

# **CHEMISTRY: ART, SCIENCE, FUN**



## **PRAKTIJINE VOOR**

**18. JULI 2007  
MOSKVA, VENEMAA**

## Üldised juhised

- **ohutusreeglid** Järgige Preparatory Problems'is antud nõudeid, söömine ja joomine pole laboris lubatud.
- **ohutusreeglite** rikkumise korral saate te esmalt hoiatuse, järgmise rikkumise korral kõrvaldatakse teid võistluselt.
- **ülesannete tekst** koosneb 12 leheküljest (kaasa arvatud tiitelleht ja perioodilisustabel), mis sisaldavad kahte ülesannet. Alustage ülesandest 1.
- **aeg** 5 tundi; teid informeeritakse 30 minutit enne lõppu.
- **vastustelehed:** 6 lehekülge (tiitelleht kaasa arvatud).
- **teie nimi ja student code** tuleb kirjutada **igale** vastustelehele.
- **vastused** kirjutage vastustelehtedele ainult selleks ette nähtud kohtadesse, mujale kirjutatud andmeid ei hinnata. Esitage oluliste arvutuste käik.
- **kasutage ainult teile antud sullepead ja arvutit.**
- **tulemustes** peab tüvenumbrite arv vastama eksperimentaalsete andmete vea hinnangu reeglitele. Selles tehtud eksimuste eest antakse karistuspunkte isegi kui teie eksperimenditehnika on veatu.
- **bürett**, võtke näit nii täpselt kui võimalik.
- **kui vajate rohkem kemikaale**, siis küsige seda oma juhendajalt. Selle eest ei anta karistuspunkte.
- **kui te vajate täiendavat proovi analüüsiks või lõhute kolonni**, siis te saate 10 karistuspunkti.
- **küsimused**, mis puudutavad ohtusnõudeid, seadmeid, kemikaale, töökorraldust, tualetiskäimist esitage **oma labori juhendajale**.
- **keemilised jäägid** pange ainult selleks ette nähtud nõusse.
- **ametlik inglisekeelne versioon on** küsimisel saadaval ainult **selgituste hankimiseks**. Küsige labori juhendajalt.
- **pärast stopp-signaali** pange oma vastustelehed ja spektrid ümbrikusse (ärge kleepige kinni), andke need labori juhendaja kätte. Ülesannete tekst, sullepea ja kalkulaator võtke endaga kaasa.
- **te peate lõpetama oma töö koheselt, kui antakse stopp-signaali. 5 minutiline viivitus toob kaasa käsiloleva ülesande eest null punkti.**
- **praktilise töö käigus** tuleb teil plastik- ja klaasvahendeid kasutada korduvalt. Peske neid hoolikalt.

## Kasutatavad kemikaalid

Reagent	Kogus	Asukoht	Etikett
<b>1. ülesanne</b>			
Eluent 1	100 mL	Pruunist klaasist pudel *	Eluent 1
Eluent 1	1 mL	Eppendorf	Eluent 1
Eluent 2	50 mL	Pruunist klaasist pudel *	Eluent 2
Eluent 2	1 mL	Eppendorf	Eluent 2
Eluent 3	50 mL	Pruunist klaasist pudel *	Eluent 3
Eluent 3	1 mL	Eppendorf	Eluent 3
0.5 M Karbonaatpuhvri lahus, pH 9.5	10 mL	Klaasnõu	NaHCO <sub>3</sub>
0.5 M Tris-HCl puhverlahus, pH 8.5	10 mL	Klaasnõu	Tris-HCl
Analüüsiv aminohapete segu **	1.2 mL	Eppendorf	Number 301 ja 600 vahel
Ellmanni reagent: 0.2 M fosfaatpuhvri lahus, mis sisaldab 10 mM EDTA ja 3 mM 5,5'-Ditiobis(2-nitrobensoehapet), pH 7.0	10 mL	Klaasnõu	DTNB
Pauli reagent: naatrium-4-diasoonium-benseenesulfoonaadi lahus 0.1 M HCl vesilahuses	1 ml	Eppendorf	Pauli
Naatriumhüdroksiid, 10% vesilahus	10 mL	Klaasnõu	NaOH 10%
8-Hüdroksükiniin, 5.2 mM lahus etanool/n-butanool (9:1) segus	5 ml	Klaasnõu	8-HQ
Naatriumhüdrobromit, 0.24 M lahus 10% NaOH vesilahuses	1.2 ml	Eppendorf	NaBrO
2,4,6-Trinitrobenseenesulfoanhape, 3.4 mM vesilahus	1 mL	Eppendorf	TNBS
8 M urea vesilahus	1 mL	Eppendorf	Urea
<b>Task 2</b>			
HCl, standardlahus, ~1 M (täpne väärtus on pudeli etiketil)	40 mL	Pruunist klaasist pudel	HCl <ja täpne kontsentratsioon >
NaOH (tuleb standardiseerida)	200 mL	Pruunist klaasist pudel	NaOH
Pulbriline analüüsiv proov **	0.5 – 1 g	Uuriklaasiga kaetud 150 mL keeduklaas	<töökoha number>
H <sub>2</sub> O, destilleeritud	400 mL	Plastikust pesupudel	H <sub>2</sub> O
H <sub>2</sub> O, destilleeritud (kahe võistleja jaoks)	30 mL	Klaasist tilgapudel	H <sub>2</sub> O
H <sub>2</sub> O, destilleeritud (tavakasutuseks)	5 L	Toruga ja klambriga varustatud pudel laua otsas	H <sub>2</sub> O
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 15% lahus (kahe võistleja jaoks)	20 mL	Klaasist tilgapudel	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 15%
Bromokresoolroheline, 0.5% lahus 20% etanoolis (3-4 kõrvuti töötava võistleja jaoks)	30 mL	Klaasist tilgapudel	Bromocresol green
Tümoofltaleiin, 0.5% lahus etanoolis (3-4 kõrvuti töötava võistleja jaoks)	30 mL	Klaasist tilgapudel	Thymolphthalein
K <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , 15% lahus (kahe võistleja jaoks)	50 mL	Pruunist klaasist pudel	K <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 15%

\*Kinnitatud ülemise riiuli külge (ärge üritage neid eemaldada), koos ühendusvooliku ja klambriga

\*\*10 karistuspunkti täiendava proovi eest

### Eluentide 1 kuni 3 koostis

Eluent 1: 0.1 M naatriumtsitraadi vesilahus, 50 mM naatriumkloriid, 40 mM tioglükool, 1 mM kaprüülhape, 0.1% Brij-35; pH 4.9.

Eluent 2: 0.2 M naatriumfosfaadi vesilahus, 0.1% Brij-35; pH 7.0.

Eluent 3: 0.2 M naatriuhüdroksiidi vesilahus.

## Aparatuur ja vahendid

Nimetus	Hulk
Katseklaasihoidja	1
Statiiv	1
Ioonvahetusvaiguga täidetud kromatograafiakolonn	1
Valge paberiga kaetud statiiv	1
Kahene bürethoidja	1
Lehtri rõngas	1
25 mL bürett	1
100 mL pudel etiketiga "Waste"	1
100 mL mõõtkolb	2
100 mL Erlenmeyeri kolb	2
Süstal nõelaga	1
Gradueeritud katseklaasid fraktsioonide kogumiseks ja segude valmistamiseks	50
96-auguline plaat	1
Automaatpipett (mikropipett) 0.1 mL fikseeritud ruumala jaoks	1
Pipetiotsad (sinises plastiktopsis)	20
Spektrofotomeetri küvetid etiketiga "A1", "B1", "A2", "B2", "A3", "B3" küvettide hoidjas	6
10 mL gradueeritud plastikpipetid	3
10 mL klaaspipett	1
Pipetitaitja	1
3-käiguline balloon	1
Klaaspulk	1
Filtrimise lehter	1
Väike lehter	1
60 mL Pruunist klaasist pudel ühendatud fraktsioonide jaoks (etikettidega "peaks <1-3>")	3
10 mL Mõõtsilinder etiketiga "K <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 15%" (kahe võistleja jaoks)	1
10 mL Mõõtsilinder (kahe võistleja jaoks)	1
50 mL Mõõtsilinder	1
100 mL Mõõtsilinder etiketiga "H <sub>2</sub> O" (3-4 kõrvuti töötava võistleja jaoks)	1
Plastiktaldrik filtritega *** (3-4 kõrvuti töötava võistleja jaoks)	3 filtrit võistlejale
Kuumutusplaat (tõmbekapi all üldiseks kasutamiseks)	6 plaati tõmbekapi kohta
Kummist abivahendid (tõmbekapi all üldiseks kasutamiseks)	6 paari tõmbekapi kohta
Spektrofotomeeter (võistlejate grupi jaoks; vaadake oma töökohalt millise numbriga spektrofotomeetrit teil tuleb kasutada "SP _____")	
Marker	1
Joonlaud	1
Valge paberileht	1

\*\*\*Vajadusel küsige juhendajalt filtreid juurde.

## Safety regulations, S-phrases, R-phrases

Disodium hydrogen phosphate	R:36/37/38 S:26-36
Ethylenediaminetetraacetic acid, disodium salt	R:36/37/38 S:26-36/37/39
Tris-HCl	R:36/37/38 S:26-36
Arginine	R:36 S:26
Cysteine	R:22
Histidine	S:22-24/25
Hydrochloric acid	R:34-37 S:26-36-45
Sodium 4-diazoniumbenzenesulfonate	R:1-37/37 S:26-36
Sodium hydroxide	R:34-35 S:26-36-37/39-45
8-Hydroxyquinoline	R:22-36/37/38 S:26-36/37
Ethanol	R:11 S:7-16
Butanol-1	R:10-22-37/38-41-67 S:7/9-13-26-37/39-46
Sodium hypobromite	R31-34 S:26-36-45
5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)	R:36/37/38 S:26-36
2,4,6-Trinitrobenzene sulfonic acid	R: 1-22-36/38-43 S: 26-36/37
Sodium chloride	R:36 S:26
Thiodiglycol	R:36 S:26
Caprylic acid	R:34 S:26-27-45-36/37/39
Brij-35	R:36/37/38 S:26-36
Sodium dihydrogen phosphate	S:22-24/25
Sodium carbonate	R:36 S:22-26
Calcium carbonate	R:41-37/38 S:26-39
Bromocresol Green	S:22-24/25
Thymolphthalein	S:22-24/25
Potassium oxalate	R:34 S:26-27-36/37/39

### Risk Phrases

#### Indication of Particular Risks

- |  |  |
|--|--|
| <p>R1: Explosive when dry</p> <p>10: Flammable</p> <p>22: Harmful if swallowed</p> <p>31: Contact with acids liberates toxic gas</p> <p>34: Causes burns</p> | <p>35: Causes severe burns</p> <p>36: Irritating to the eyes</p> <p>37: Irritating to the respiratory system</p> <p>41: Risk of serious damage to eyes</p> <p>43: May cause sensitization by skin contact</p> <p>67: Vapors may cause drowsiness and dizziness</p> |
|--|--|

#### Combination of Particular Risks

- R24/25: Toxic in contact with skin and if swallowed
- 36/37/38: Irritating to eyes, respiratory system and skin
- 36/38: Irritating to eyes and skin
- 37/38: Irritating to respiratory system and skin

### Safety Phrases

#### Indication of Safety Precautions

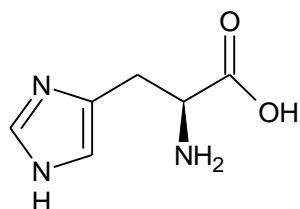
- |  |   |
|--|---|
| <p>S13: Keep away from food, drink and animal feeding stuffs</p> <p>22: Do not breathe dust</p> <p>26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice</p> <p>27: Take off immediately all contaminated clothing</p> <p>36: Wear suitable protective clothing</p> | <p>39: Wear eye/face protection</p> <p>45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show label where possible)</p> <p>46: If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label</p> |
|--|---|

#### Combination of Safety Precautions

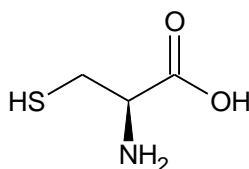
- |  |  |
|--|--|
| <p>7/9: Keep container tightly closed and in a well-ventilated place</p> | <p>24/25: Avoid contact with skin and eyes</p> <p>36/37/39: Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection</p> <p>37/39: Wear suitable gloves and eye/face protection</p> |
|--|--|

## Ülesanne 1. Aminohapeteioonvahetuskromatograafia

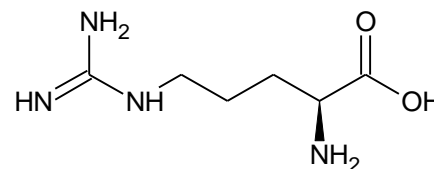
Ioonvahetuskromatograafia on tähtis analüütiline ja preparatiivne meetod, mis võimaldab fraktsioneerida laengut omavaid aineid. Meetodi aluseks on ainete ioonsete rühmade vastasmõju vaigule seotud vastasioonidega. Selles ülesandes tuleb teil eraldada antud kolme aminohappe segu ja määrata seejärel iga kolonnist elueeritud aminohape kvantitatiivselt, kasutades selleks spetsiifilisi värvireaktsioone. Kuna võistlejad peavad oletatavasti ootama spektrofotomeetri järjekorras, siis **soovitame tungivalt alustada 1. Ülesandega**



His



Cys



Arg

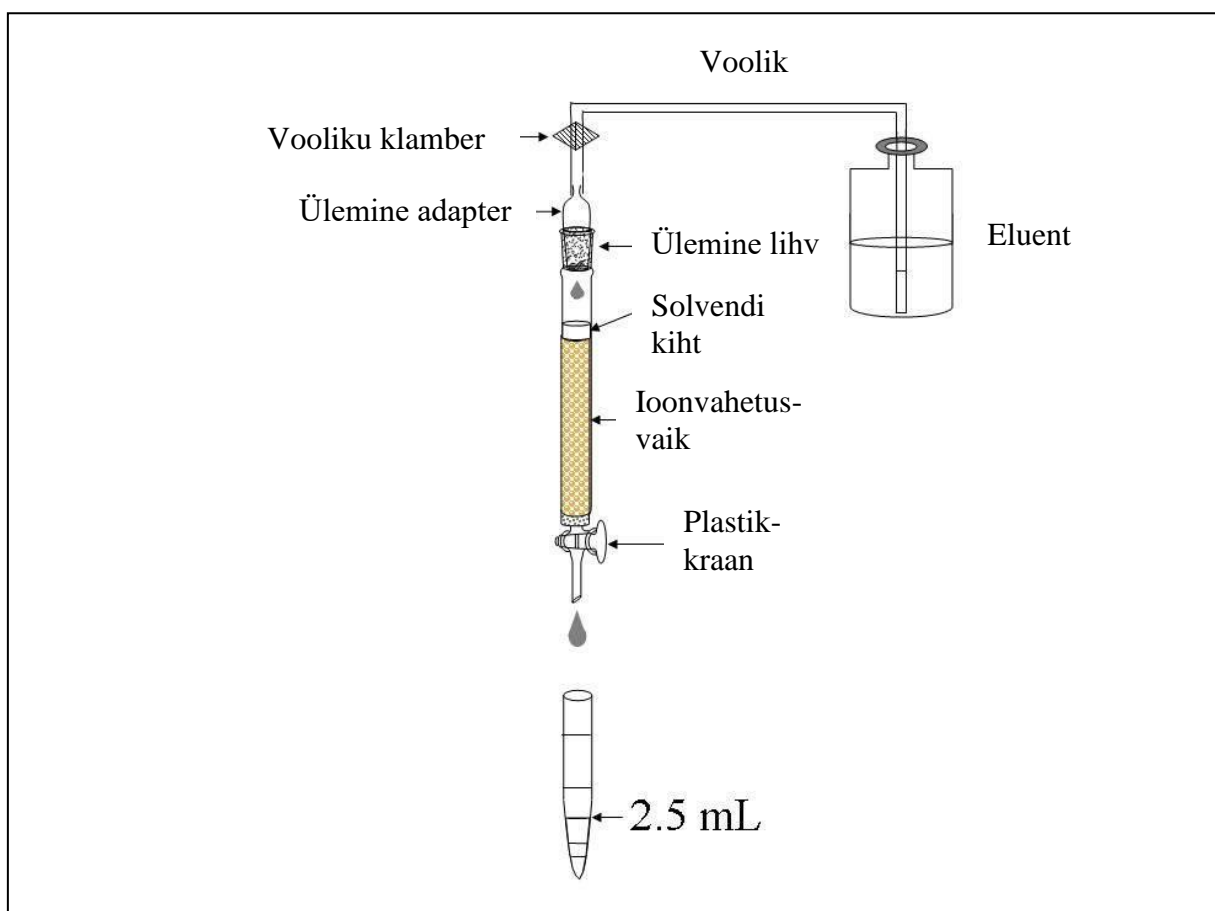
Segus on kolm aminohapet (Struktuurid on toodud ülal). Need on histidiin, tsüsteiin ja arginiin. Katioonvahetusvaiguna on kasutatud ristseotud sulfoonitunud polüstüreeni. Eksperimendi alguseks on kolonn tasakaalustatud Eluendiga 1 (pH 4.9).

### Eeskiri

#### **Kromatograafia. Etapp 1.**

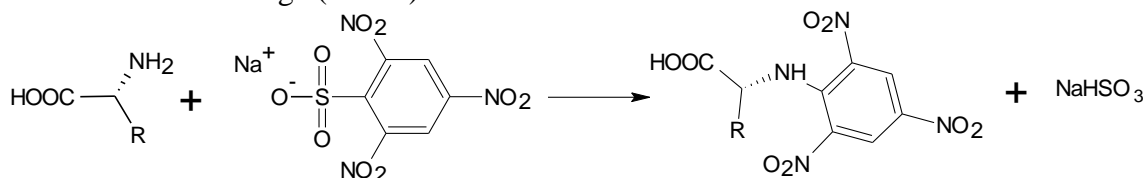
Viige teile antud aminohapete segu lahus kolonni. Selleks avage esmalt kolonni kraan, lastes solvendil kolonnist voolata välja Erlenmeyeri kolbi, mis on varustatud etiketiga "Waste" selliselt, et kolonni täidise peale jääks vedelikukiht, mis takistab kolonni kuivamist. Sulgege kraan ja viige lahutatav segu ettevaatlikult süstlaga kolonni. Avage kraan ja laske proovil imbuda geeli sisse (laske solvendil voolata "Waste" nõusse). Sulgege kraan ja lisage kolonni voolikuklambri ettevaatlikul vabastamisel ligikaudu 1 mL Eluenti 1 (vastab ~ 1 cm vedelikukihi kõrgusele kolonnis). Ühendage kolonni ülaotsa tihedalt lihvühendus, hoides kolonni ühe käega ja adapterit teise käega (veenduge, et lihv on ühendatud kolonni otsa tihedalt). Asendage "Waste" kolb statiivi alusel katseklaaside hoidjaga. Vabastage voolikuklamber ja avage kolonni kraan ning laske eluendil voolata läbi kolonni. Teostage elueerimist (alati avage elueerimise alustamiseks kraan ja sulgege see lõpetamiseks).

Koguge kuni 2,5 mL fraktsioonid katseklaasidesse (nagu näidatud Joonisel). Vajadusel tähistage need markeriga. Pärast iga 4 kuni 8 fraktsiooni kogumist peatage elueerimine ja teostage kogutud fraktsioonide kvalitatiivne analüüs.



### **Fraktsioonide kvalitatiivne analüüs**

Aminohapete kvalitatiivne analüüs põhineb nende  $\alpha$ -aminorühma reaktsioonil naatrium-2,4,6-trinitrobenseensulfonaadiga (TNBS):



Analüüs teostatakse 96-augulise plaadi aukudes, iga auk vastab kindlale katseklaasile. Segage enne analüüsi algust 1 mL TNBS lahust 10 mL karbonaatpuhvri lahusega ja pange 0.1 mL saadud segu pooltesse plaadi aukudesse (A1 kuni H5). Lisage seejärel auku 0.1 mL analüüsitava fraktsiooni. Alustage A1 august ja jätkake B1, C1, jne (liikuge ülalt alla ja vasakult paremale). Kui analüüsitavas fraktsioonis esineb aminohape, siis ilmub vastavas augus 3 minuti jooksul intensiivne kollane värvus. Kasutage esimese augu värvust võrdluseks. Värvuste usaldusväärseks hindamiseks asetage plaat valgele paberile.

**Märkus:** kõik 0.1 mL alikvoodid tuleb lisada automaatpipetiga. Soovitame ühe piigi kõikide fraktsioonide puhul kasutada ühte ja sama pipetiotsa.

**1.1a** Joonistage värvumise intensiivsuse profiil (kvalitatiivselt) plaadi skeemil Vastuste lehel. Kasutage järgmisi sümboleid: (-) – värvust pole, 1 – nõrk värvumine, 2 – mõõdukas värvumine ja 3 – intensiivne värvumine. Jätkake joonistamist kogu kromatograferimiseprotsessi ajal.

Jätkake fraktsioonide kogumist ja analüüsimist, kuni te saate **vähemalt kaks mittevärvunud auku, mis on sellised nagu A1 auk**. See näitab, et esimene aminohape on kolonnist täielikult väljunud (esimese piigi lõpp).

## Kromatograafia. Etapp 2

Niipea kui olete lõpetanud esimese piigi kogumise, vahetage eluent Eluent 2-ga. Selleks sulgege kraan, sulgege voolikuklamber (**Tähtis!**), ühendage Eluent 1 pudeli juurde viiv voolik kolonni otsast lahti ja ühendage sinna Eluent 2 pudelini viiv voolik. Ühendage kolonni ülaotsa lihv tihedalt.

**1.1b** Tähistage eluendi vahetust plaadi joonisel joonega aukude vahel.

Jätkake elueerimist, kogudes fraktsioone ja teostades nende kvalitatiivset analüüsi nagu ülal kirjeldatud.

## Kromatograafia. Etapp 3

Niipea kui olete lõpetanud teise piigi kogumise, vahetage eluent Eluent 3-ga nii, nagu ülal Etapis 2. kirjeldatud. Jätkake kromatograferimist kuni kolmas aminohape on kolonnist täielikult väljunud.

Peatage kromatograafia sulgedes kraani ja voolikuklambri.

Valige kvalitatiivse analüüsi põhjal fraktsioonid, mis sisaldavad konkreetseid aminohappeid.

**1.1c** Kirjutage vastustelehele valitud fraktsioonidele vastavad aukude tähistused.

**1.2** Ühendage iga piigi fraktsioonid ja mõõtk mõõtsilindriga ühendatud fraktsioonide ruumala. Kirjutage üles ühendatud fraktsioonide ruumalad, jättes arvestamata kvalitatiivseks analüüsiks kulunud kogused. Kirjutage saadud tulemused vastustelehele.

Valage ühendatud fraktsioonid pruunist klaasist pudelitesse, mis on varustatud etikettidega vastavalt "Peak 1", "Peak 2", "Peak 3". Valmistage alltoodud eeskirja kohaselt proovid kvantitatiivseks spektrofotomeetriliseks analüüsiks.

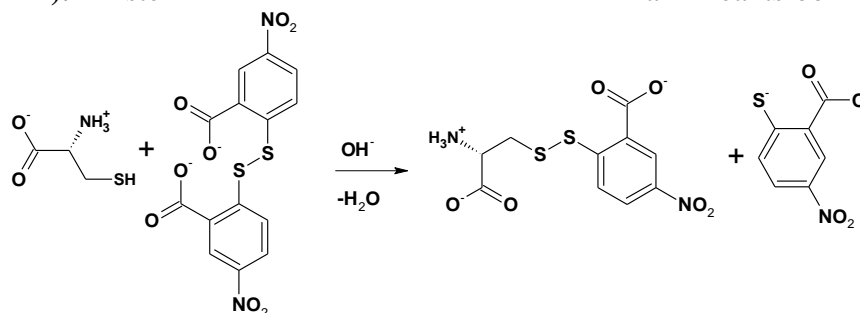
**Kui olete praktilise töö lõpetanud, siis sulgege pudelid ja jätke need oma töökohale. Ühendatud fraktsioonid analüüsitakse seejärel ka korraldajate poolt.**

## Spektrofotomeetriline analüüs

Iga proovi jaoks tuleb teil anda operaatorile kaks küvetti. Proovid tuleb valmistada järgmiselt.

**Tähtis!** Kui te küvette parasjagu ei kasuta, asetage need alati küvetihoidjasse! Kõikidel küvettidel on 2 vertikaalset soonilist ja 2 tööpinda. Küvettidega töötades ärge puutuge kunagi tööpindu, sest muidu te saate ebatäpsed neelduvuse tulemused.

**Analüüs 1 (piik 1).** Tsüsteiini kontsentratsioon määratakse Ellmanni reaktsiooni abil:



Katseklaas A1 (Võrdlus). Pange Eppendorfish 0.1 mL Eluenti 1 katseklaasi ja lisage 2.9 mL Ellmanni reagenti (DTNB).

Katseklaas B1 (Uuritav proov). Pange katseklaasi 0.1 mL analüüsivat lahust ja lisage 2.9 mL Ellmanni reagenti (DTNB).



Segage katseklaaside sisu korralikult ja viige iga segu vastavasse küvetti, mis on varustatud etiketiga A1 (võrdluse jaoks) ja B1 (proovi jaoks).

**Analüüs 2 (piik 2).** Histidiini kontsentratsiooni määramine põhineb imidasoolrühma võimel reageerida diasooniumühenditega (Pauli reaktsioon).

Katseklaas A2 (võrdlus). Pange katseklaasi 2.8 mL Tris-HCl puhverlahust, lisage Eppendorfish 0.1 mL Eluenti 2 ja 0.1 mL Pauli reagenti.

Katseklaas B2 (uuritav proov). Pange katseklaasi 2.8 mL Tris-HCl puhverlahust, lisage 0.1 mL analüüsitavat lahust ja 0.1 mL Pauli reagenti.

Segage katseklaaside sisu korralikult ja viige iga segu vastavasse küvetti, mis on varustatud etiketiga A2 (võrdluse jaoks) ja B2 (proovi jaoks).

**Analüüs 3 (piik 3).** Arginiini kontsentratsiooni määramine põhineb guanidiiniumrühma võimel reageerida leeliselises ja oksüdeerivas keskkonnas mõnede fenoolidega (Sakaguchi reaktsioon).

Katseklaas A3 (Võrdlus). Pange katseklaasi 0.1 mL Eluenti 3 ja lisage 1.5 mL 10% NaOH lahust, 1 mL 8-hüdroksükinoliini lahust ja 0.5 mL naatriumhüpobromiti lahust.

Katseklaas B3 (Uuritav proov). Pange katseklaasi 0.1 mL analüüsitavat lahust ja lisage 1.5 mL 10% NaOH lahust, 1 mL 8-hüdroksükinoliini lahust ja 0.5 mL naatriumhüpobromiti lahust.

Loksutage katseklaase hoolikalt 2 minutit (**Tähtis!**) ja täheldage oranži värvuse teket. Lisage igale katseklaasile 0.2 mL 8 M urea lahust, segage katseklaaside sisu ja viige ligikaudu 3 mL igat segu vastavasse küvetti tähistustega vastavalt A3 (võrdluse jaoks) ja B3 (uuritava proovi jaoks).

Kõik proovid tuleb analüüsida spektrofotomeetriselt mitte varem kui 10 minutit ja mitte hiljem kui 2 h pärast valmistamist. Andke 6 küvetti hoidjas spektrofotomeetri operaatorile. Juhul kui teil tuleb oodata paluge operaatoril märkida teie Student code tahvlile nimekirja. Teid kutsutakse operaatori poolt koheselt, kui analüüs on valmis. Samal ajal võite te vastata teoreetilistele küsimustele või asuda täitma Ülesannet 2.

Juhul kui teie proovi(e) ei analüüsitud õige aja jooksul (mis on üsna tõenäoline), valmistage uued värsked proovid.

Küsige teie proovide spektrite koopiaid ja kontrollige neid. Allkirjastage need ja küsige ka operaatori allkiri.

**1.3 Määrake neelduvus vastaval lainepikkusel ja arvutage iga aminohappe sisaldus ( mg-des) teile antud proovis. Optilise tee pikkus on 1.0 cm. Täitke vastusteled, võttes arvesse, et üks mool igat aminohapet annab ühe mooli vastavat produkti.**

Lisaandmed:

Ekstinktsioonikoefitsientide väärtused:	Aminohapete molaarmassid.
Ellmanni reaktsiooni produkt: $13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 410 nm juures	Tsüsteiin 121 g/mol
Pauli reaktsiooni produkt: $6400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 470 nm juures	Histidiin 155 g/mol
Sakaguchi reaktsiooni produkt: $7700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 500 nm juures	Arginiin 174 g/mol

**1.4. Joonistage Ellmanni reaktsioonil segu värvilise osakese kolm resonantsstruktuuri, kaasa arvatud värvumist põhjustav struktuur.**

## Ülesanne 2. Abrasiivmaterjali proovis sisalduva karbonaadi ja vesinikfosfaadi määramine

$\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CaCO}_3$  ja  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  on abrasiivpulbri põhikomponendid. Selles ülesandes tuleb teil määrata karbonaat- ja vesinikfosfaatioonide kogused abrasiivmaterjali proovis kahe happe-aluse tiitrimise abil.

Esiteks lisatakse proovile täpselt teadaolev kogus vesinikkloriidhapet (võetud ülehulgas). Selle tulemusena muutuvad vesinikfosfaadid  $\text{H}_3\text{PO}_4$ -ks ning karbonaadid –  $\text{CO}_2$ -ks, mis eraldatakse keetmisega. Esialgselt proovis sisaldunud kaltsiumioonid lähevad lahusesse. Nad sadestatakse  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ -na ja filtreeritakse enne tiitrimist, kuna võivad segada analüüsi.

Järgnevalt uuritakse moodustatud fosforhapet kahe tiitrimisega, kasutades eelnevalt standardiseeritud  $\text{NaOH}$  lahust ning kahte erinevat indikaatorit: bromokresoolrohelist (Bromocresol Green, BCG) ja tümolftaleiini (Thymolphthalein, TP). Esmalt tiitritakse  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (ning  $\text{HCl}$  ülehulk)  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -iooniks ja tiitrimise lõpp-punkt asub nõrgalt happelises alas ( $\text{pH} \sim 4.5$ ), mis vastab BCG värvi muutusele kollasest siniseks. Teine tiitrimine toimub, kuni moodustuvad  $\text{HPO}_4^-$ -ioonid. Teise tiitrimise lõpp-punkt asub mõõdukalt aluselises alas ( $\text{pH} \sim 10$ ), mis vastab TP värvi muutusele värvitust siniseks.

$\text{CO}_3^{2-}$ -ioonide sisaldus proovis arvutakse vahe leidmisega:

- titrandi koguse, mis vastab esialgselt proovi lahustamiseks võetud  $\text{HCl}$  kogusele ja
- titrandi koguse, mis vastab teise tiitrimise lõpp-punktile (TP) vahest.

$\text{HPO}_4^{2-}$ -ioonide kogus leitakse titrantide koguste vahest, mis kulus kahe lõpp-punkti saavutamiseks (TP ja BCG).

### Eeskiri

#### **Etapp 1. Proovi lahustamine ja $\text{CO}_2$ eraldamine**

Lisage 10.00 mL (täpselt, pipetiga! *Ettevaatlikult*, uuriklaasi eemaldamata ja vältides kadusid mulksumisel)  $\sim 1$  mol/L  $\text{HCl}$  (lugege happe täpne kontsentratsioon etiketilt). Peale intensiivse gaasi eraldamise etappi, kuumutage *ettevaatlikult* lahust keeduklaasis (uuriklaasiga kaetud) kuumutusplaadil kuni gaasi eraldamine lõpeb. Siis viige lahus keemiseni ja keetke ettevaatlikult 2–3 minutit.

#### **Etapp 2. Kaltsiumi sadestamine**

Eemaldage keeduklaas plaadilt; peske aurukondensaat destilleeritud veega uuriklaasilt keeduklaasi. Lisage 1–2 ml  $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$  15% lahust mõõtsilindriga. Jätke keeduklaas seisma, kuni tekib suurem osa sademest (tavaliselt võtab see aega 10-st kuni 20 min). Kasutage seda aega  $\text{NaOH}$  titrandilahuse standardiseerimiseks (vaadake allpool toodud eeskirja).

#### **Etapp 3. $\text{NaOH}$ lahuse standardiseerimine**

Kandke pipetiga 10.00 mL  $\text{HCl}$  lahust 100.0 mL mõõtkolbi, täitke destilleeritud veega märgini ja segage. Täitke bürett  $\text{NaOH}$  lahusega. Kandke pipetiga 10.00 mL lahjendatud  $\text{HCl}$  lahust mõõtkolvist Erlenmeyeri kolbi. Lisage 1-2 tilka tümolftaleiini lahust ja tiitrige  $\text{NaOH}$  lahusega, kuni tekib sinine värvus, mis jääb stabiilseks 5-10 sekundi jooksul segades.

**Siin ja järgnevalt.** Korrake vajadusel tiitrimist. On nõutav, et suurema ja väiksema titrandi ruumala väärtuste vahe ei ületaks 0.10 mL. Kirjutage üles lõppruumala väärtus 0.01 mL täpsusega.

#### **2.1a Täitke tabel vastustelehtel.**

**2.1b** Arvutage NaOH lahuse kontsentratsioon (ühikutes mol/L).

**Etapp 4. Kaltsiumoksolaadi filtreerimine**

Siis, kui suurem osa  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  sadeneb, filtreerige see välja kogudes filtraadi 100.0 mL mõõtkolbi. Nõrk hägu filtraadis on lubatav, kuna kaltsiumoksolaadi väiksed kogused ei sega tiitrimist. Peske filtrit destilleeritud veega; täitke destilleeritud veega kolb märgini ja segage. Pange kasutatud filter prügikasti.

**Etapp 5. Proovilahuse tiitrimine bromokresoolroheline juuresolekul**

Kandke pipetiga 10.00 mL proovilahuse alikvoot, mis oli valmistatud 4. etapil, mõõtkolvist Erlenmeyeri kolbi ja lisage 3 tilka BCG lahust. Valmistage teises Erlenmeyeri kolvis võrdluslahus lisades 3 tilka  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  15% lahust ja 3 tilka BCG lahust ning 15–20 ml destilleeritud vett. Tiitrite proovilahust NaOH lahusega kuni värvus on sama, mis on võrdluslahusel.

**2.2** Täitke tabel vastustelehtel.

**Etapp 6. Proovilahuse tiitrimine Tümooftaleiini juuresolekul**

Kandke pipetiga 10.00 mL proovilahuse alikvoot, mis oli valmistatud 4. etapil, mõõtkolvist Erlenmeyeri kolbi. Lisage 2 tilka TP lahust ja tiitrite NaOH lahusega, kuni tekib sinine värvus, mis jääb stabiilseks 5–10 sekundi jooksul segades.

**2.3** Täitke tabel vastustelehtel.

**Etapp 7. Arvutused**

**2.4** Arvutage  $\text{CO}_3^{2-}$  mass proovis.

**2.5** Arvutage  $\text{HPO}_4^{2-}$  mass proovis.

**Etapp 8. Ülesande lisaküsimused**

Vastake lisaküsimustele vastustelehtedel.

**2.6a** Esitage üks reaktsioon (kirjutage võrrand), mis segaks proovi analüüsi, kui ta oleks läbi viidud  $\text{Ca}^{2+}$  juuresolekul.

**2.6b** Erinevatel etappidel võimalike vigade nimekiri on toodud tabelis vastustelehel. Märkige millised vead viivad  $\text{CO}_3^{2-}$  ja/või  $\text{HPO}_4^{2-}$  koguste määramise valele tulemusele. Kasutage järgmisi sümboleid: „0” kui viga ei esine, „+” või „-” kui tulemus on suurem (positiivne viga) või väiksem (negatiivne viga) kui tõeline väärtus.

# *Periodic Table of Elements*

*with atomic masses*

<b>1</b> <b>H</b> 1.01	<i>Periodic Table of Elements</i> <i>with atomic masses</i>																<b>2</b> <b>He</b> 4.00
<b>3</b> <b>Li</b> 6.94	<b>4</b> <b>Be</b> 9.01											<b>5</b> <b>B</b> 10.81	<b>6</b> <b>C</b> 12.01	<b>7</b> <b>N</b> 14.01	<b>8</b> <b>O</b> 16.00	<b>9</b> <b>F</b> 19.00	<b>10</b> <b>Ne</b> 20.18
<b>11</b> <b>Na</b> 22.99	<b>12</b> <b>Mg</b> 24.31											<b>13</b> <b>Al</b> 26.98	<b>14</b> <b>Si</b> 28.09	<b>15</b> <b>P</b> 30.97	<b>16</b> <b>S</b> 32.07	<b>17</b> <b>Cl</b> 35.45	<b>18</b> <b>Ar</b> 39.95
<b>19</b> <b>K</b> 39.10	<b>20</b> <b>Ca</b> 40.08	<b>21</b> <b>Sc</b> 44.96	<b>22</b> <b>Ti</b> 47.88	<b>23</b> <b>V</b> 50.94	<b>24</b> <b>Cr</b> 52.00	<b>25</b> <b>Mn</b> 54.94	<b>26</b> <b>Fe</b> 55.85	<b>27</b> <b>Co</b> 58.93	<b>28</b> <b>Ni</b> 58.69	<b>29</b> <b>Cu</b> 63.55	<b>30</b> <b>Zn</b> 65.39	<b>31</b> <b>Ga</b> 69.72	<b>32</b> <b>Ge</b> 72.61	<b>33</b> <b>As</b> 74.92	<b>34</b> <b>Se</b> 78.96	<b>35</b> <b>Br</b> 79.90	<b>36</b> <b>Kr</b> 83.80
<b>37</b> <b>Rb</b> 85.47	<b>38</b> <b>Sr</b> 87.62	<b>39</b> <b>Y</b> 88.91	<b>40</b> <b>Zr</b> 91.22	<b>41</b> <b>Nb</b> 92.91	<b>42</b> <b>Mo</b> 95.94	<b>43</b> <b>Tc</b> 98.91	<b>44</b> <b>Ru</b> 101.07	<b>45</b> <b>Rh</b> 102.91	<b>46</b> <b>Pd</b> 106.42	<b>47</b> <b>Ag</b> 107.87	<b>48</b> <b>Cd</b> 112.41	<b>49</b> <b>In</b> 114.82	<b>50</b> <b>Sn</b> 118.71	<b>51</b> <b>Sb</b> 121.76	<b>52</b> <b>Te</b> 127.60	<b>53</b> <b>I</b> 126.90	<b>54</b> <b>Xe</b> 131.29
<b>55</b> <b>Cs</b> 132.91	<b>56</b> <b>Ba</b> 137.3	<b>57-71</b>	<b>72</b> <b>Hf</b> 178.49	<b>73</b> <b>Ta</b> 180.95	<b>74</b> <b>W</b> 183.84	<b>75</b> <b>Re</b> 186.21	<b>76</b> <b>Os</b> 190.23	<b>77</b> <b>Ir</b> 192.22	<b>78</b> <b>Pt</b> 195.08	<b>79</b> <b>Au</b> 196.97	<b>80</b> <b>Hg</b> 200.59	<b>81</b> <b>Tl</b> 204.38	<b>82</b> <b>Pb</b> 207.19	<b>83</b> <b>Bi</b> 208.98	<b>84</b> <b>Po</b> 208.98	<b>85</b> <b>At</b> 209.99	<b>86</b> <b>Rn</b> 222.02
<b>87</b> <b>Fr</b> 223	<b>88</b> <b>Ra</b> 226	<b>89-103</b>	<b>104</b> <b>Rf</b> 261	<b>105</b> <b>Db</b> 262	<b>106</b> <b>Sg</b> 263	<b>107</b> <b>Bh</b> 264	<b>108</b> <b>Hs</b> 265	<b>109</b> <b>Mt</b> 268									

<b>57</b> <b>La</b> 138.91	<b>58</b> <b>Ce</b> 140.12	<b>59</b> <b>Pr</b> 140.91	<b>60</b> <b>Nd</b> 144.24	<b>61</b> <b>Pm</b> 144.92	<b>62</b> <b>Sm</b> 150.36	<b>63</b> <b>Eu</b> 151.96	<b>64</b> <b>Gd</b> 157.25	<b>65</b> <b>Tb</b> 158.93	<b>66</b> <b>Dy</b> 162.50	<b>67</b> <b>Ho</b> 164.93	<b>68</b> <b>Er</b> 167.26	<b>69</b> <b>Tm</b> 168.93	<b>70</b> <b>Yb</b> 173.04	<b>71</b> <b>Lu</b> 174.97
<b>89</b> <b>Ac</b> 227	<b>90</b> <b>Th</b> 232	<b>91</b> <b>Pa</b> 231	<b>92</b> <b>U</b> 238	<b>93</b> <b>Np</b> 237	<b>94</b> <b>Pu</b> 244	<b>95</b> <b>Am</b> 243	<b>96</b> <b>Cm</b> 247	<b>97</b> <b>Bk</b> 247	<b>98</b> <b>Cf</b> 251	<b>99</b> <b>Es</b> 252	<b>100</b> <b>Fm</b> 257	<b>101</b> <b>Md</b> 258	<b>102</b> <b>No</b> 259	<b>103</b> <b>Lr</b> 262