \frac{A}{b \cdot \varepsilon} = \frac{0,366}{10627} = 3,43 \cdot 10^{-5}$$

$$\left[\mathrm{M^+}\right] = c\left(\mathrm{M^+}\right) - \left[\mathrm{ML_2^+}\right] = 5,70 \cdot 10^{-6}$$

$$\left[\mathrm{L}\right] = c\left(\mathrm{M}\right) - 2\left[\mathrm{ML_2^+}\right] = 1,14 \cdot 10^{-5}$$

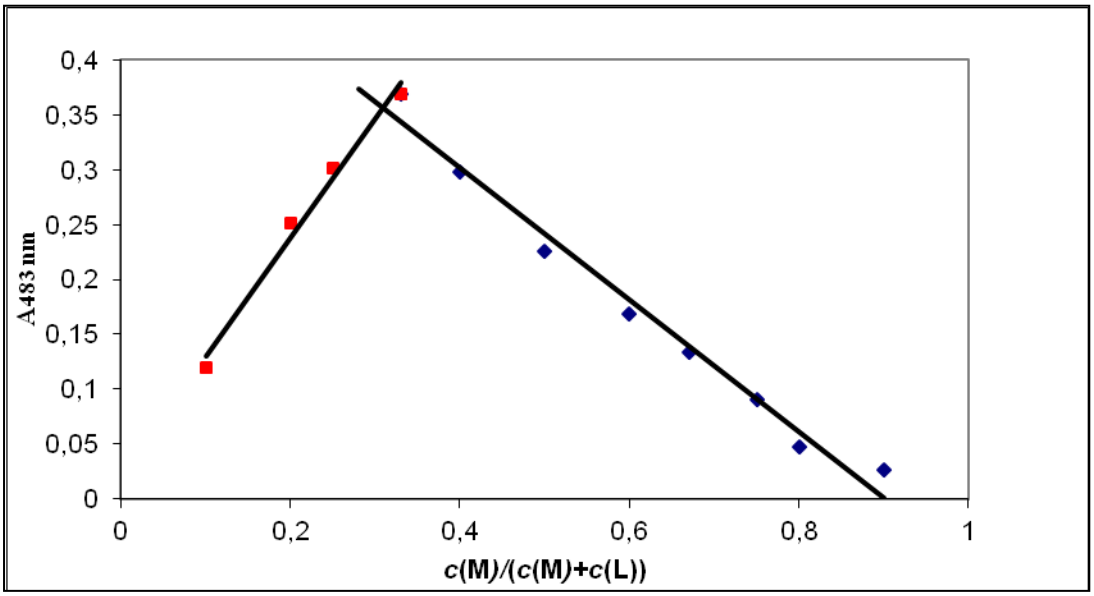
$$K_\mathrm{f} = \frac{\left[\mathrm{ML_2^+}\right]}{\left[\mathrm{M^+}\right]\left[\mathrm{L}\right]^2} = \frac{3,43 \cdot 10^{-5}}{\left(5,70 \cdot 10^{-6}\right) \cdot \left(1,14 \cdot 10^{-5}\right)^2} = 4,6 \cdot 10^{10}$$

4.2. Metoda kontinuirane varijacije

Metodom kontinuirane varijacije izmjerene su apsorbancije nastalog kompleksa te pomoću grafičkog prikaza je određen udio metala $c_M/(c_M + c_L)$.

Tablica 4-2 Izmjerene vrijednosti apsorbancija metodom kontinuirane varijacije

BCS : Cu^{2+}	$c_M/(c_M + c_L)$	A_{483nm}
9 : 1	0,1	0,120
4 : 1	0,2	0,251
3: 1	0,25	0,301
2 : 1	0,33	0,369
1,5 : 1	0,4	0,289
1 : 1	0,5	0,226
1 : 1,5	0,6	0,169
1 : 2	0,67	0,132
1 : 3	0,75	0,091
1 : 4	0,8	0,048
1 : 9	0,9	0,027



Slika 4-2 Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o volumnom udjelu Cu(I)

Pomoću jednadžbi dvaju pravaca na grafičkom prikazu izračunali smo presjek tih dvaju pravca, koji predstavlja udio metala koji iznosi 0,31. Iz udjela možemo viditi da je stehiometrija u kompleksu (Cu^{+}) : (BCS) = 1 : 2.

$$\frac{c(\mathrm{M})}{c(\mathrm{M})+c(\mathrm{L})}=0,31$$

$$c(\mathrm{Cu})+c(\mathrm{BCS})=1$$

$$c(\mathrm{Cu})=0,31$$

$$c(\mathrm{BCS})=0,69$$

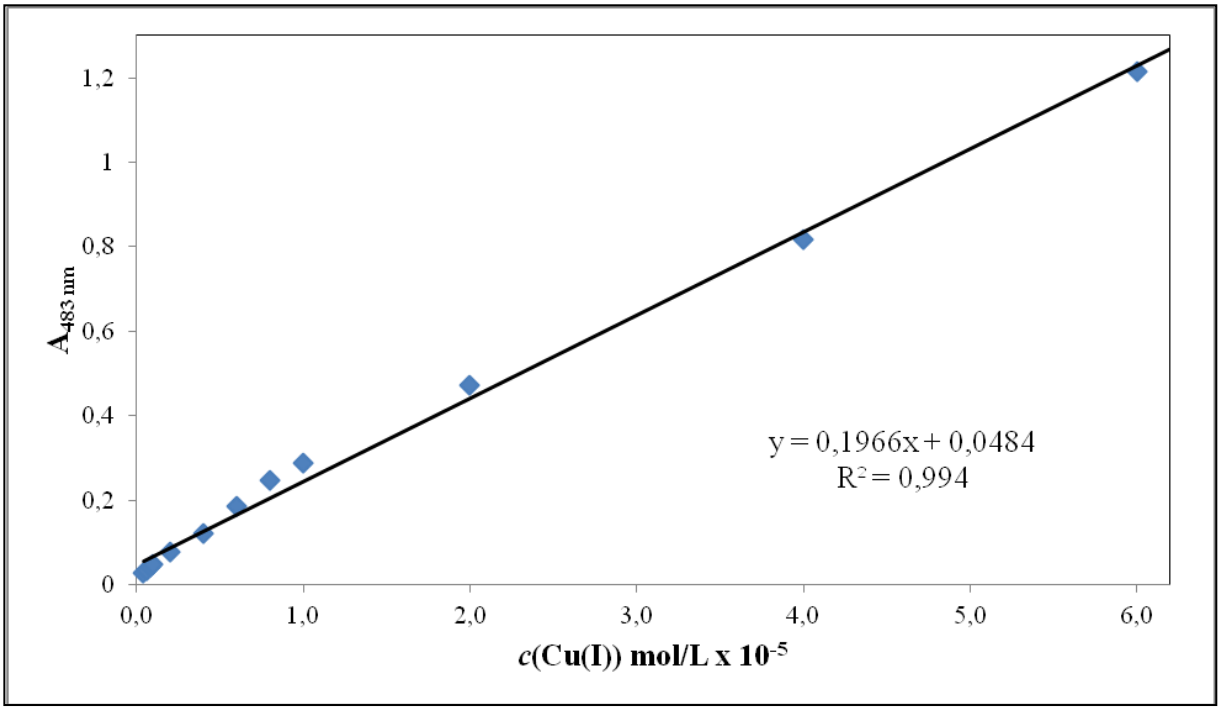
$$c(\mathrm{Cu}):c(\mathrm{BCS})=0,31:0,69=1:2$$

4.3. Linearno dinamičko područje, LDP

Koncentracija askorbinske kiseline je proporcionalna koncentraciji Cu(I). Vidljivo je iz kemijske reakcije da su stehiometrije jednake.

Tablica 4-4 Ovisnost apsorbancije o koncentraciji bakar(I)

c (Cu^+) mol L^{-1}	A_{483nm}
$4{,}0 \times 10^{-7}$	0,028
$6{,}0 \times 10^{-7}$	0,034
$8{,}0 \times 10^{-7}$	0,042
$1{,}0 \times 10^{-6}$	0,049
$2{,}0 \times 10^{-6}$	0,077
$4{,}0 \times 10^{-6}$	0,123
$6{,}0 \times 10^{-6}$	0,187
$8{,}0 \times 10^{-6}$	0,248
$1{,}0 \times 10^{-5}$	0,290
$2{,}0 \times 10^{-5}$	0,474
$4{,}0 \times 10^{-5}$	0,818
$6{,}0 \times 10^{-5}$	1,215



Slika 4-3 Krivulja umjeravanja za određivanje Cu(I)

Konstruirana je krivulja umjeravanja za određivanje bakra(I) u rasponu koncentracija od 4,0 $\times 10^{-7}$ mol L^{-1} do 1,0 $\times 10^{-4}$ mol L^{-1}. U ovom koncentracijskom području postignuta je linearnost s pripadajućom jednadžbom pravca $y = 19661\ x + 0{,}048$ (gdje je y visina vrha apsorbancije, a x je koncentracija bakra(I) izražena u mol L^{-1}) i korelacijskim koeficijentom $R^2 = 0{,}994$. Za područje postignute linearnosti izračunate su granice dokazivanja i određivanja bakra(I). Granica dokazivanja iznosi 1,2 $\times 10^{-7}$ mol L^{-1}, a granica određivanja iznosi 4,0 $\times 10^{-7}$ mol L^{-1}.

Iz Beerovog zakona može se izračunati molarna apsorptivnost narančasto obojenog $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ kompleksa gdje je duljina puta zračenja, b jednaka 1 cm, koncentracija formiranog kompleksa iznosi 4,0 $\times 10^{-5}$ mol L^{-1}, a apsorbancija je A_{max} = 0,427 u trenutku kada je sav BCS vezao bakar u kompleks.

$$\varepsilon = \frac{A_{max}}{b \cdot c(M^{2+})}$$

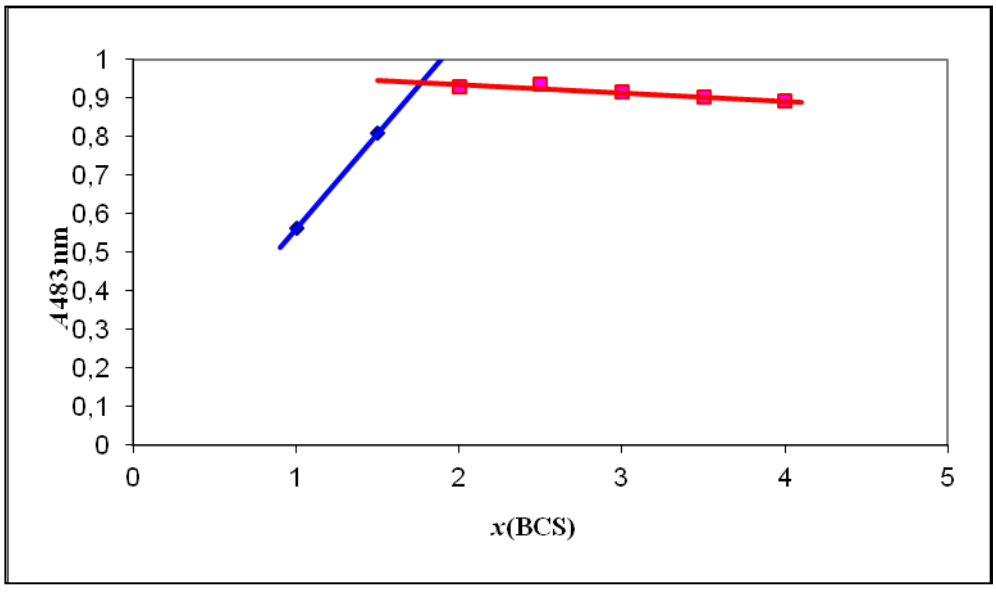
Uvrštavanjem podataka u ovu jednadžbu izračunata je molarna apsorptivnost, ε = 10 675 L mol^{-1} cm^{-1}.

4.4. Slijedna analiza injektiranjem

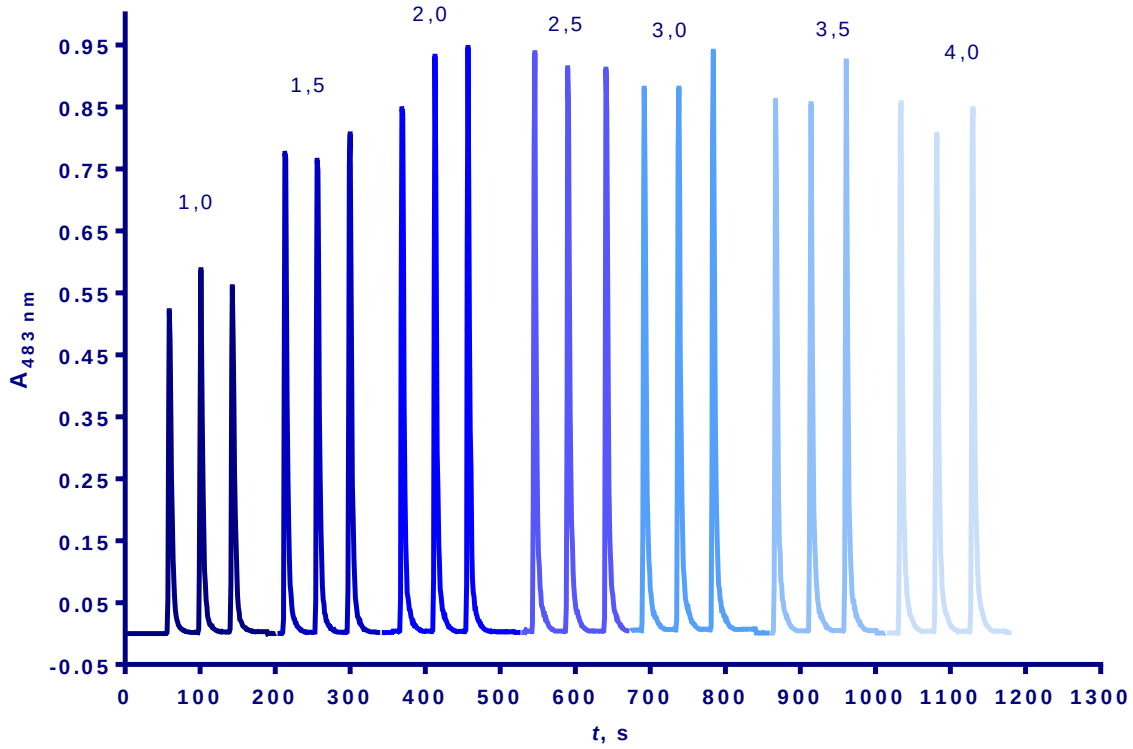
Pomoću izmjerenih apsorbancija nacrtan je graf iz kojeg je vidljivo da stehiometrija u kompleksu između bakra i liganda BCS iznosi (Cu^{+}) : (BCS) = 1 : 2

Tablica 4-5 Izmjerene apsorbancije slijednom analizom injektiranjem

c_L/c_M	A_{sred}
1	0,5620
1,5	0,8092
2	0,9292
2,5	0,9343
3	0,9147
3,5	0,9006
4	0,8911



Slika 4-4 Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o molarnom omjeru BCS konstruiran prilikom mjerenja slijednom analizom injektiranjem



Slika 4-5 Siagram utjecaja molarnog omjera c_L/c_M u rasponu od 1,0 do 4,0 na apsorbanciju kompleksa

Korištenjem slijedne analize injektiranjem uz metodu kontinuirane varijacije potvrdili smo stehiometrijski omjer kompleksa $[Cu\ (BCS)_2]^{3-}$. Stehiometrija kompleksa iznosi (Cu^+) : (BCS) = 1 : 2. Pokazano je da je ovo jednostavna i efikasna metoda za određivanje stehiometrije kompleksa.

5. ZAKLJUČAK

Primjenom klasične spektroskopije i slijedne analize injektiranjem uz spektrofotometrijski detektor, određena je stehiometrija kompleksa bakra (I) s batokuproin disulfonskom kiselinom (BCS). Primjenjene metode temelje se na redoks reakciji u kojoj L-askorbinska kiselina reducira bakrove(II) ione, a potom reducirani bakrovi(I) ioni sa ligandom BCS formiraju narančasto obojeni $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ kompleks. Apsorpcijski maksimum formiranog kompleksa se bilježi pri valnoj duljini λ = 483 nm.

Metodom molarnih omjera određena je stehiometrija kompleksa Cu^+ : BCS = 1: 2 te je izračunata konstanta formiranja kompleksa, $K_f = 4{,}6 \times 10^{10}$. Metodom kontinuirane varijacije određen je udio metala u kompleksu koji iznosi 0,31. Prema $[c_M/(c_M + c_L)] = 0{,}31$, te je izračunat stehiometrijski omjer u komplesku Cu^+ : BCS = 1: 2. Linearno dinamičko područje određivanja bakra(I) definirano je jednadžbom: $y = 19661\,x + 0{,}048$, uz koeficijent linearne regresije $R^2 = 0{,}994$. Postignuta je linearnost u području koncentracija od $4{,}0 \times 10^{-7}$ do $1{,}0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}, te je određena granica dokazivanja koja iznosi $1{,}2 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} i granica određivanja koja iznosi $4{,}0 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}. Određene su spektrofotometrijske karakteristike $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ kompleksa: molarna apsorptivnost, koja iznosi ε = 10 675 L mol^{-1} cm^{-1} i Sandellova osjetljivost, $S = 5{,}95 \times 10^{-6}$ µg cm^{-2}.

Primjenom sustava za slijednu analizu injektiranjem uz spektrofotometrijski detektor metodom kontinuirane varijacije potvrđen je stehiometrijski omjer kompleksa $[Cu(BCS)_2]^{3-}$ koji iznosi Cu^+ : BCS = 1 : 2. Utvrđeno je da se ovom vrstom analize također može odrediti stehiometrija kompleksa uz velike prednosti korištenja sustava za slijednu analizu injektiranjem, a to su niska potrošnja otopina analita i reagensa te mala količina otpada.

6. LITERATURA

[1] Nj. Radić, L. Kukoč Modun, *Uvod u analitičku kemiju*, Školska knjga, Zagreb, **2016**

[2] Generalić, Eni. "Spektar elektromagnetskog zračenja." *Englesko-hrvatski kemijski rječnik & glosar*. 23 Feb. 2017. KTF-Split. 27 June 2017. <http://glossary.periodni.com>.

[3] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnovne analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, **1999**

[4] D. C. Harris, *Quantitative Chemical Analysis*, W. H. Freeman and Company, New York, **2003**

[5] L. Kukoč, *Molekulska apsorpcijska spektroskopija*, Split, **2003**

[6] L. Kukoč Modun, *Razvoj metoda spektrometrijskog i potenciometrijskog određivanja tiopronina u farmaceutskim pripravcima*, Disertacija, Zagreb, **2009**

[7]URL: http://www.flowinjectiontutorial.com/Theory%200.0.html(20.05.2017.)

[8]URL:http://www.flowinjectiontutorial.com/Methods%202.1.1.%20INTRODUCTION.html (20.05.2017.)

[9]URL:http://www.flowinjectiontutorial.com/Methods%202.2.4.%20Concentration%20Gradient.html (23.05.2017.)

[10]URL:http://www.flowinjectiontutorial.com/Methods%202.1.1.A.%20Sequential%20Injection%20or%20Flow%20Injection.html (20.05.2017.)

[11]URL:http://www.flowinjectiontutorial.com/Methods%202.1.2.%20Flow%20Programmin.html (20.05.2017.)

[12]URL:https://chem.libretexts.org/LibreTexts/Northeastern/13%3A_Kinetic_Methods/13.4%3A_Flow_Injection_Analysis (20.05.2017.)

[13]URL:http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/146625?lang=en&region=HR&gclid=Cj0KEQjw9r7JBRCj37PlltTskaMBEiQAKTzTfD1g9nU-ipw7lb31Fc4VfJY-1aQ5HpEX3j9MecATxXQaAm2Z8P8HAQ (10.06.2017.)

[14] D. M. Rodriguez, F. J. Acevedo Aguliar, K. Wrobel, K. Wrobel, Spectrophotometric Assay for Copper and Iron in Transformer Oil Using Partial Least Squeres Regression, *IEEE*, **2006**, *13*, 1272, http://ieeexplore.ieee.org/document/4027722/?reload=true

[15] M. R. Callahan, J. B. Rose, R. H. Byrne, Long pathlength absorbance spectroscopy: trace copper analysis using a 4.4 m liquid core waveguide, *Talanta*, **2002**, *58*, 891, https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00403-4

[16] J. W. Moffett, R. G. Zika, Oxidation kinetics of Cu(I) in seawater: implications for its existence in the marine environment, *Marine Chemistry*, **1983**, *13*, 239, https://doi.org/10.1016/0304-4203(83)90017-8

[17] A. T. Faizullah, A. Tawnshend, Spectrophotometric determination of copper by flow injection analysis with an on-line reduction column, *Analytica Chemica Acta*, **1985**, *172*, 291, https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)82618-5

[18] K. Yoshimura, S. Matsuoka, Y. Tokura, U. Hase, Flow analysis for trace amounts of copper by ion-exchanger phase absorptiometry with 4,7-diphenyl-2,9-dimethyl-L,lo phenanthroline disulphonate and its application to the study of karst groundwater storm runoff, *Analytica Chemica Acta*, 1992, *268*, 225 https://doi.org/10.1016/0003-2670(92)85216-S

[19] L. Kukoc Modun, D. Tsikas, M. Biocic, T. Kraljević, Nj. Radić, Sequential injection analysis of the novel lipophilic amino acid thiol *N* – acetylcyysteine ethyl ester (NACET) with spectrophotometric detection, *Flow Anaysis XIII Book of Abstracts*, **2015**, 110

[20]URL:http://www.mt.com/us/en/home/phased_out_products/PhaseOut_Ana/S47K_pHCond_US.html (3.05.2017.)

[21] URL:http://www.nichiryo.co.jp/en/product/pipette/le/index.html(01.05.2017.)