

Spektrofotometrija

Uzdevums: Noteikt ar spektrofotometru "JanyWay" riboflavīnu vitamīnu B₂ vienā no paraugiem un novērtēt jūtības sliekšni aprēķinot molāro absorbcijas koeficientu:

Nr.1, Nr.2, Nr.3, Nr.4, Nr.5, Nr.6., Nr.7, Nr.8, Nr.9, Nr.10, Nr.11,Nr.12., Nr.13, Nr.14.

Kalibrēšanas grafika izgatavošanas vēsture.

1. No standarta riboflavīna šķīduma $C_{\text{riboflavīns}}=0.04$ mg/mL ar destilētu ūdeni

pagatavoti 8 astoņās mēģenēs 10 mL standarta šķīdumi.

2. Aprēķinātās koncentrācijas: $C_{B_2} = \frac{C_{\text{Riboflavīns}} \cdot V_{B_2}}{10\text{mL}}$ fiksētas datu tabulā.

3. Iestādiēt spektrofotometrā "JanyWay" viļņa garumu $\lambda = 445$ nm un nomēriēt absorbciju

$A_x = \log(I_0/I)$ izvēlētajam **parauga** Nr. _____. Lietojiet kalibrēšanas grafiku un nolasiēt noteikto koncentrāciju **paraugā** C_x .

2. tabula. Kalibrēšanas šķīdumi

Šķīdums Nr.	tukšais	1	2	3	4	5	6	7	8
V _{B2} (mL) C _{B2} =0.04	0.00	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00	3.50	4.00
mL V _{ūdens}	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00	6.50	6.00
Absorbciija $A = \log(I_0/I)$	0.000	0.063	0.121	0.184	0.247	0.302	0.368	0.426	0.482
C _{B2} ,mg/mL	0,000	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016

Aprēķiniet molaritāti B₂ šķīdumam $C_M = C_x/M_{B_2}$ un molāro absorbcijas koeficientu a M⁻¹cm⁻¹, ja stikla kivetes biezums zināms. Ar lineālu pārbaudiet kivetes biezumu! $l = 1$ cm vai arī nav?

$$C_M = C_x/M_{B_2} = \dots\dots\dots \text{g/L} / \dots\dots\dots \text{g/mol} = \dots\dots\dots \text{M}^{-1}$$

$$a_{445} = A_x/C_M \cdot l = \frac{A_x}{C_M \cdot l}, \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1} = \dots\dots\dots = \dots\dots\dots \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\text{Koncentrācija paraugā : } C_x = \dots\dots\dots \text{mg/mL} = \text{g/L}$$

Kalibrēšanas grafika līnija $A = a \cdot C \cdot l$ vilkta cauri nulles punktam, jo $A = C = 0$

Spektrofotometrā "JanyWay" nomēra **parauga** analīzes absorbciju A_x un lietojot grafiku aprēķina tā koncentrāciju C_x (mg/mL).

Pārvērtiet aprēķināto rezultātu riboflavīna saturam miligramu procentos mg%, kas

$$\text{parāda daudzumu uz 100 mL parauga } \text{mg}\% = \text{mg}/100\text{mL} \cdot 100\% = \dots\dots\dots \text{mg}\%$$

Mola masa oksidētai riboflavīna B₂ vitamīna formai ir $M_{B_2} = 454.35$ g/mol.

Izmantojot izveidoto kalibrēšanas taisni un nezināmas koncentrācijas paraugu absorbcijas vērtības, nosakiet katra mērītā parauga masas koncentrāciju $\gamma = C_{\text{riboflavīns}}$, mg/mL=g/L!

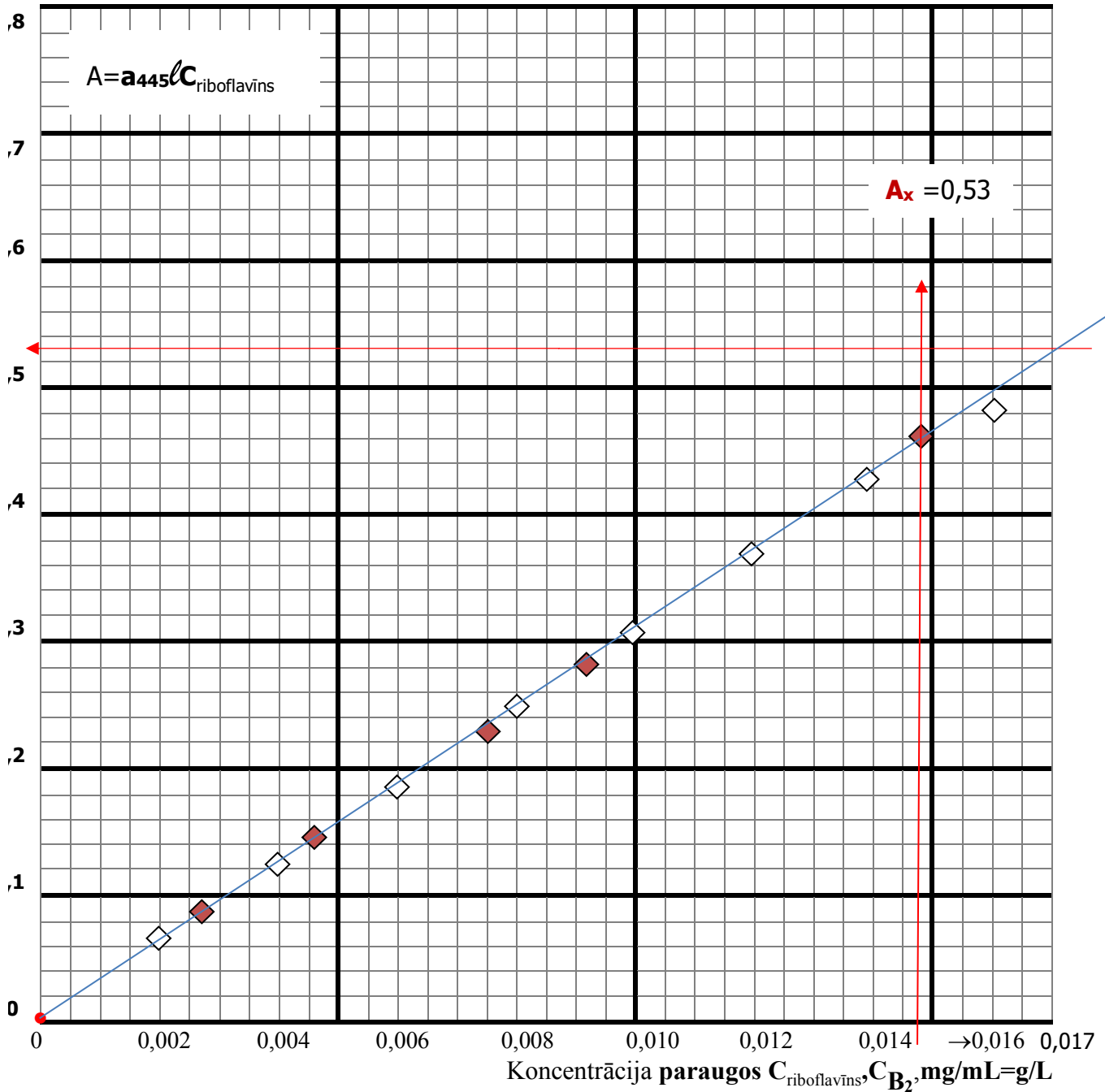
1) Nosakiet mērīto paraugu masas koncentrāciju, izmantojot kalibrēšanas taisni!

3. tabula. Mērīto šķīdumu koncentrācijas

Paraugs Nr.	1	2	3	4	5
Absorbciija A_x	0,147	0,452	0,086	0,228	0,280
Koncentrācija γ , mg/mL	0,0046	0,014	0,00275	0,0075	0,00925

Ja veidojāt grafiku gan uz papīra, gan izmantojot datorprogrammu, salīdziniet iegūtos rezultātus un izvērtējiet abu metožu priekšrocības.

$\uparrow A = a_{445} \cdot C \cdot \ell = \log(I_0/I)$ Vieta kalibrēšanas grafikam $A-C_{B_2}$



Kalibrēšanas grafika līnija $A = a_{445} \cdot C \cdot \ell$ vilkta cauri nulles punktam, jo $A = C = 0$

spektro fotometrā "JanyWay" nomēra **parauga** analīzes absorbciju A_x un lietojot grafiku aprēķina tā koncentrāciju C_x (**mg/mL**).

Pārvērtiet aprēķināto rezultātu riboflavīna saturam miligramu procentos mg%, kas parāda daudzumu uz 100 mL parauga $\text{mg}\% = \text{mg}/100 \text{ mL} \cdot 100\% = \dots \text{mg}\%$

Mola masa oksidētai riboflavīna B_2 vitamīna formai ir $M_{B_2} = 454.35 \text{ g/mol}$.

Aprēķiniet molaritāti B_2 šķīdumam $C_M = C_x / M_{B_2}$ un molāro absorbcijas koeficientu a $M^{-1}cm^{-1}$, ja stikla kivetes biezums zināms. Ar lineālu pārbaudiet kivetes biezumu! $l = 1$ cm vai arī nav?

$$C_M = C_x / M_{B_2} = 0,017 \text{ g/L} / 454,35 = 3,74 \cdot 10^{(-5)} \text{ (mol/L) } M^{-1}$$

$$a_{445} = A_x / C_M \cdot l = \frac{A_x}{C_M \cdot l}, M^{-1}cm^{-1} = 0,53 / 3,74 / 10^{(-5)} = 14171 M^{-1}cm^{-1}$$

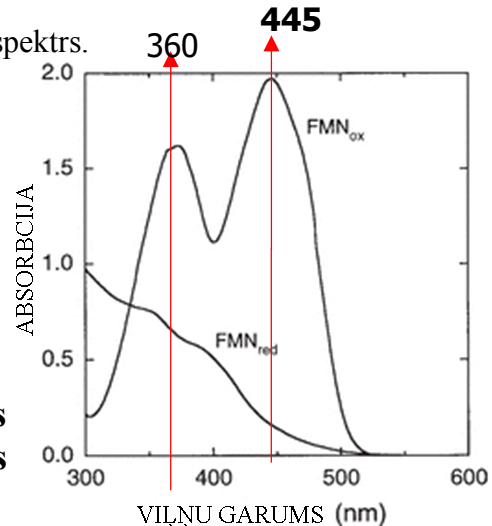
Absorbcija A_x nosaka koncentrāciju analizē: $C_M = A_x / a_{445} / l = 0,53 / 14171 / 1 = 3,74 \cdot 10^{(-5)} \text{ (mol/L) } M^{-1}$.

Zīm. Riboflavīna B_2 vitamīna oksidētās un reducētās formas spektrs.

Molārais absorbcijas koeficients ir $a_{360} = 10500 M^{-1}cm^{-1}$ pie $\lambda = 360$ nm un $a_{445} = 15499 M^{-1}cm^{-1}$ pie $\lambda = 445$ nm.

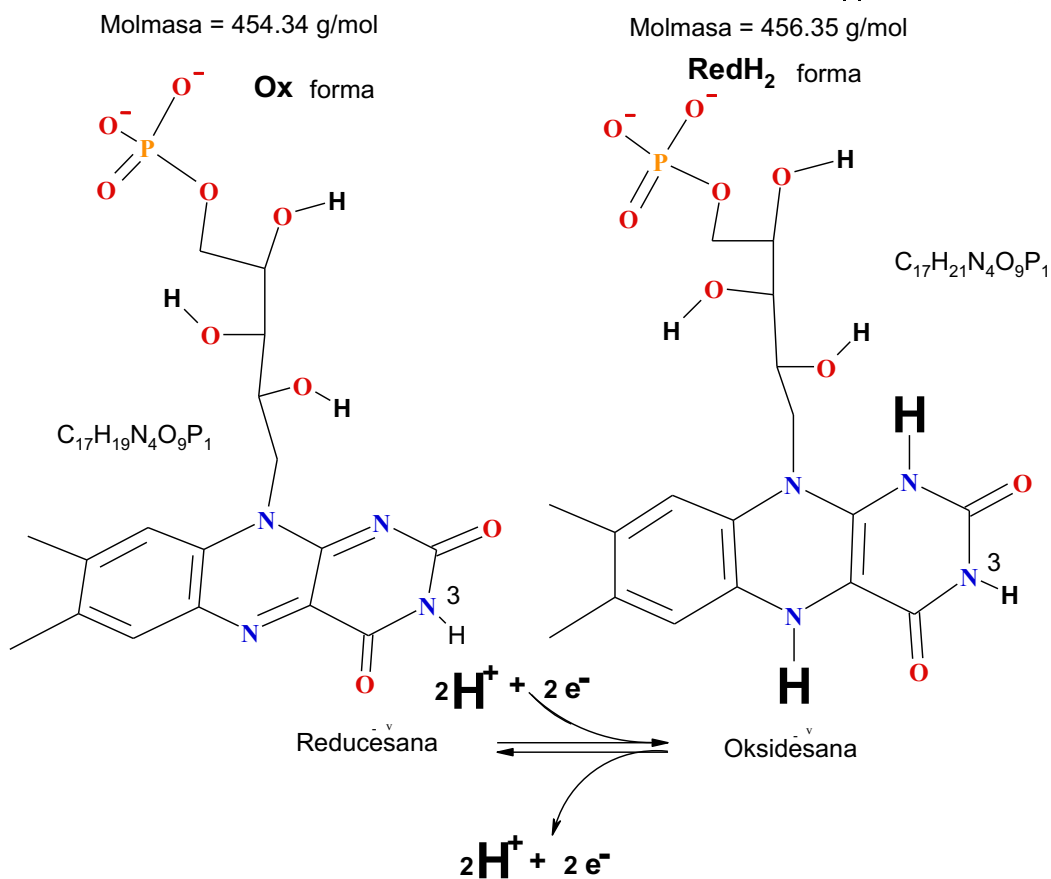
Olbaltumvielas dažkārt pazemina $pK_a = 10,3$ N(3)-H protona protolīzes konstanti brīvam flavīnam un samazina molāro absorbcijas koeficientu $a_{445} = 9200 M^{-1}cm^{-1}$. Piemēram glikolāta oksidāzēs. Olbaltumvielas izraisa saistītā flavīna protolītisku deprotonēšanu N(3)-H \Rightarrow N(3) $^-$ +H $^+$.

Latīņu *flavus* – dzeltens.



FMN Flavīna mono nukleotīds riboflavīns-5'-fosfāts B_2 vitamīns

<http://aris.gusc.lv/FlavinMonoNucleoB2vitamPO4.Tgf>



FMN+2 H oksidētā forma Ox + 2 H = Reducētā forma RedH₂ FMNH₂

Oksidētā forma pievieno divus ūdeņraža atomus +2 H veidojot reducēto formu RedH₂,

Abas Ox un RedH₂ formas ir ūdenī šķīstošas divu ūdeņraža atomu H un H pārnēsēji kuri pārnes atomus kopā ar diviem elektroniem kā summu 2H⁺ + 2e⁻.

Bioķīmiska oksidēšanās – reducēšanās reakcijas realizējas ar ūdenī šķīstošu divu elektronu ekvivalentu pārnesi. Bioķīmija sauc vitamīnus par enzīmu kofaktoriem.

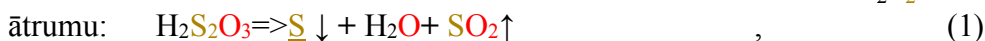
Nelielas molekulas ātrai pārnesi sauc par kofaktoriem. Vitamīns B2 ir kofaktors oksidoreduktāzēm. Kofaktorus - vitamīnus iepazīsim bioķīmijas kursā.

Secinājumi

1. Riboflavīns B₂ vitamīns **2 H** pārnēsējs ENZĪMU klasē E.....
- 1b. Reducēšanair:ūdeņražapievienošana..... 1c. Oksidēšanairūdeņražaaatraušana
2. Riboflavīns absorbē gaismu pie viļņu garumiemnm un.....nm
3. Krītošās gaismas intensitātes **I₀** attiecība pret cauri izgājušo **I** logaritms.....
ir absorbcijas mērījums **A_x**=.....
4. Absorbciju mērījumā aprēķina kā logaritmisku izteiksmi **A_x=log(I₀/I)**=.....
5. Riboflavīna koncentrācija paraugā **Nr**..... uzrāda absorbcijas vērtību **A_x**=.....
6. Bēra-Bugēra-Lamberta likumam **A_x= a₄₄₅•C• ℓ=log(I₀/I)** atbilstoši gaismas absorbcija
A_x ir proporcionāla vitamīna B₂ koncentrācijai **C_x**=.....g/L
riboflavīna vitamīna B₂molārā koncentrācija ir **C_M**=.....mol/L.
7. Molārās absorbcijas koeficienta vērtība pie $\lambda=445$ nm ir **a₄₄₅=13383,8**....

Reakcijas ātrums proporcionāls reaģējošo vielu koncentrācijai

Uzdevums: Novērot $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nātrija tiosērskābes koncentrācijas $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ietekmi uz reakcijas



$$\vec{v} = \frac{\Delta[\text{S}]}{\Delta t} \quad , \quad (2)$$

$$\vec{v} = k \cdot \text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3 \quad (3)$$



kur $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ir vāja skābe elektrolīts $\alpha \rightarrow 0$ that decays according reaction (1).

Darba gaita: Iepildīt trijās vienādās mēģenēs (§ 1, § 2, § 3, § 4, § 5) 0.5 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nātrija tiosulfata šķīdumus un ūdeni (destilētu H_2O) pagatavojot dažādas koncentrācijas;

2.) Citās piecās mēģenēs 2 mL 1.5 N H_2SO_4 sērskābes.

Mēģenē § 1 samaisa $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ar 2 mL 1.5 N H_2SO_4 un ieslēdz hronometru!

I		II		Datu tabula $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{SO}_4$		
Sāls Nr.	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,5 mol/L tilpums, mL	H_2O mL	Izveidotā $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ šķīduma koncentrācija, mol/L	Laiks t, sek	ātrums, $\vec{v} = 1/t, \text{ s}^{-1}$	Laikskāpniecība, $t_C = \tau^{1/2} \ln(C^0/C_M)/\ln 2$
1.	10	0	$10 \cdot 0,5/12 = 0,417$	19	$1/19 = 0,0526$	sākotnējais $C^0 = 0$ s
2.	8	2	$8 \cdot 0,5/12 = 0,333$	24	$1/24 = 0,04167$	1,814062
3.	6	4	$6 \cdot 0,5/12 = 0,25$	33	$1/33 = 0,0303$	4,126011
4.	4	6	$4 \cdot 0,5/12 = 0,167$	55	$1/55 = 0,01818$	7,379777
5.	2	8	$2 \cdot 0,5/12 = 0,0833$	114	$1/114 = 0,00877$	12,98901

Ieraksta trīs mēģeņu (§ 1, § 2, § 3, § 4, § 5) reakciju laika t mērījumu rezultātus tabulā!

Aprēķina $= 1/t \text{ sek}^{-1}$ reakcijas ātrumu no datiem (§ 1, § 2, § 3, § 4, § 5) tabulā!

Iezīmē grafisko ātruma \vec{v} , sek^{-1} atkarību no koncentrācijas $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$

No grafika aprēķina konstanti k dalot \vec{v} , sek^{-1} ar koncentrāciju $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 0,5 \text{ M}$:

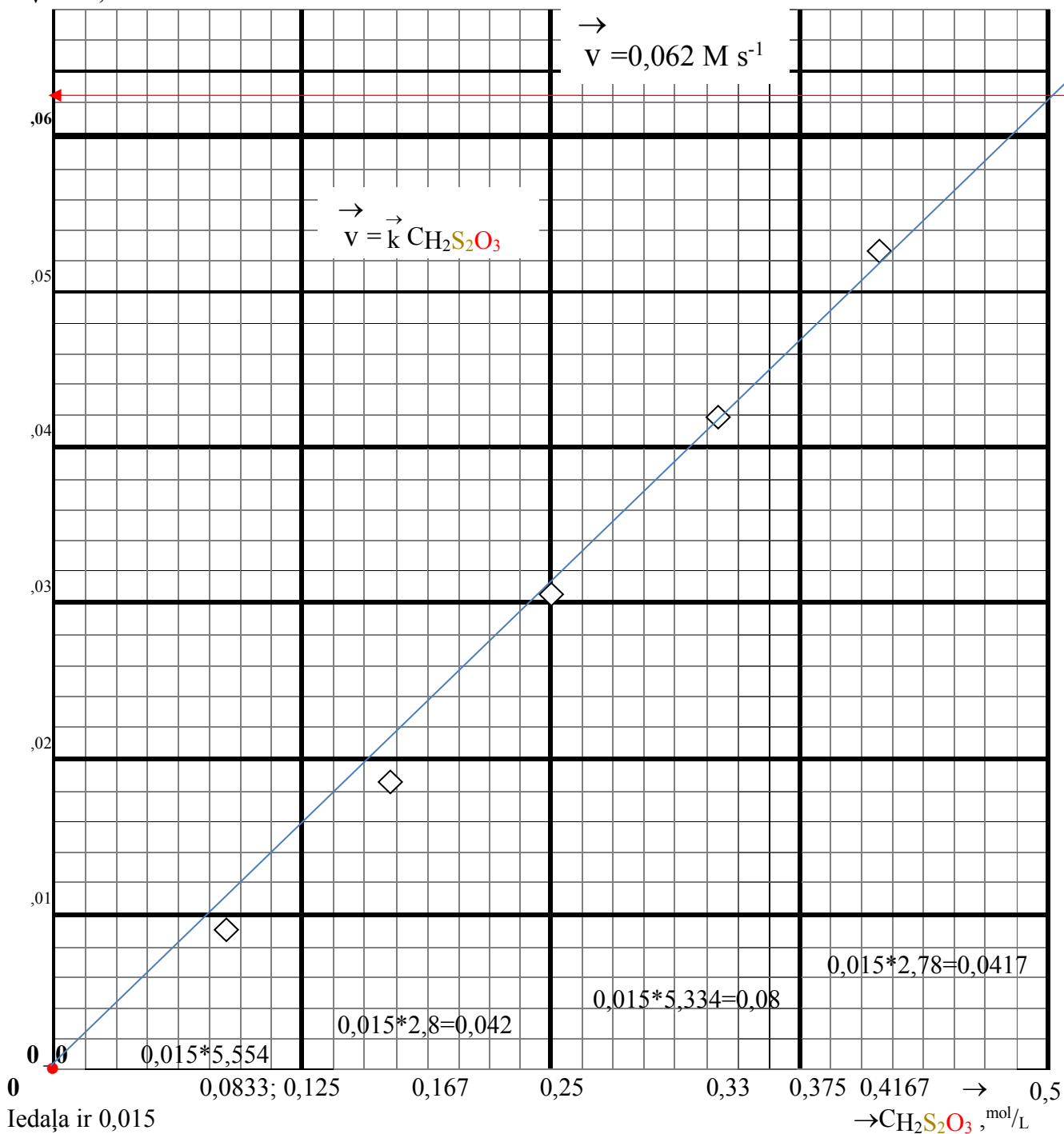
Ātrums (velocity) $\vec{v} = k \cdot \text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$; ātrumkonstante: $k = \vec{v} / \text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 0,062/0,5 = 0,124 \text{ sek}^{-1}$

Pus sadalīšanās laiks: $\tau^{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = 0,693/0,124 = 5,59 \text{ sek}$; $t_{1/10} = \frac{\ln 10}{k} = 2,3/0,124 = 18,6 \text{ sek}$;

Secinājumi

- Darbības likums! Ātrums \vec{v} ir proporcionāls reaģējošo vielu koncentrācijai $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
- ātrumkonstantes fizikālā jēga $k = 0,124 \text{ sek}^{-1}$ ir vienāds ar ātrumu ja koncentrācija ir $C = 1 \text{ M}$ viens!
- Pus sadalīšanās laiks $\tau^{1/2} = 5,59$ sekundes ir laiks, kad vielas daudzums samazinās uz pusi!
- Cik ilgi $t_{1/10} = 18,6$ sekundes jāgaida līdz tiosērskābes koncentrācija $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$ samazinātos 10 reizes?

$$\uparrow \vec{v} = 1/t, \text{M s}^{-1}$$



Iedaļa ir 0,015

Secinājumi

- Darbīgo masulikums! Ātrums \vec{v} ir proporcionāls reaģējošo vielu koncentrācijai $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
- ātruma konstantes fizikālā jēga $k = 0,124 \text{ sek}^{-1}$ ir vienāda ar ātrumu ja koncentrācija ir $C = 1 \text{ M}$ viens!
- Pus sadalīšanās laiks $\tau_{1/2} = 5,59$ sekundes ir laiks, kad vielas daudzums samazinās uz pusi !
- Cik ilgi $t_{1/10} = 18,6$ sekundes jāgaida, lai tiosērskābes koncentrācija $\text{CH}_2\text{S}_2\text{O}_3$ samazinātos 10 reizes?

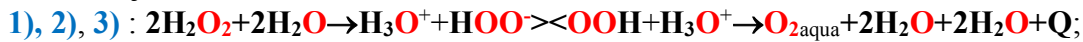
Katalīze

Dažādi katalizatori 2 mēģenēs katrā ielej aptuveni 1 mL H₂O₂ šķīduma.

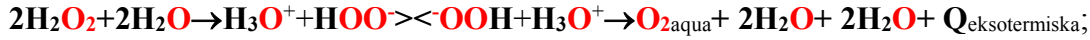
Vienā mēģenē pievieno lāpstiņu oksīda Fe(+3)₂O₃. Otrā mēģenē pievieno lāpstiņu oksīda Mn(+2)O.

1) Protolīze H₂O₂ deprotonē par anjoniem 2H₂O₂+2H₂O→H₃O⁺+HOO⁻+OOH⁻+H₃O⁺ pK_a= 11,75.

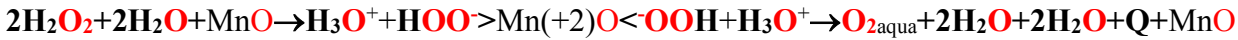
2) Deprotonēto negatīvo anjonu HOO⁻<OOH⁻ sadursme ar aktivācijas enerģiju E_a=79000 J/mol disproporcionē, oksidē sadursmes skābekļa atomus par O₂ aqua un otrs reducē par 2 OH⁻ joniem, kuri 3) neitralizējas ūdenī 2OH⁻+2H₃O⁺→2H₂O+2H₂O.



1) Reakcija sākas ar protolīzi, tad 2) sadursmē disproporcionē OO atomus un 3) beigās neitralizējas.



Negatīvo jonu sadursme ar pozitīvu +2 HOO⁻>Mn(+2)O<OOH⁻ aktivācijas enerģija ir E_a=790 J/mol



Katalīzē negatīvo un pozitīvo jonu sadursmē HOO⁻>Fe³⁺ aktivācijas enerģija E_a=29 J/mol samazinās:



Protolīze aktivē aktīvo pārejas kompleksu **skābeklis+ ūdens+ siltums+ KATALIZATORS**

Negatīvie joni sadursmē ar pozitīvo dzelzs Fe³⁺ jonu dzīvības resursus veido 30 miljonus reižu ātrāk.

Pierakstiet novērojumus un ķīmiskās reakcijas vienādojumu. Seciniet,

kurš katalizatorsefektīvāks adalaūdeņražaperoksīdu H₂O₂. Nosakiet,

vaidotiekatalīzes procesi ir homogēni vai heterogēni.

2. Autokatalīze (paškatalīze)

Divās mēģenēs katrā ielej aptuveni 2 mL kālija permanganāta KMnO₄ šķīduma.

Abās mēģenēs pievieno aptuveni 1 mL sērskābes H₂SO₄ šķīduma.

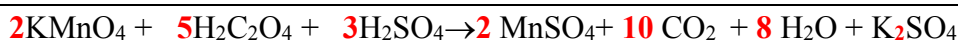
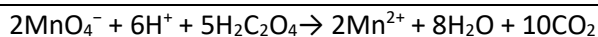
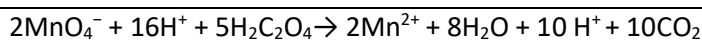
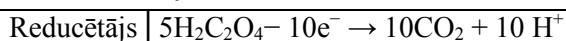
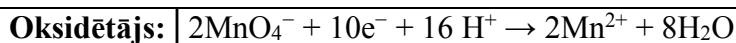
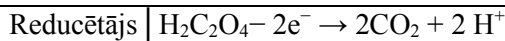
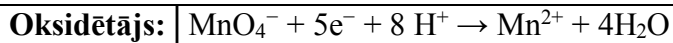
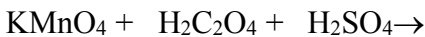
Vienā no mēģenēm pievieno lāpstiņu cieta mangāna(II) sulfāta MnSO₄.

Abās mēģenēs pievieno aptuveni 1 mL skābeņskābes H₂C₂O₄ šķīduma.

Pierakstiet novērojumus. Atzīmējiet, kurā no mēģenēm KMnO₄ krāsa izzūd ātrāk.

Pabeidziet ķīmiskās reakcijas ox-red vienādojumu.

Izskaidrojiet mangāna(II) jonu Mn²⁺ lomureakcijā!



Secinājumi

1. Heterogēnais katalizators reakcijā iesaistās ar virsmas laukuma aktīvajiem centriem piedaloties reakcijā, tā pēc reakcijas ātrums ir proporcionāls virsmas laukumam S.

2. Auto katalīzi KMnO₄ + H₂C₂O₄ + H₂SO₄ katalizē. reakcijas produkta jons Mn²⁺