

WYBRANE ELEMENTY WALIDACJI METOD ANALITYCZNYCH

Walidacja metod analitycznych (wg ISO) to wieloetapowy proces, polegający na ustalaniu parametrów charakteryzujących sprawność działania i ograniczeń metody, a także sprawdzenie jej przydatności do określonych celów.

W wyniku przeprowadzenia procesu walidacyjnego należy określić, czy metoda spełnia stawiane jej wymagania, między innymi pod względem jej rzetelności, precyzji oraz dostarczania wiarygodnych wyników.

Ćwiczenia polegać będą na skontrolowaniu precyzji i wiarygodności wyników, uzyskanych podczas analizy ilościowej – redoksymetrycznego oznaczania jonów żelaza (II) za pomocą mianowanego roztworu manganianu (VII) potasu. Wyniki otrzymane metodą miareczkową (metodą walidowaną) zostaną skonfrontowane z wynikami otrzymanymi metodą wagowego oznaczania jonów żelaza (metoda odniesienia), a także z wartością rzeczywistą ilości oznaczanego analitu, wyrażoną w mg/mL (miano roztworu). Z powodu ograniczeń czasowych i braku możliwości samodzielnego wykonania odpowiedniej liczby powtórzeń oznaczeń - w obliczeniach statystycznych będą wykorzystywane wyniki oznaczeń wagowych i miareczkowych, otrzymane przez całą ćwiczącą grupę studencką. Praca laboratoryjna przebiegać powinna tak, jak podczas ćwiczeń z chemii analitycznej ilościowej klasycznej (patrz skrypt do ćwiczeń), a w analizie wagowej można skorzystać z filmu , który można znaleźć w:

<https://www.youtube.com/watch?v=ane1ToACmWs>

Proces walidacji nie może budzić żadnych zastrzeżeń, zwłaszcza w odniesieniu do jakości i wiarygodności aparatury, sprzętu, wzorców i innych odczynników, wykorzystywanych w jego trakcie. Dlatego też, jeśli istnieją w tym względzie jakiegokolwiek wątpliwości – należy je przed właściwą pracą jednoznacznie rozstrzygnąć. Przykładowe operacje tego typu zostały wymienione w części pierwszej. Część druga obejmuje szczegółowe przepisy dotyczące wykonania oznaczeń (walidowanego i odniesienia). Część trzecia poświęcona jest zagadnieniom obliczeniowym, a czwarta to wzór sprawozdania, które podsumuje wykonane eksperymenty i na podstawie wykonanych obliczeń pozwoli sformułować wniosek końcowy.

I. Przygotowanie stanowiska do pracy

1. Legalizacja wag i odważników kalibracyjnych.
2. Przygotowanie odpowiedniego zestawu naczyń miarowych: kolby, pipety jednomiarowe, biurety, piknometry.
3. Przygotowanie certyfikowanych substancji wzorcowych (zakup lub regeneracja).

4. Wyznaczenie za pomocą piknomietru gęstości właściwej wody demineralizowanej.
5. Sprawdzenie poprawności kalibrowania szkła miarowego.
6. Sprawdzenie – na analitach i titrantach o znanych i zbliżonych parametrach – poprawności wykonywanych operacji (np. wykonanie analizy wagowej, miareczkowej).

II. A. Oznaczanie walidowane : manganianometryczne oznaczanie jonów żelaza(II)

Roztwory mianowane : roztwór KMnO_4 o stężeniu $0,02000\text{mol/l}$ - studenci otrzymują gotowy titrant, należy znać sposób jego mianowania

Roztwory: kwas siarkowy 1 mol/l (dozownik 20 ml)

Wykonanie :

Otrzymany w kolbie miarowej o poj. 100.0 ml roztwór zawierający jony Fe(II) rozcieńczyć wodą destylowaną do kreski. Wymieszać. Pobrać pipetą pełną 10.00 ml tego roztworu i przenieść do kolby stożkowej, dodać 20 ml 1 mol/l H_2SO_4 i rozcieńczyć wodą destylowaną do ok. 100 ml . **Uwaga! Próbki do miareczkowania należy przygotowywać pojedynczo i natychmiast miareczkować, a kolbka powinna być zawsze zamykana).**

Miareczkować szybko mianowanym roztworem manganianu(VII) potasu, unikając przesadnego mieszania roztworu, do trwałego, blad różowego zabarwienia (PK tego oznaczenia to pierwsze, widoczne zabarwienie pochodzące od nadmiaru titranta).

Oznaczenie powtórzyć pięciokrotnie, za każdym razem starając się dokonać odczytu objętości titranta w PK miareczkowania z dokładnością ok. $0,01\text{mL}$ i tak dodając końcowe porcje, aby nie pozostawić nic na końcówce biurety. Do obliczania zawartości jonów Fe(II) w otrzymanej analizie użyć należy średniej z uzyskanych wyników, po sprawdzeniu ich wiarygodności testem Dixona (patrz: **Obliczanie wyników**). Jeśli któryś z nich odrzucamy – należy wykonać kolejne miareczkowanie. Wynik należy przedstawić asystentowi – opiekunowi grupy, a po jego zaakceptowaniu otrzymamy od niego pierwotną objętość analizowanej próbki (np. $9,40\text{ mL}$). Na tej podstawie obliczamy jej miano w g/mL i ten wynik udostępniamy całej grupie studenckiej w postaci : „ $9,40\text{mL/xxxxg/ml}$ ”.

II. B. Oznaczanie jonów żelaza(II) metodą odniesienia – wagowo w postaci Fe_2O_3

Roztwory: stężony kwas azotowy(V)

amoniak 10% (NH_4OH 10%)

Oznaczania wagowe są czasochłonne i wieloetapowe – zaleca się przeczytanie instrukcji do końca i właściwe rozplanowanie kolejności pracy.

Do oznaczenia można w pierwszej kolejności wykorzystać roztwór, który oznaczano metodą miareczkową.

W celu wykonania oznaczenia należy go pobrać pipetą dokładnie 10,00mL i przenieść do zlewki o poj. 250 mL.

Wykonanie oznaczenia:

Przeznaczony do oznaczenia roztwór, zawierający sole żelaza(II), ogrzać pod wyciągiem na palniku gazowym na płytce metalowej prawie do wrzenia i dodać 1 mL (ok. 10 kropel) stężonego kwasu azotowego(V). Roztwór odparować, ciągle mieszając bagietką do połowy pierwotnej objętości – bagietka przez cały czas wykonywania analizy musi pozostawać w zlewce. Zawarte w oznaczanym roztworze żelazo(II) utlenia się w takich warunkach (stężony kwas azotowy(V), na gorąco) do żelaza(III). Podczas ogrzewania zakwaszonej analizy kontrolnej należy tak postępować by roztwór nie odparował do sucha. Równocześnie należy przygotować gorącą wodę destylowaną: ok. 150mL w zlewce na 250mL, do rozcieńczania; ogrzewać ją można razem z analizą, i ok. 300mL w zlewce na 400mL – do przemywania, ogrzewać należy na płycie grzejnej.

Odparowaną analizę należ rozcieńczyć gorącą wodą destylowaną do ok.150 mL i ogrzewać na małym płomieniu na płytce metalowej. Następnie powoli wprowadzić do roztworu przy pomocy pipety miarowej (5 mL), ciągle mieszając, 10 mL 10% roztworu amoniaku. Roztwór z osadem przenieść ostrożnie na swój stół laboratoryjny i kilka razy, po opadnięciu osadu, zamieszać go bagietką. Przygotować stanowisko do sączenia: umocować do statywu kółko do sączenia, umieścić w nim lejek analityczny (lejek z długą nóżką) z sączkiem, przygotować zlewkę do zbierania przesączu i przystąpić do przemywania osadu przez dekantację, to znaczy: po opadnięciu osadu na dno zlewki, zlać roztwór znad osadu przez miękki sacek umieszczony w lejku tak, aby praktycznie cały osad pozostał w zlewce. Ponownie zalać osad gorącą wodą destylowaną, zamieszać i pozostawić go do opadnięcia; czynność tą powtórzyć jeszcze dwukrotnie, aby wypłukać jak najwięcej jonów siarczanowych. Następnie przenieść osad ilościowo na sączek, wypłukując jego resztki ze zlewki wodą destylowaną. Cząsteczki przyklepione do ścian naczynia zebrać przy pomocy bagietki skrawkami sączka i dołączyć do osadu na sączku. Bagietkę także należy wytrzeć wilgotnym skrawkiem sączka i dołączyć go do osadu.

Osad na sączku należy słucać strumieniem wody z tryskawki do dolnej części sączka, sączek z osadem należy zwinąć, uważając żeby osad nie wypłynął i wraz z opisanym (imię, nazwisko, numer dziennika) lejkiem umieścić suszarce do wysuszenia (1 – 2 godziny). Ze względów praktycznych zaleca się suszenie osadu wykonać poprzez pozostawienie lejka z sączkiem, pod papierowym przykryciem, pozostawionego np. w butelce w szafce do następnej pracowni. Do kolejnego etapu trzeba przygotować tygielek porcelanowy: po wyjęciu go z eksykatora, opróżnieniu (do kosza) i dokładnym wytarciu na sucho, ewentualnym oznakowaniu – oddajemy go do prażenia w piecu muflowym. Po półgodzinnym prażeniu w temperaturze 900⁰C tygielek szczypcami umieścić w eksykatorze na ok. 30 minut

dla ostudzenia go do temperatury pokojowej. Następnie wraz z ekcykatorem udać się do pokoju wagowego i zważyć tygielki na wadze analitycznej.

Do tak przygotowanego tygielka wkładamy przesuszony sączek z osadem; w oczekiwaniu na dalszy bieg analizy tygielki czeka w ekcykatorze.

Aby pozbyć się sączka należy tygielki z sączkami umieścić skośnie na trójkącie drucianym z rurkami porcelanowymi i ostrożnie ogrzewać małym płomieniem palnika aż do spopielenia sączka – ta operacja znowu musi być wykonywana pod dygestorium. W razie zapalenia sączka należy ostrożnie odsunąć palnik, na krótko przykryć tygielki szkiełkiem zegarkowym i zdusić płomień. Koniec spopielenia sączka można poznać po wyglądzie zawartości tygielka, w którym nie może być widocznych zwęglonych fragmentów bibuły. Tygielki ponownie umieścić w ekcykatorze, następnie prażyć w elektrycznym piecu muflowym w temp. ok. 900 C przez 30 min. Po wyjęciu z pieca tygielki z osadem umieścić przy pomocy szczypek w ekcykatorze i po minimum 30 min. zważyć na wadze analitycznej.

Obliczyć zawartość żelaza(III) w otrzymanym do oznaczenia roztworze:

$$m_{(Fe,g)} = a \times F$$

gdzie: a - oznacza masę osadu Fe_2O_3 w gramach

F – mnożnik analityczny do przeliczenia Fe_2O_3 na Fe : $2 \cdot M_{Fe} / M_{Fe_2O_3} = 0,6994$

Wynik należy przedstawić asystentowi – opiekunowi grupy i obliczyć miano w g/mL pamiętając o współmierności: analizowano 10,00mL ze 100,0mL. Wynik udostępnić całej grupie studenckiej w postaci : „, 9,40mL/xxxxg/ml”.

III. Wyznaczenie wybranych parametrów procesu walidacyjnego

III. A. Obliczenia względem rzeczywistej wartości wyniku – miana – otrzymanej od asystenta

III. B. Obliczenia względem wartości wyniku – miana ustalonego metodą referencyjną

IV. Raport z przeprowadzonego postępowania walidacyjnego