

INSTRUKCJA DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH

ĆWICZENIE 4. ANALIZA ILOŚCIOWA SUBSTANCJI LECZNICZYCH METODĄ KOMPLEKSOMETRYCZNĄ

CELE ĆWICZENIA

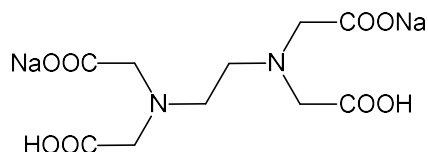
- zapoznanie się z teoretycznymi podstawami miareczkowania kompleksometrycznego
- nabycie umiejętności praktycznego stosowania metody kompleksometrycznej w analizie ilościowej wybranej substancji leczniczej
- kształtowanie umiejętności analizy i interpretacji uzyskanych wyników

PODSTAWY TEORETYCZNE

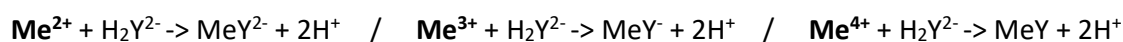
Kompleksometria jest klasyczną metodą analizy miareczkowej stosowaną do ilościowego oznaczania **kationów metali**. Podstawą metody jest reakcja tworzenia trwałych związków kompleksowych między jonem metalu a substancją chelatującą. Kompleksometria znajduje zastosowanie w oznaczaniu ilościowym substancji leczniczych zawierających w swoim składzie jony metali, m.in. wapnia czy magnezu, stosowanych w profilaktyce oraz leczeniu niedoborów tych pierwiastków.

Związki kompleksowe powstają w wyniku koordynacyjnego wiązania jonu metalu przez ligand, czyli cząsteczkę lub jon posiadający wolne pary elektronowe. Szczególną grupę ligandów stanowią **substancje chelatujące**, które łączą się z jonem metalu w kilku miejscach jednocześnie, tworząc strukturę zwaną chelatem. Są to zazwyczaj pochodne kwasów aminopolikarboksylowych.

Farmakopealnym związkiem chelatującym stosowanym jako titrant w kompleksometrii jest mianowany roztwór soli disodowej kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA- Na_2), zwanej również **wersenianem disodowym** (wzór poniżej, w zapisie reakcji stosuje się skrót H_2Y^{2-}).



Cechą charakterystyczną wersenianu disodowego jest zdolność tworzenia bardzo trwałych, łatwo rozpuszczalnych w wodzie połączeń chelatowych z jonami metali dwu-, trój- i czterowartościowych, przy czym w skład kompleksu wchodzi zawsze jedna cząsteczka EDTA i jeden kation metalu, bez względu na jego wartościowość. **Stosunek ilościowy metal : EDTA wynosi zawsze 1:1**, co umożliwia bezpośrednie przeliczenie ilości zużytego titranta na zawartość oznaczanego metalu w próbce. Ogólny schemat reakcji jonów metali o różnej wartościowości z EDTA można przedstawić następująco:

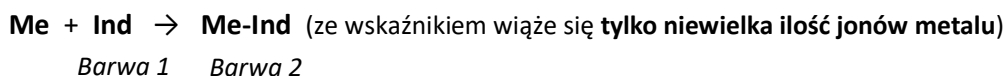


Trwałość powstających kompleksów zależy od rodzaju jonu metalu oraz od odczynu roztworu. Im wyższa wartościowość kationu tym trwalsze związki kompleksowe tworzy on z EDTA ($\text{Me}^{4+} > \text{Me}^{3+} > \text{Me}^{2+}$). Ze względu na niską trwałość kompleksów metali jednowartościowych ich zawartość oznacza się metodą pośrednią. Zdolność do wiązania jonów metali przez EDTA jest także ściśle związana z pH środowiska, dlatego reakcje prowadzi się w obecności odpowiednio dobranych roztworów buforowych.

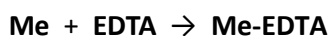
Do wyznaczenia punktu końcowego miareczkowania (PKM) stosuje się **wskaźniki metalochromowe**, np. mureksyd lub czerń eriochromową T. Są to związki organiczne tworzące słabsze kompleksy z jonami metali niż EDTA. W trakcie miareczkowania EDTA wypiera jon metalu z kompleksu wskaźnikowego, co powoduje zmianę barwy roztworu sygnalizującą osiągnięcie PKM.

W zależności od właściwości oznaczanej substancji stosuje się różne techniki miareczkowania kompleksometrycznego. **Miareczkowanie bezpośrednie** jest stosowane jeśli metal tworzy chelaty o wystarczającej trwałości w sposób natychmiastowy. Oznaczenie prowadzone jest w roztworach wodnych, o określonym pH wobec wskaźników metalochromowych jedno- lub dwubarwnych. Zasada oznaczenia polega na:

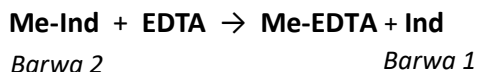
- rozpuszczeniu w wodzie substancji badanej i doprowadzeniu pH uzyskanego roztworu do odpowiednich dla oznaczenia wartości, dodając właściwy bufor,
- dodaniu wskaźnika (**Ind**), który tworzy połączenia kompleksowe z oznaczanym kationem metalu - roztwór przyjmuje barwę charakterystyczną dla kompleksu metal-wskaźnik (**Me-Ind**, *barwa 2*), różną od barwy roztworu wolnego wskaźnika (*barwa 1*):



- miareczkowaniu roztworu badanego mianowanym roztworem **EDTA**, w trakcie którego kolejne porcje wersenianu wiążą wolne kationy metalu z roztworu w trwałe kompleksy (**Me-EDTA**):



- w PKM nadmiar titranta (**EDTA**) reaguje z jonami metalu związanymi ze wskaźnikiem - roztwór badany przyjmuje barwę wolnego wskaźnika (*barwa 1*), co świadczy o zakończeniu miareczkowania.



Miareczkowanie odwrotne jest wykorzystywane w przypadku jonów bardzo wolno tworzących chelaty lub gdy PKM jest trudny do uchwycenia w danym zakresie pH (np. jeśli w środowisku kwaśnym nie można dobrać odpowiedniego wskaźnika). Do roztworu substancji badanej dodaje się ściśle określoną ilość titranta w nadmiarze, a następnie odmiareczkuje jego nadmiar mianowanym roztworem soli innego metalu, który reaguje z wersenianem w sposób natychmiastowy.

LITERATURA:

- Ćwiczenia z chemii leków pod redakcją Marii Gorczykowej i Alfreda Zejca, Collegium Medicum UJ, Kraków 1993.
- Chemia analityczna z elementami analizy instrumentalnej red. T. Lipiec, z. Szmał. Warszawa: Wyd. Lek. PZWL, 1997 i nowsze.

Nazwa międzynarodowa: **ALUMINII HYDROXIDUM**

Synonim: Maalox – tabletki do ssania/rozgryzania

Wzór chemiczny: $\text{Al}(\text{OH})_3$

Nazwa chemiczna: Wodorotlenek glinu

Oznaczanie ilościowe jonów glinu (Al^{3+}) w preparatach farmaceutycznych przeprowadza się metodą kompleksometryczną w sposób pośredni (**miareczkowanie odwrotne**), co wynika z jego specyficznych właściwości chemicznych. Kationy glinu ulegają łatwej hydrolizie w roztworach wodnych oraz tworzą kompleks z EDTA stosunkowo wolno w temperaturze pokojowej, co utrudnia bezpośrednie miareczkowanie i jednoznaczne wyznaczenie punktu końcowego.

W przypadku wodorotlenku glinu należy dodatkowo uwzględnić jego amfoteryczny charakter oraz ograniczoną rozpuszczalność w wodzie. Trwałe kompleksy glinu z wersenianem powstają w zakresie pH 3-8, dlatego próbkę należy odpowiednio przygotować, rozpuszczając ją w kwasie solnym. Jony glinu tworzą sól z anionami chlorkowymi (AlCl_3), wg reakcji:



Następnie należy dodać bufor octanowy, aby doprowadzić pH roztworu do wartości ok 4,5.

W temperaturze pokojowej reakcja kationów glinu z EDTA jest bardzo powolna, dlatego należy przyspieszyć jej przebieg poprzez ogrzewanie mieszaniny reakcyjnej do wrzenia. Zachodzi wówczas reakcja:



Po ostudzeniu mieszaniny należy dodać wskaźnik (jodek potasu, KI) a następnie nadmiar wolnego wersenianu disodowego odmiareczkować roztworem mianowanym azotanu bizmutu (III) ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$), wg reakcji:



W PKM jony bizmutu reagują z anionem jodkowym wskaźnika, tworząc kompleks tetrajodobizmutanu potasu ($\text{K[BiI}_4]$), który barwi roztwór badany na kolor żółty:



barwa żółta

Oznaczanie ilościowe: przepis według Farmakopei Polskiej VI (FP VI) zmodyfikowany w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków.

Odmierzyć dokładnie 5 ml roztworu wodorotlenku glinu, rozcieńczyć 20 ml wody, dodać 25,0 ml roztworu wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM, 10 ml buforu octanowego o pH 4,5 OD i utrzymywać we wrzeniu przez 10 minut. Następnie ochłodzić, po 10 minutach dodać 2 g stałego jodku potasu OD i odmiareczkować nadmiar wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM roztworem azotanu bizmutu (III) (0,05 mol/l) RM do żółtego zabarwienia.

1 ml wersenianu disodowego (0,05 mol/l) odpowiada 16,66 mg wodorotlenku glinu

Wykonanie oznaczenia:

Potrzebne szkło:

- kolba stożkowa - 2 szt.,
- cylinder miarowy - 1 szt.,
- pipeta 5 ml, 25 ml – po 1 szt.

Etapy wykonania oznaczenia:

Student do oznaczenia otrzymuje roztwór wodorotlenku glinu.

1. odmierzyć za pomocą pipety dwa razy po 5 ml roztworu wodorotlenku glinu i przenieść do dwóch kolb stożkowych,
2. do każdej kolby odmierzyć cylindrem po 20 ml wody destylowanej i wymieszać,
3. do każdej kolby odmierzyć dokładnie pipetą 25 ml roztworu wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM ($Y = 25\text{ ml}$)
4. do każdej z dwóch kolb dodać odmierzony cylindrem roztwór buforu octanowego o pH 4,5,
5. ogrzewać we wrzeniu na płycie grzejnej przez 10 minut,
6. obie kolby pozostawić do ostudzenia, po 10 minutach dodać ok. 2 g jodku potasu zważonego na wadze technicznej,
7. zawartość każdej kolby miareczkować mianowanym roztworem azotanu bizmutu (III) (0,05 mol/l) RM do zmiany barwy na żółtą; zapisać objętość zużytego titranta ($Z\text{ ml}$),
8. aby obliczyć objętość wersenianu disodowego odpowiadającą reakcji z glinem ($X\text{ ml}$), od objętości początkowo dodanego wersenianu ($Y = 25\text{ ml}$) odejmij objętość titranta - azotanu bizmutu (III) ($Z\text{ ml}$) zużytą na odmiareczkowanie nadmiaru wersenianu. Obliczenie wykonaj dla każdej z dwóch próbek osobno, wg równania:

$$X = Y - Z \text{ (ml)}$$

9. oblicz zawartość wodorotlenku glinu wyrażoną w gramach na 100 ml roztworu dla każdej z dwóch próbek osobno (z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku), na podstawie proporcji:

1 ml wersenianu disodowego - 16,66 mg wodorotlenku glinu

$X\text{ ml}$ wersenianu disodowego - A

$$A = X \cdot 0,01666 \text{ g} = \dots \text{ g}^*$$

* obliczona wartość odpowiada zawartości wodorotlenku glinu w 5 ml roztworu badanego. Aby wyrazić wynik w gramach na 100 ml wartość tę należy pomnożyć x 20, na podstawie proporcji:

w 5 ml roztworu znajduje się $A\text{ g}$ wodorotlenku glinu

w 100 ml roztworu znajduje się $B\text{ g}$

$$B = A \text{ g} \times 20 = \dots \text{ g/100 ml}$$

10. wyciągnij średnią z dwóch próbek ($(B1 + B2)/2 = \dots \text{ g/100 ml}$),
11. napisz odpowiedź pełnym zdaniem, jaka była zawartość badanej substancji wyrażona w g/100 ml roztworu.

UWAGA! MATERIAŁ DO SAMODZIELNEGO OPRACOWANIA: zaszeregowanie leku do grupy farmakologicznej, ogólny mechanizm działania, podstawowe efekty farmakologiczne oraz zastosowanie.

Nazwa międzynarodowa: **ZINCI OXIDUM**

Synonim: Maść cynkowa

Wzór chemiczny: ZnO

Nazwa chemiczna: Tlenek cynku

Ilościowe oznaczanie tlenku cynku wykonuje się metodą bezpośredniego miareczkowania kompleksometrycznego z użyciem mianowanego roztworu wersenianu disodowego jako titranta. Ze względu na bardzo słabą rozpuszczalność tlenku cynku w wodzie badaną próbkę rozpuszcza się w kwasie solnym:



Następnie pH roztworu doprowadza się do wartości około 10 za pomocą buforu amonowego. W kolejnym kroku dodaje się wskaźnik – czerń eriochromową T (wyjątkowo w formie sproszkowanej i roztartej z NaCl). W roztworach wodnych jony cynku Zn^{2+} tworzą kompleks z czernią eriochromową T, który nadaje roztworowi barwę fioletowo-czerwoną.



barwa fioletowo-czerwona

W wyniku dodawania kolejnych porcji roztworu wersenianu disodowego jony cynku ulegają chelatowaniu, powstaje kompleks ZnY^{2-} :



W punkcie końcowym miareczkowania, gdy wszystkie wolne jony cynku zostaną związane, nadmiar wersenianu wypiera czerń eriochromową T z kompleksu z jonami cynku, a uwolniona forma wskaźnika powoduje zmianę zabarwienia roztworu na niebieski.



barwa fioletowo-czerwona

barwa niebieska

Oznaczanie ilościowe: przepis według Farmakopei Polskiej VI (FP VI)

Odważyć dokładnie ok. 0,1 g substancji, rozpuścić w 1 ml kwasu solnego (105 g/l) OD, dodać 40 ml wody, 10 ml buforowego roztworu amonowego OD, 0,1 g mieszaniny czerni eriochromowej T z chlorkiem sodu OD i miareczkować roztworem wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM do zmiany fioletowego zabarwienia na niebieskie.

1 ml roztworu wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM odpowiada 4,07 mg tlenku cynku (ZnO).

Wykonanie oznaczenia:

Potrzebne szkło:

- naczynko wagowe - 1 szt.,
- kolba stożkowa - 2 szt.,
- cylinder miarowy - 1 szt.,
- pipeta 5 ml - 1 szt.

Etapy wykonania oznaczenia:

1. odważ dokładnie ok. 0,1 g tlenku cynku i przenieś do dwóch kolb stożkowych,
2. do każdej kolby odmierzą pipetą 1 ml kwasu solnego (105 g/l), następnie dodaj 40 ml wody i dokładnie wymieszaj do całkowitego rozpuszczenia,
3. do każdej z dwóch kolb dodaj odmierzone cylindrem 10 ml roztworu buforu amonowego o pH 10,
4. do każdej kolby dodaj ok. 0,1 g wskaźnika,
5. zawartość każdej kolby miareczkuj mianowanym roztworem wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM do zmiany zabarwienia roztworu z fioletowo-czerwonej na niebieskie, zapisz objętość zużytego titranta (X ml),
6. oblicz zawartość tlenku cynku dla każdej z dwóch próbek osobno (z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku), na podstawie proporcji:

1 ml wersenianu disodowego - 4,07 mg tlenku cynku

X ml wersenianu disodowego - Y

$$Y = X \cdot 4,07 \text{ mg} = \dots \text{ mg}$$

$$C = \frac{Y \text{ (mg)}}{\text{naważka (mg)}} \cdot 100\% = \dots \%$$

Gdzie:

X = objętość wersenianu disodowego (ml)

Y = ilość tlenku cynku odpowiadająca ilości wersenianu disodowego (mg)

C = stężenie procentowe oznaczanej substancji (zawartość)

7. wyciągnij średnią z dwóch próbek $((C1 + C2)/2 = \dots \%)$,
8. napisz odpowiedź pełnym zdaniem, jaka była zawartość (stężenie procentowe) tlenku cynku w badanej próbce.

UWAGA! MATERIAŁ DO SAMODZIELNEGO OPRACOWANIA: zaszeregowanie leku do grupy farmakologicznej, ogólny mechanizm działania, podstawowe efekty farmakologiczne oraz zastosowanie.

Etapy wykonania oznaczenia:

1. odważ dwa razy po ok. 0,2 g mleczanu wapnia i przenieś do dwóch kolb stożkowych,
2. do każdej kolby odmierzyć cylindrem miarowym po 50 ml wody oraz pipetą 1 ml 25% roztworu kwasu solnego, a następnie dokładnie wymieszaj do całkowitego rozpuszczenia,
3. do każdej kolby odmierzyć pipetą 3 ml 15% roztworu wodorotlenku sodowego,
4. do każdej kolby dodaj ok. 0,1 g wskaźnika,
5. zawartość każdej kolby miareczkuj mianowanym roztworem wersenianu disodowego (0,05 mol/l) RM do zmiany zabarwienia roztworu z różowego na fioletowo-niebieskie, zapisz objętość zużytego titranta (X ml),
6. oblicz zawartość mleczanu wapnia dla każdej z dwóch próbek osobno (z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku), na podstawie proporcji:

1 ml wersenianu disodowego - 0,01091 g mleczanu wapnia

X ml wersenianu disodowego - Y

$$Y = X \cdot 0,01091 \text{ g} = \dots \text{ g}$$

$$C = \frac{Y \text{ (g)}}{\text{naważka (g)}} \cdot 100\% = \dots \%$$

Gdzie:

X = objętość wersenianu disodowego (ml)

Y = ilość mleczanu wapnia odpowiadająca ilości wersenianu disodowego (g)

C = stężenie procentowe oznaczanej substancji (zawartość)

7. wyciągnij średnią z dwóch próbek $((C1 + C2)/2 = \dots \%)$,
8. napisz odpowiedź pełnym zdaniem, jaka była zawartość (stężenie procentowe) mleczanu wapnia w badanej próbce.

UWAGA! MATERIAŁ DO SAMODZIELNEGO OPRACOWANIA: zaszeregowanie leku do grupy farmakologicznej, ogólny mechanizm działania, podstawowe efekty farmakologiczne oraz zastosowanie.

Etapy wykonania oznaczenia:

Student do oznaczenia otrzymuje roztwór wodny chlorku magnezu.

1. odmierz za pomocą pipety miarowej dwa razy po 5 ml roztworu chlorku magnezu i przenieś ilościowo do dwóch kolb stożkowych,
2. do każdej kolby odmierz cylindrem po 50 ml wody i dokładnie wymieszaj,
3. do każdej kolby odmierz pipetą 5 ml roztworu buforu amonowego o pH 10,
4. do każdej kolby dodaj ok. 0,1 g wskaźnika,
5. zawartość każdej kolby miareczkuj mianowanym roztworem wersenianu disodowego (0,1 mol/l) RM do zmiany zabarwienia roztworu na niebieskie, zapisz objętość zużytego titranta (X ml),
6. oblicz zawartość chlorku magnezu dla każdej z dwóch próbek osobno (z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku), na podstawie proporcji:

1 ml wersenianu disodowego - 0,02033 g chlorku magnezu

X ml wersenianu disodowego - Y

$$Y = X \cdot 0,02033 \text{ g} = \dots \text{ g}^*$$

* obliczona wartość odpowiada zawartości chlorku magnezu w 5 ml roztworu badanego. Aby wyrazić wynik w gramach na 100 ml wartość tę należy pomnożyć x 20, na podstawie proporcji:

w 5 ml roztworu znajduje się Y g chlorku magnezu

w 100 ml roztworu znajduje się A g

$$A = Y \text{ g} \times 20 = \dots \text{ g/100 ml}$$

7. wyciągnij średnią z dwóch próbek $((A1 + A2)/2 = \dots \text{ g/100 ml})$,
12. napisz odpowiedź pełnym zdaniem, jaka była zawartość badanej substancji wyrażona w g/100 ml roztworu.
- 8.

UWAGA! MATERIAŁ DO SAMODZIELNEGO OPRACOWANIA: zaszeregowanie leku do grupy farmakologicznej, ogólny mechanizm działania, podstawowe efekty farmakologiczne oraz zastosowanie.

Imię i Nazwisko:

Numer grupy:

ĆWICZENIE 4. ANALIZA ILOŚCIOWA SUBSTANCJI LECZNICZYCH METODĄ KOMPLEKSOMETRYCZNĄ

Nazwa międzynarodowa oznaczanego leku (łacińska):

Naważki (w gramach, do czwartego miejsca po przecinku): $m_1 =$
 $m_2 =$

Wzór chemiczny:

Nazwa chemiczna:

Sposób wykonania oznaczenia:

Reakcje chemiczne zachodzące podczas oznaczania:

Obliczenia:

Próbka 1	Próbka 2
Średni wynik analizy:	

Wynik analizy – pełnym zdaniem:

Zaliczenie analizy – podpis asystenta: