

Άσκηση – Προσδιορισμός συγκέντρωσης Φωσφόρου σε ποτά Κόλας

Σκοπός της άσκησης είναι:

Ο προσδιορισμός της ποσότητας του φωσφόρου σε ποτά κόλας με τη μέθοδο μπλε του μολυβδαινίου και την εξοικειώσει των φοιτητών με τη χρήση φασματοφωτομέτρων.



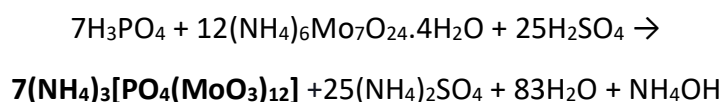
Το φωσφορικό οξύ χρησιμοποιείται στα αναψυκτικά ως πρόσθετο στο οποίο οφείλεται η όξινη γεύση των αναψυκτικών. Παράλληλα όμως έχει και αντιεμετική δράση, τα αναψυκτικά περιέχουν μεγάλες ποσότητες γλυκαντικής ουσίας που η πρόσληψη της από τον οργανισμό προκαλεί τάση για εμετό, το φωσφορικό οξύ αποτρέπει αυτή τη διαδικασία. Μεγάλες ποσότητες πρόσληψης φωσφορικού οξέος μπορεί να προκαλέσουν ανεπιθύμητες καταστάσεις όπως ζημιά στα δόντια αλλά και επίδραση στο μεταβολισμό του Ca, καθώς εμποδίζει τη δέσμευση του Ca από τον οργανισμό, που είναι επικίνδυνο για την υγεία ειδικά για τα παιδιά και εγκύους που τους είναι απαραίτητη η μεγάλη πρόσληψη ασβεστίου.

Μέθοδος προσδιορισμού

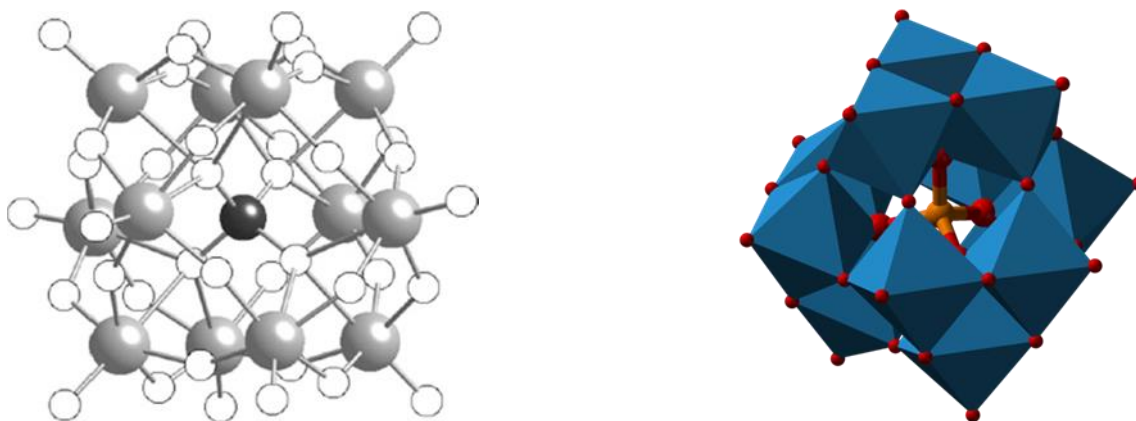
Η μέθοδος στηρίζεται στο σχηματισμό ενός συμπλόκου του φωσφορικού ιόντος με μια ένωση του μολυβδαινίου το οποίο έχει χαρακτηριστικό μπλε χρώμα, για το λόγο αυτό η μέθοδος ονομάζεται και “μπλε του μολυβδαινίου”.

Η μέθοδος γίνεται σε δύο στάδια:

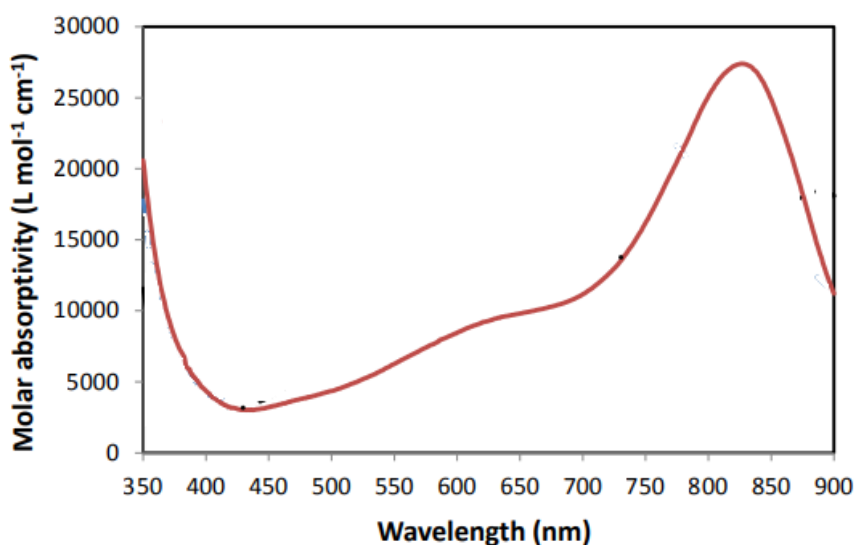
1. Αρχικά το φωσφορικό ιόν αντιδρά με το τετραένυδρο μολυβδαινικό αμμώνιο σε όξινο περιβάλλον και δίνει το φωσφορομολυβδαινικό αμμώνιο, ένα άχρωμο εξασθενές φωσφορικό σύμπλοκο του μολυβδαινίου $[(\text{PO}_4\text{Mo}_{12}\text{O}_{36})^{3-}]$.



Το σύμπλοκο έχει τη δομή ιόντος Keggin:



2. Στη συνέχεια με τη παρουσία ασκορβικού οξέος, που χρησιμοποιείται ως αναγωγικό μέσο, μετατρέπεται σε σύμπλοκο ετεροπολυμολυβδαινίου $(\text{PO}_4\text{Mo}_4^{\text{V}}\text{Mo}_8^{\text{VI}}\text{O}_{36})^{7-}$ όπου η πεντασθενής μορφή του έχει μπλε – πορφυρό χρώμα γνωστό ως “μπλε του μολυβδαινίου” και παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 830 nm, όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα. Η ένταση του μπλε χρώματος εξαρτάται από τη ποσότητα του συμπλόκου και κατά επέκταση από την αρχική ποσότητα του φωσφορικού οξέος. Η θέρμανση είναι ένας παράγοντας που βοηθάει το δεύτερο στάδιο.



Ένταση της απορρόφησης του συμπλόκου ως προς το μήκος κύματος, με αναγωγικό το ασκορβικό οξύ.

Η μέθοδος, χρησιμοποιείται για τη μέτρηση φωσφορικών σε διάφορα διαλύματα και όχι μόνο σε αναψυκτικά. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μέτρηση φωσφορικών σε δείγματα πόσιμων και θαλάσσιων νερών, περιβαλλοντικών δειγμάτων κ.α. Υπάρχουν πολλές παραλλαγές της, κυρίως ως προς το αναγωγικό μέσο που χρησιμοποιείται.



Οργανολογία

Για τις μετρήσεις της απορρόφησης χρησιμοποιείται ένα φασματοφωτόμετρο UV-VIS, μονής δέσμης, πολλαπλών θέσεων.



Πειραματική διαδικασία

Αντιδραστήρια – Όργανα:

- Πρότυπο διάλυμα P_2O_5 των 100 ppm
- Ammonium molybdate tetrahydrate - $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$
- Ascorbic acid - $C_6H_8O_6$
- π. H_2SO_4
- Αναψυκτικό τύπου cola
- Ογκομετρικές φιάλες
- Ογκομετρικοί κύλινδροι
- Ποτήρια ζέσεως
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Πιπέτες ακριβείας μεταβλητού όγκου
- Κυψελίδες από πολυστυρένιο (πλαστικές)
- Συσκευή Shaker (μπαλαρίνα)
- Υδατόλουτρο
- Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους – ορατού (UV-VIS)
(μονής δέσμης πολλαπλών θέσεων)

Παράμετροι - οργάνου:

- Μήκος κύματος φασματοφωτόμετρου: 830 nm
- Θερμοκρασία υδατόλουτρου: 50°C

1. Πρότυπο διάλυμα:

Παρασκευάζονται 50 ml πρότυπου διαλύματος P_2O_5 συγκέντρωσης 4 ppm από αρχικό πρότυπο διάλυμα των 100 ppm.

Υπολογίστε τι όγκο θα πρέπει να πάρετε από το αρχικό πρότυπο διάλυμα για να κάνετε την αραιώση.

Το αρχικό πρότυπο παρασκευάζεται διαλύοντας 0.1941 g ξηρού KH_2PO_4 σε 1 lt απιονισμένου νερού και εκφράζεται σε ppm P_2O_5 , το αρχικό πρότυπο σας δίνεται από τον υπεύθυνο του εργαστηρίου.

2. Άγνωστο δείγμα (διάλυμα Cola):

Ως άγνωστο δείγμα θα είναι ένα δείγμα αναψυκτικού Cola. Πριν την ανάλυση, το δείγμα θα πρέπει να είναι σε ατμοσφαιρική πίεση τουλάχιστον για 24 ώρες ώστε να απομακρυνθεί το CO_2 . Αραιώνεται σε νερό σε αναλογία 1/20 και τελικό όγκο 50 ml.

Υπολογίστε τι όγκο θα πρέπει να πάρετε από το αναψυκτικό για να κάνετε την αραιώση.

3. Αναγωγικό μέσο:

Αρχικά παρασκευάζονται τα παρακάτω τρία διαλύματα:

- A. **Ammonium molybdate:** με διάλυση 0.500 g ammonium molybdate tetrahydrate σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml με απιονισμένο νερό.
- B. **Διάλυμα ασκορβικού οξέος:** με διάλυση 0.440 g ασκορβικού οξέος σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml με απιονισμένο νερό.
- Γ. **Διάλυμα H_2SO_4 :** με αραιώση 17 ml πυκνού θειικού οξέος σε ογκομετρική φιάλη των 200 ml με απιονισμένο νερό, το διάλυμα αυτό σας δίνεται από τον υπεύθυνο του εργαστηρίου.

Στη συνέχεια παίρνετε με ακρίβεια ογκομετρικού κυλίνδρου:

- 7.8 ml από το διάλυμα A
- 12.0 ml από το διάλυμα B
- 25.0 ml από το διάλυμα Γ (στον απαγωγό)
- και συμπληρώνετε σε όγκο 50 ml σε ογκομετρική φιάλη με απιονισμένο νερό.

Το μίγμα αυτό θα είναι το αναγωγικό μέσο.

Όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, το μπλε σύμπλοκο δημιουργείται σε δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο, το μολυβδαίνιο σε όξινες συνθήκες (διαλύματα A και Γ) αντιδρά με τον μόλυβδο και σχηματίζεται το αρχικό άχρωμο σύμπλοκο του εξασθενούς μολυβδαινίου και στη συνέχεια με το αναγωγικό μέσο (διάλυμα B) και με την βοήθεια θέρμανσης δημιουργείται το σύμπλοκο με τη πεντασθενή μορφή του μολυβδαινίου που έχει το χαρακτηριστικό μπλε – πορφυρό χρώμα. Στην συγκεκριμένη άσκηση τα

αντιδραστήρια προστίθενται όλα μαζί (περιέχονται και τα τρία στο αναγωγικό μίγμα) και θερμαίνονται ταυτόχρονα, έτσι και τα δύο αυτά στάδια γίνονται αυτόματα το ένα μετά το άλλο.

4. Προετοιμασία δειγμάτων:

Ως άγνωστο δείγμα είναι το αραιωμένο αναψυκτικό τύπου cola που παρασκευάστηκε προηγουμένως. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του σε φώσφορο, θα γίνει με την μέθοδο της προσθήκης γνωστής ποσότητας

Οι αραιώσεις γίνονται κατευθείαν στους δοκιμαστικούς σωλήνες χρησιμοποιώντας πιπέτες ακριβείας μεταβλητού όγκου. Αρχικά σε όλα τα δείγματα (εκτός από το τυφλό) προσθέσετε την ίδια ποσότητα από το αραιωμένο αναψυκτικό (0.25 ml) και στη συνέχεια την αντίστοιχη ποσότητα από το πρότυπο διάλυμα, ξεκινώντας από 0.0 ml από το 1^ο δείγμα και αυξάνοντας κατά 0.5 ml σε κάθε ένα, φτάνοντας στα 2.0 ml στο 5^ο δείγμα. Σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες (δείγματα και τυφλό) προστίθεται 2.0 ml από το αναγωγικό μίγμα και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό σε τελικό όγκο 5.0 ml υπολογίζοντας κάθε φορά την απαιτούμενη ποσότητα.

Θα παρασκευαστούν τρεις σειρές διαλυμάτων (A1 ... A5, B1 ... B5, Γ1 ... Γ5) ώστε στο άγνωστο δείγμα να υπολογιστεί τρεις φορές η συγκέντρωση του φωσφόρου, κάθε φορά ξεχωριστά, δίνοντας τρία τελικά αποτελέσματα, όπου θα υπολογιστεί η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση τους.

Όγκος (ml)	Άγνωστο	Πρότυπο διάλυμα	Αναγωγικό μίγμα	Απιονισμένο νερό
Blank	0.0	0.0	2.0	3.0
A ₁ , B ₁ , Γ ₁	0.25	0.0	2.0	2.75
A ₂ , B ₂ , Γ ₂	0.25	0.5	2.0	2.25
A ₃ , B ₃ , Γ ₃	0.25	1.0	2.0	1.75
A ₄ , B ₄ , Γ ₄	0.25	1.5	2.0	1.25
A ₅ , B ₅ , Γ ₅	0.25	2.0	2.0	0.75

Στο τυφλό (blank) δείγμα δεν προστίθεστε ούτε ποσότητα από το αραιωμένο αναψυκτικό ούτε από το πρότυπο διάλυμα αλλά μόνο τα 2.0 ml από το αναγωγικό μίγμα και το απαιτούμενο με απιονισμένο νερό μέχρι τελικό όγκο 5.0 ml.

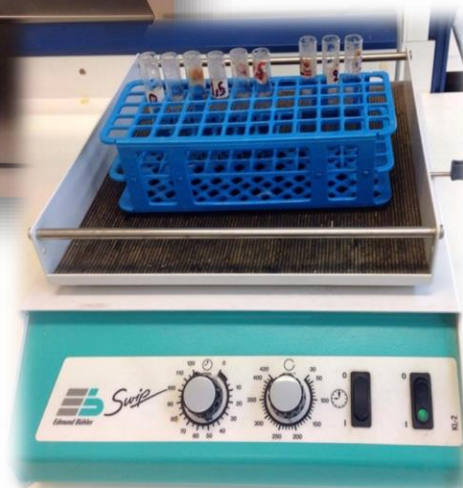
Στη περίπτωση που σας δίνεται και δεύτερο άγνωστο δείγμα αυτό θα μετρηθεί μόνο μία φορά ως μια επιπλέον σειρά δειγμάτων Δ (Δ1 ... Δ5).

Καλύπτονται όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες με parafim και τοποθετούνται αρχικά στην μπαλαρίνα (shaker) σε ήπια ανάδευση για 1 με 2 λεπτά για ομογενοποίηση των διαλυμάτων.

Στη συνέχεια τοποθετούνται στο υδατόλουτρο στους 50 °C για 45 λεπτά.



**Τοποθετείτε τους
δοκιμαστικούς σε υδατόλουτρο
στους 50 °C για 45 λεπτά**

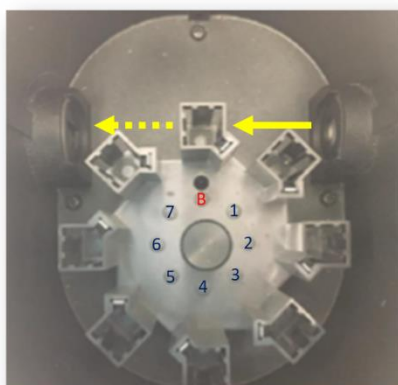


Αφού περάσει ο απαιτούμενος χρόνος, μεταφέρετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες ξανά τη μπαλαρίνα για περίπου 5 λεπτά ώστε τα διαλύματα να επανέρθουν σε θερμοκρασία δωματίου.

Επανατοποθετείται με PARAFIM τους δοκιμαστικούς σωλήνες από τους οποίους έχει απομακρυνθεί, τους αναδεύετε ήπια και γεμίζετε κατευθείαν τις κυψελίδες με τα διαλύματα τους, **χωρίς την χρήση πιπέτας pasteur**. Οι κυψελίδες τοποθετούνται προσεκτικά στο φασματοφωτόμετρο, ώστε η δέσμη της ακτινοβολίας να διέρχεται από την σωστή πλευρά της κάθε κυψελίδας και πραγματοποιείται μέτρηση στα 830 nm.

Προσοχή: να τοποθετηθεί το τυφλό δείγμα στη σωστή θέση.

Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιείται, είναι μονής δέσμης πολλαπλών θέσεων. Υπάρχει ειδική θέση για το τυφλό δείγμα και 7 θέσεις για τα δείγματα. Από το λογισμικό του, ενεργοποιούνται μόνο οι θέσεις που είναι τοποθετημένα τα δείγματα (F3) καθώς η θέση για το τυφλό είναι πάντα ενεργοποιημένη και ρυθμίζεται το μήκος κύματος (F1) στα 830 nm. Πατώντας το κουμπί της μέτρησης (F2), γίνεται η μέτρηση της απορρόφησης, αρχικά στο τυφλό δείγμα και στη συνέχεια σε κάθε δείγμα ξεχωριστά από την οποία αφαιρείται η τιμή του τυφλού δείγματος, **δίνοντάς ως τελικό αποτέλεσμα την διαφορά τους**.



Αποτελέσματα και ανάλυση

Καταγράφετε τις απορροφήσεις για στα δείγματα (A1 ... A5, B1 ... B5, Γ1 ... Γ5):

Παράδειγμα:

Για την πρώτη σειρά (Α):

Δείγμα	Απορρόφηση
A ₁	0.354
A ₂	0.493
A ₃	0.624
A ₄	0.757
A ₅	0.888

Για την δεύτερη σειρά (Β):

Δείγμα	Απορρόφηση
B ₁	0.356
B ₂	0.491
B ₃	0.625
B ₄	0.757
B ₅	0.893

Για την τρίτη σειρά (Γ):

Δείγμα	Απορρόφηση
Γ ₁	0.361
Γ ₂	0.495
Γ ₃	0.626
Γ ₄	0.758
Γ ₅	0.900

Εύρεση συγκέντρωσης P₂O₅ στα άγνωστα διαλύματα:

Για κάθε σειρά (Α, Β και Γ) κατασκευάζεται η αντίστοιχη καμπύλη με τη μέθοδο των ελάχιστων τετραγώνων, όπου στον άξονα των Υ είναι οι τιμές της απορρόφησης και στον άξονα των Χ η συγκέντρωση του πρότυπου δείγματος που έχει προστεθεί, εκφρασμένη σε ppm P₂O₅.

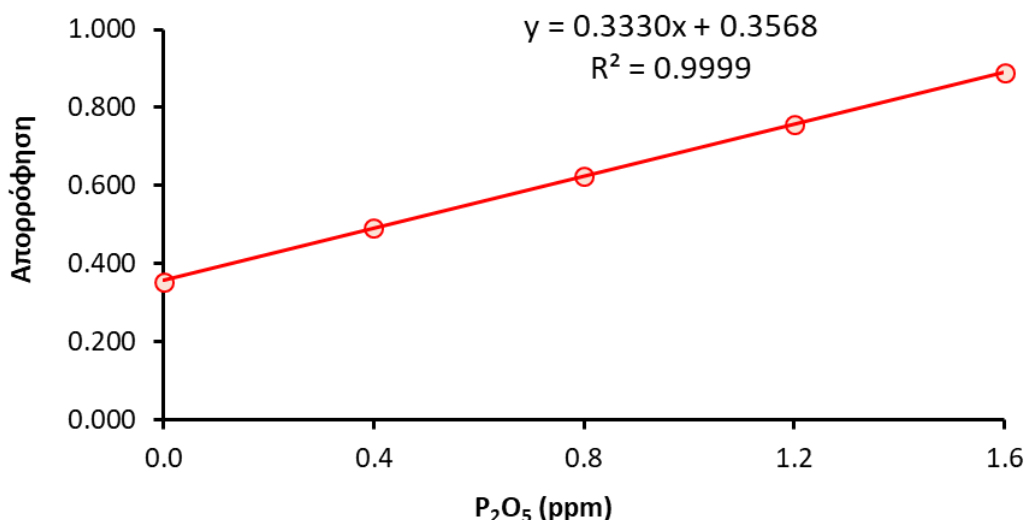
Στο 1^ο δείγμα δεν έχει προστεθεί πρότυπο οπότε η συγκέντρωση σε P₂O₅ είναι 0 ppm. Στο 2^ο δείγμα έχει προστεθεί 0.5 ml από το πρότυπο των 4 ppm σε P₂O₅, και καθώς ο τελικός όγκος στο δοκιμαστικό σωλήνα είναι 5 ml, η συγκέντρωση του θα είναι:

$$C_1V_1 = C_2V_2 \rightarrow C_2 = C_1V_1/V_2 \rightarrow C_2 = 4\text{ppm} \cdot 0.5\text{ml} / 5.0\text{ ml} \rightarrow C_2 = 0.4\text{ ppm P}_2\text{O}_5$$

Αντίστοιχα το 3^ο δείγμα θα είναι 0.8 ppm, το 4^ο δείγμα 1.2 ppm και το 5^ο δείγμα 1.6 ppm P₂O₅.

Έτσι για τη σειρά Α θα είναι:

P ₂ O ₅ (ppm)	Απορρόφηση
0.0	0.354
0.4	0.493
0.8	0.624
1.2	0.757
1.6	0.888



Η εξίσωση που δημιουργείται είναι της μορφής $Y = aX + b$, η προέκταση της ευθείας στο σημείο που τέμνει τον άξονα των X είναι η συγκέντρωση του άγνωστου δείγματος, όταν δηλαδή $Y=0$, οπότε λύνοντας την εξίσωση θα είναι $X = |-b/a|$. Το αποτέλεσμα θα πρέπει να έχει πάντα θετική τιμή, καθώς η συγκέντρωση δεν μπορεί να έχει αρνητικές τιμές.

Στο παράδειγμα η εξίσωση είναι $y = 0.3330x + 0.3568$, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του άγνωστου δείγματος στη σειρά A να είναι 1.071 6 ppm P₂O₅.

Αυτή όμως είναι η συγκέντρωση του δείγματος στον δοκιμαστικό σωλήνα σε P₂O₅, με τις αραιώσεις που ήδη έχει. Έχουν γίνει δύο αραιώσεις, μία αρχικά 1/20 και μία στον δοκιμαστικό σωλήνα, όπου προστέθηκαν 0.25 ml του αραιωμένου αναψυκτικού και αραιώθηκαν σε τελικό όγκο 5 ml.

Επίσης το τελικό αποτέλεσμα πρέπει να είναι σε P και όχι σε P₂O₅, έτσι η συγκέντρωση σε P στο αρχικό διάλυμα υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$P(\text{ppm}) = 20 * 20 * X(\text{ppm } P_2O_5) * \frac{62(P)}{142(P_2O_5)}$$

Όπου:

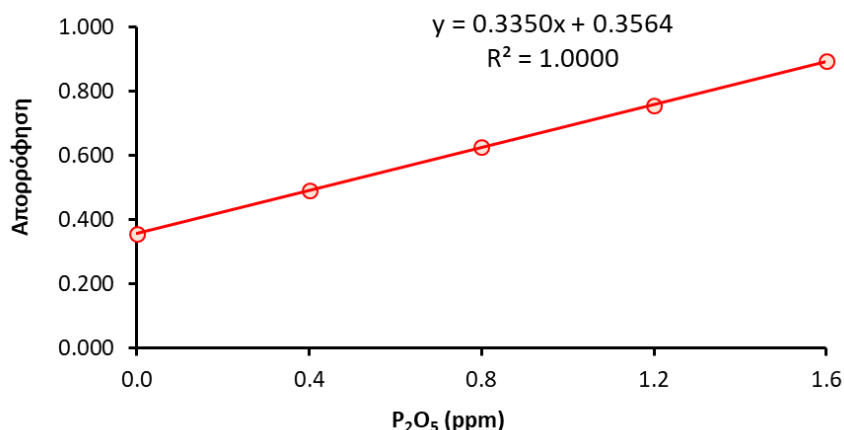
- **X** η τιμή που υπολογίστηκε από την μέθοδο της γνωστής προσθήκης (σε ppm P₂O₅)
- Πολλαπλασιάζεται με το 20 λόγω της πρώτης αραιώσης 1/20 του αναψυκτικού τύπου cola.
- Πολλαπλασιάζεται ξανά με το 20 λόγω της δεύτερης αραιώσης καθώς προστέθηκαν 0.25 ml από το αραιωμένο αναψυκτικό σε δοκιμαστικό σωλήνα με τελικό όγκο τα 5 ml, έτσι πραγματοποιήσατε μια δεύτερη αραιώση 0.25/5 δηλ. 1/20.
- Διαιρείται η μοριακή μάζα του P₂O₅ (142) και πολλαπλασιάζεται με την ατομική μάζα του φωσφόρου (62) ώστε να γίνει η μετατροπή από P₂O₅ σε P.

Έτσι η αρχική συγκέντρωση του άγνωστου δείγματος για την πρώτη σειρά είναι **C_A = 187.1 ppm (P)**.

Με τον ίδιο τρόπο υπολογίζεται τη συγκέντρωση P και στις δύο επόμενες σειρές του άγνωστου δείγματος:

Για τη σειρά Β:

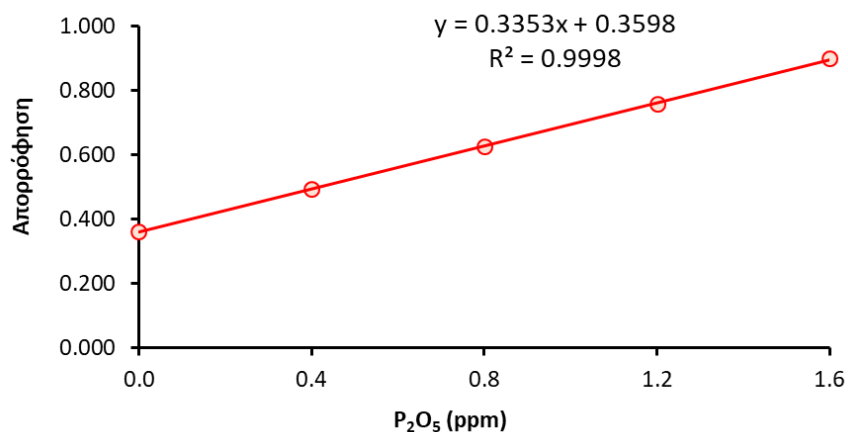
P ₂ O ₅ (ppm)	Απορρόφηση
0.0	0.356
0.4	0.491
0.8	0.625
1.2	0.757
1.6	0.893



Δίνοντας τελικό αποτέλεσμα C_B = 185.8 ppm (P).

Για τη σειρά Γ:

P ₂ O ₅ (ppm)	Απορρόφηση
0.0	0.361
0.4	0.495
0.8	0.626
1.2	0.758
1.6	0.900



Δίνοντας τελικό αποτέλεσμα C_Γ = 187.4 ppm (P).

Στις τελικές συγκεντρώσεις τυχόν αμφισβητούμενη τιμή θα πρέπει να διερευνηθεί η αξιοπιστία της, πραγματοποιώντας το Q-test, ώστε να διευκρινιστεί αν απορρίπτεται ή όχι.

Διάλυμα	Συγκέντρωση P (ppm)
C _A	187.1
C _B	185.8
C _Γ	187.4

Στα αποτελέσματα υπολογίζεται τη μέση τιμή και τη τυπική απόκλιση του αναψυκτικού σε συγκέντρωση φωσφόρου(P) σε ppm.

Συγκέντρωση αγνώστου σε P	ppm
Μέση τιμή	186.8
Τυπική απόκλιση	0.9

Βίντεο:

Αναλυτική περιγραφή της διαδικασίας παρουσιάζεται στο βίντεο της άσκησης στη ιστοσελίδα του μαθήματος στο e-class καθώς και στο κανάλι του εργαστηρίου στο youtube:



Εργ. Αναλυτικής II:



<https://www.chemistry.uoc.gr/eclass/modules/document/?course=CHEM-UNDER115>

Youtube:



<https://www.youtube.com/channel/UCrrDdUXUiTxyhezA140Rlew>

Ερωτήσεις – Ασκήσεις:

1. Περιγράψετε τη μέθοδο «μπλε του μολυβδαινίου»
2. Ποιος είναι ο ρόλος του ασκορβικού οξέος στη μέθοδο «μπλε του μολυβδαινίου»;
3. Η καμπύλη αναφοράς είναι $Y = 0.4500 \cdot X + 0.080$, όπου Y η απορρόφηση και X η συγκέντρωση των πρότυπων διαλυμάτων σε ppm P_2O_5 . υπολογίσετε την συγκέντρωση του αρχικού δείγματος σε ppm P .
4. Στα 830 nm χρησιμοποιήσατε κυψελίδες από πλαστικό, θα μπορούσατε να χρησιμοποιήσετε κυψελίδες γυάλινες ή από χαλαζία;