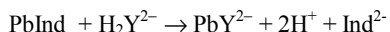


9. FOTOMETRICKÁ TITRACE

9.1. Standardizace 0,01M roztoku chelatonu III na navážku PbCl₂

Roztok PbCl₂ se titruje odměrným roztokem (Na₂H₂Y) na indikátor xylenolovou oranž.

Chelát xylenolové oranže s Pb²⁺ (PbInd) je **tmavě červenofialový**, absorpční křivka má maximum při vlnové délce 580 nm, zbarvení **volného indikátoru** (Ind²⁻) je za podmínek titrace jasně **citronově žluté** s maximem absorbance při vlnové délce 430 nm. Titrace probíhá při pH = 5 - 6 (tlumivý roztok urotropinu).



$$\lambda = 580\text{nm}$$



$$M(\text{PbCl}_2) = 278,10 \text{ g/mol}$$

9.1.1. Příprava roztoku standardu

Na analytických vahách odvážit s přesností na jednu desetinu mg přibližně 70 mg chloridu olovnatého. Navážku kvantitativně převést do kádinky o objemu 100 ml, doplnit destilovanou vodou asi na 50 ml a okyselit 2–3 kapkami 2 M HNO₃. Takto připravený roztok zahřát (nevařit!), po rozpuštění PbCl₂ kvantitativně převést do odměrné baňky o objemu 200 ml a doplnit destilovanou vodou po rysku.

9.1.2. Výpočet předpokládané teoretické spotřeby:

$$V_{ekv} = \frac{m}{M} \times \frac{1}{20} \times \frac{1}{c}$$

kde: m je hmotnost navážky PbCl₂ v mg,

M je molární hmotnost PbCl₂,

c je koncentrace Chelatonu III (0,01 mol.l⁻¹).

Číslo 20 ve zlomku představuje faktor zředění, protože budeme titrovat vždy 10 ml připraveného roztoku standardu, tj. 1/20 z 200 ml.

9.1.3. Orientační titrace s vizuální indikací

Účelem této titrace je seznámení s obsluhou mikrobyrety a určení oblasti, kde dochází k barevnému přechodu.

Návod k obsluze mikrobyrety PK2500 je uveden v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení.

Příprava roztoku k orientační titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml roztoku standardu, 10 ml destilované vody, špachtlí přidat malé množství směsi xylenolové oranže s KNO₃ tak, aby roztok byl zřetelně slabě fialový. Kyvetu s roztokem promíchat mírnými otáčkami na magnetické míchačce, poté přidat 3 kapky 10% roztoku urotropinu (tlumivý roztok). K míchačce přistavit stojan s naplněnou mikrobyretou.

Titrace

Mikrobyretu o obsahu 2,5 ml naplnit odměrným roztokem Chelatonu III podle odstavce pro práci s mikrobyretou PK2500 v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení. Z mikrobyrety přidávat odměrný roztok po 0,1 ml a za stálého míchání vizuálně pozorovat roztok až do přechodu barvy z fialové do čistě žluté. Nadávkovaný objem odečíst na stupnici mikrobyrety.

9.1.4. Fotometrická titrace

Příprava roztoku k fotometrické titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml roztoku standardu, 10 ml destilované vody, špachtlí přidat malé množství směsi xylenolové oranže s KNO₃ tak, aby roztok byl

zřetelně slabě fialový. Kyvetu s roztokem promíchat mírnými otáčkami na magnetické míchače, poté přidat 3 kapky 10% roztoku urotropinu (tlumivý roztok).

Po přidání správné množství indikátoru je absorbance roztoku před započítáním titrace při $\lambda = 580 \text{ nm}$ v rozmezí 0,6 až 0,9 (roztok je zřetelně světle fialový s přechodem do žlutého zbarvení).

Titrace

Při vlastní titraci je třeba přidávat z mikrobyrety odměrný roztok nejprve po 0,2 ml a zaznamenávat absorbanci. Po přiblížení k předpokládanému bodu ekvivalence na $\pm 0,1 \text{ ml}$, je třeba snížit objem přidávaného činidla dle potřeby až na 0,005 ml (nejmenší objem, který lze dávkovat mikrobyretou).

Titraci opakovat třikrát.

9.1.5 Zpracování výsledků

Pro každou titraci sestavit grafickou závislost absorbance titrovaného roztoku na objemu přidávaného činidla, kde :

- na vodorovnou osu vynést objem přidávaného odměrného činidla v ml
- na svislou osu odpovídající hodnoty absorbance titrovaného roztoku

Graficky zjistit spotřebu odměrného činidla v bodě ekvivalence proložením jedné přímky několika body těsně před koncovým zlomem křivky a druhé přímky několika body za koncovým zlomem křivky. Z průsečíku těchto přímek spustit kolmici k vodorovné ose a odečíst spotřebu odměrného činidla.

Při zjišťování bodu ekvivalence se vychází z principu, že od okamžiku dosažení ekvivalence se zbarvení roztoku nemění, proto je třeba zjistit okamžik vymizení barvy indikátorového komplexu.

Výpočet přesné koncentrace (titru) odměrného činidla

Pro každou hodnotu graficky získaného objemu titračního činidla v bodě ekvivalence spočítat přesnou koncentraci odměrného činidla v mol.l^{-1} :

$$c_{H_2Y} = \frac{m_{PbCl_2}}{M_{PbCl_2}} \cdot \frac{1}{20} \cdot \frac{1}{V_{ekv}}$$

kde: m_{PbCl_2} je navážka $PbCl_2$ v mg,

V_{ekv} objem odměrného činidla v bodě ekvivalence v ml,

M_{PbCl_2} je molární hmotnost $PbCl_2$ v g.mol^{-1} ($M = 278,10 \text{ g.mol}^{-1}$)

Statistické zpracování výsledků

Ze získaných hodnot sestavit do protokolu následující tabulku:

| $\lambda = 580 \text{ nm}$ | | | |
|---|---|---|---|
| poř. číslo titrace | 1 | 2 | 3 |
| $V_{ekv} [\text{ml}]$ | | | |
| $c_{\text{ChelIII}} [\text{mol.l}^{-1}]$ | | | |
| průměr $c_{\text{ChelIII}} [\text{mol.l}^{-1}]$ | | | |
| $s(c_{\text{ChelIII}}) [\text{mol.l}^{-1}]$ | | | |
| rel.směr.odchylka c_{ChelIII} | | | |

Výpočet směrodatné odchylky s provést podle Deana a Dixona z rozpětí (viz text na konci úlohy). Pro další výpočty používat přesnou koncentraci se čtyřmi platnými ciframi.

9.2 Titračně fotometrické chelatometrické stanovení kationtu Cu^{2+} v neznámém vzorku

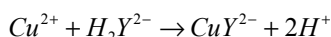
9.2.1 Fotometrická titrace neznámého vzorku obsahujícího Cu^{2+}

Reakce probíhá při mírně zásaditém pH nepřekračujícím hodnotu 8. Tohoto pH lze dosáhnout přidávkem amoniakálního tlumiče.

Měď tvoří s murexidem chelát žluté barvy (CuInd). Při titraci roztokem Chelatonu III se nejprve na Chelaton III vážou volné ionty Cu^{2+} , chelát CuY^{2-} je modrý. V okolí bodu ekvivalence dojde k barevné změně způsobené reakcí



Volný indikátor má při daném pH modrofialovou barvu.



$$1 \text{ mol Na}_2\text{H}_2\text{Y} \approx 1 \text{ mol Cu}^{2+}$$

$$M(\text{Cu}) = 63,546 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Příprava vzorku

Neznámý vzorek ve 100 ml odměrné baňce doplnit po značku destilovanou vodou a dobře promíchat.

Orientační titrace s vizuálním pozorováním barevné změny

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml destilované vody, špachtlí přidat indikátor murexid, promíchat na magnetické míchačce (roztok se zbarví do středně syté oranžové barvy) a poté přidat 10 ml roztoku vzorku s neznámým obsahem mědi. Připravený roztok by měl být zbarven žlutozeleně až žlutooranžově.

K míchačce přistavit stojan s mikrobyretou naplněnou roztokem odměrného činidla. Z mikrobyrety přidávat odměrný roztok po 0,1 ml a pozorovat za stálého míchání zbarvení roztoku. Těsně před předpokládaným bodem ekvivalence přidat 1 kapku amoniakálního tlumiče a titrovat až do přechodu do čistě fialového zbarvení. Nadávkovaný objem odečíst na stupnici mikrobyrety.

Nastavení fotometru

Před každou titrací provést pro určenou vlnovou délku nastavení fotometru při vložené srovnávací kyvetě s destilovanou vodou.

Příprava roztoku k fotometrické titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml destilované vody, špachtlí přidat indikátor murexid, promíchat na magnetické míchačce (roztok se zbarví do středně syté oranžové barvy) a poté přidat 10 ml roztoku vzorku s neznámým obsahem mědi. Připravený roztok bude žlutozelený až žlutooranžový. Po přidání správné množství indikátoru je absorbance roztoku před započítáním titrace při $\lambda = 460 \text{ nm}$ v rozmezí 0,4 až 0,6.

Titrace

Při vlastní titraci je třeba přidávat z mikrobyrety odměrný roztok nejprve po 0,2 ml a zaznamenávat absorbanci. Po přiblížení k předpokládanému bodu ekvivalence na $\pm 0,1 \text{ ml}$, je třeba snížit objem přidávaného činidla dle potřeby až na 0,005 ml, současně je třeba těsně před předpokládaným bodem ekvivalence přidat 1 kapku amoniakálního tlumiče a poté titrovat až do přechodu do čistě fialového zbarvení. Nadávkovaný objem odečíst na stupnici mikrobyrety.

Titraci opakovat třikrát.

9.2.2 Zpracování výsledků

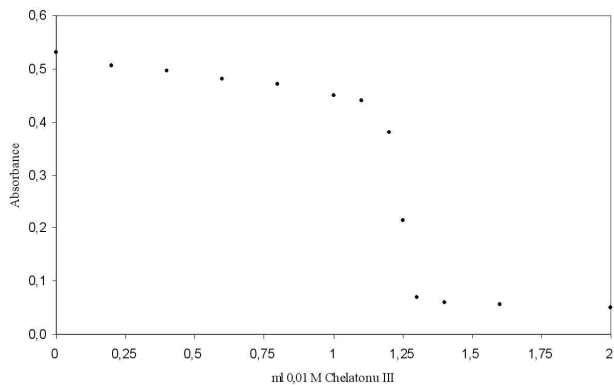
Pro každou titraci sestavit grafickou závislost absorbance titrovaného roztoku na objemu přidávaného činidla, kde :

- na vodorovnou osu vynést objem přidávaného odměrného činidla v ml
- na svislou osu odpovídající hodnoty absorbance titrovaného roztoku

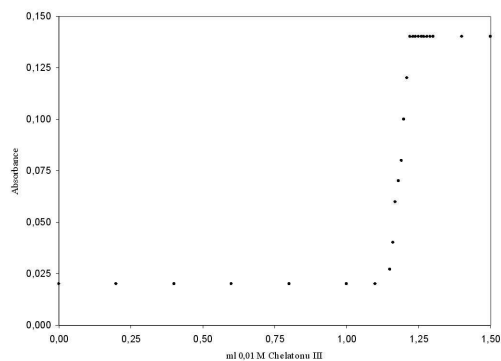
Graficky zjistit spotřebu odměrného činidla v bodě ekvivalence proložením jedné přímky několika body těsně před koncovým zlomem křivky a druhé přímky několika body za koncovým zlomem křivky. Z průsečíku těchto přímek spustit kolmici k vodorovné ose a odečíst spotřebu odměrného činidla.

Při zjišťování bodu ekvivalence se vychází z principu, že od okamžiku dosažení ekvivalence se zbarvení roztoku nemění, měří se buď konstantní zbarvení volné formy indikátoru nebo vymizení barvy indikátorového komplexu.

Příklady titračních křivek při fotometrickém stanovení Cu^{2+} jsou na obr. 9.1 a 9.2.



Obr. 9.1: Fotometrická titrace Cu^{2+} na murexid při 460 nm



Obr. 9.2: Fotometrická titrace Cu^{2+} na murexid při 550 nm

Výpočet hmotnosti mědi v neznámém vzorku

Dosažením do vzorce vypočítat hmotnost mědi ve vzorku:

$$m_{\text{Cu}} = V_{\text{ekv}} \cdot c_{\text{H}_2\text{Y}} \cdot \frac{V_0}{V_{\text{pip}}} \cdot M_{\text{Cu}}$$

kde: V_{ekv} je průměrná spotřeba odměrného činidla (ml),
 $c_{\text{H}_2\text{Y}}$ je přesná koncentrace 0,01 M odměrného roztoku Chelatonu III,
 M_{Cu} je molární hmotnost mědi (63,546 g·mol⁻¹),
 V_0 je objem odměrné baňky s neznámým vzorkem,
 V_{pip} je objem roztoku pipetovaného do kyvety (10 ml).

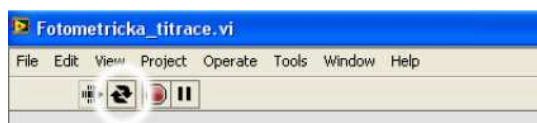
Statistické zpracování výsledků

Zvlášť pro každou vlnovou délku zpracovat výsledky do následující tabulky do protokolu. Výpočet směrodatné odchylky s provést podle Deana a Dixona z rozpětí.

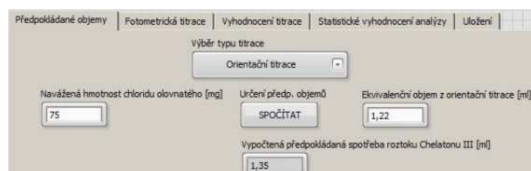
| $\lambda = 460 \text{ nm}$ | | | |
|--|---|---|---|
| poř. číslo titrace | 1 | 2 | 3 |
| V_{ekv} [ml] | | | |
| m_{Cu} [μg] | | | |
| průměr m_{Cu} [μg] | | | |
| $s(m_{\text{Cu}})$ [μg] | | | |
| rel.směr.odchylka | | | |

9.3. Postup měření na spektrofotometru UV-VIS 1240 mini

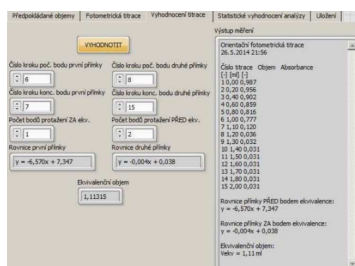
1. Na ploše PC spustit program Fotometrická titrace. Po spuštění programu je třeba ho aktivovat kliknutím na ikonku „*Continuous run*“.



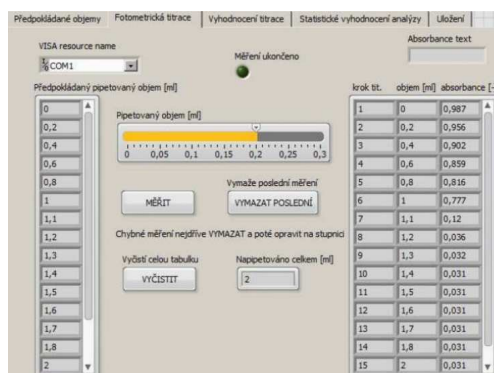
2. V záložce „*Předpokládané objemy*“ zvolte typ titrace:



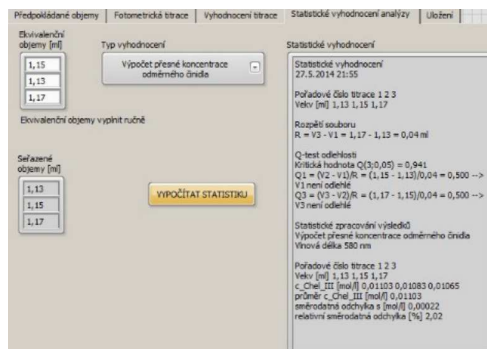
- a) „*orientační titrace*“ - vyplnit kolonku „*Navážená hmotnost chloridu olovnatého*“ → po stlačení tlačítka „*SPOČÍTAT*“ se vypočítá předpokládaná spotřeba roztoku Chelatonu III.
 - b) „*přesná titrace*“ - vyplnit kolonku „*Ekvivalenční objem z orientační titrace*“ → po stlačení tlačítka „*SPOČÍTAT*“ se aktivuje tabulka s možností zadávání dávkování roztoku Chelatonu III (v tabulce v kolonce „*Fotometrická titrace*“ jsou již předdefinované doporučené objemy od 0 do 2,4 ml doplněné krokem 0,2 ml).
3. Nastavení spektrofotometru:
Na hlavním panelu spektrofotometru pomocí tlačítka „*RETURN*“ se dostaneme na úvodní obrazovku na displeji. Po stlačení tlačítka „*F4*“ (PC Ctrl) se přepne kontrola ovládání spektrofotometru na připojený PC.
 4. Nastavení programu - záložka „*Fotometrická titrace*“:
Pro správnou funkci programu je nutné zvolit správný port, přes který je připojený spektrofotometr k PC. Z rolovací nabídky „*VISA resource name*“ je třeba vybrat port COM2.
Po zvolení správného portu se kontrolka „*Měření ukončeno*“ rozsvítí zeleně a v poli „*Absorbance text*“ se zobrazí aktuální hodnota absorbance.
 5. Na posuvníku „*Pipetovaný objem*“ nastavit objem přídatku roztoku Chelatonu III. Zpočátku přidávat po 0,2 ml, v oblasti bodu ekvivalence po co nejmenších objemech.
 6. Po stlačení tlačítka „*MĚŘIT*“ se do tabulky naměřených hodnot přidá nový řádek s přidáním objemem Chelatonu III a danou naměřenou absorbancí. Celkový přidání objem se zobrazí i v kolonce „*Napipetováno celkem*“.
 7. Postup přidávání Chelatonu III pro požadovaný graf se zobrazuje v pravé části okna.



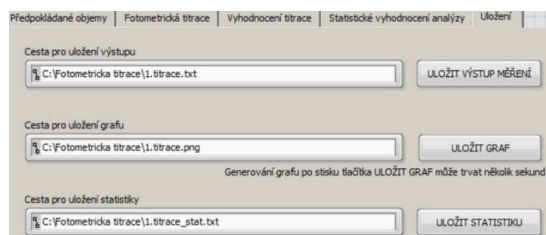
8. Po ukončení titrace otevřít záložku „*Vyhodnocení titrace*“:



9. Pro vyhodnocení titrace je nutné proložit grafem dvě přímky:
- pro proložení přímky, která prochází strmou částí grafu před bodem ekvivalence je nutné vyplnit hodnoty v levé části záložky
 - pro proložení přímky, která prochází vodorovnou částí grafu za bodem ekvivalence je nutné vyplnit hodnoty v pravé části záložky
- Pořadová čísla jednotlivých titrací můžeme vyčíst z pole „**Výstup měření**“. Po stlačení tlačítka „**VYHODNOTIT**“ se přímky proloží grafem a určí se jejich průsečík, který lze vyčíst z pole „**Ekvivalenční objem**“.
10. Po provedení tří opakujících se titrací otevřít záložku „**Statistické vyhodnocení analýzy**“:



11. Po zadání 3 ekvivalenčních objemů vybrat z rolovací nabídky „**Typ vyhodnocení**“:
- „**Výpočet přesné koncentrace odměrného činidla**“ pro výpočet přesné koncentrace odměrného roztoku Chelatonu III
 - „**Výpočet množství mědi v neznámém vzorku**“ pro výpočet obsahu mědi ve vzorku.
- Výsledek statistického zpracování dat se zobrazí v poli „**Statistické vyhodnocení**“.
12. Záložka „**Uložení**“ slouží k uložení naměřených a vyhodnocených dat. Je třeba předběžně si vytvořit cestu pro jejich uložení (vytvořit si složku a zkopírovat adresu):



9.4. Statistické vyhodnocení výsledků analýzy

Pro statistické vyhodnocení výsledků analýzy použít matematicko-statistického postupu dle Dean-Dixona, který se používá pro zpracování malých souborů paralelních výsledků, jež jsou obvykle k dispozici při analýzách praktických vzorků.

- Výsledky m_i seřadit podle rostoucí velikosti.
- Vypočítat rozpětí souboru $R = m_3 - m_1$.
- Zjistit, zda některý z výsledků m_i není zatížen hrubou chybou, tj. zda se statisticky významně s určitou pravděpodobností neliší od ostatních paralelních výsledků stanovení. Použít Q-testu, vypočítat hodnoty Q_3 a Q_1 dle rovnic

$$Q_3 = \frac{m_3 - m_2}{R}, \quad Q_1 = \frac{m_2 - m_1}{R}$$

a porovnat je s kritickou hodnotou $Q(3, \alpha)$ z tabulce statistických konstant (tab. III).

Je-li Q_3 nebo Q_1 větší než $Q(3; 0,05)$, znamená to, že příslušná hodnota je zatížena hrubou chybou a musí být ze souboru vyřazena.

- Vypočítat průměrnou hodnotu m_x jako hodnotu nejbližší správnému výsledku

$$m_x = \frac{\sum m_i}{i}$$

Vyhodnotit variabilitu paralelních výsledků, jako míru přesnosti stanovení vypočítat směrodatnou odchylku s (jako chybu jednotlivých měření) podle Dean-Dixona z rozpětí R s pomocí tabelované konstanty k_i , která je pro daný počet paralelních stanovení i uvedena v tabulce statistických konstant (tab. 9.1)

$$s = R \cdot k_i$$

5. Přesnost měření charakterizovat také směrodatnou odchylkou průměru s_x

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{i}} = \frac{R \cdot k_i}{\sqrt{i}}$$

6. Protože se směrodatná odchylka vztahuje k určitému definovanému provedení analýzy a obvykle závisí i na obsahu stanovované složky, vyjádřit přesnost ve vztahu ke stanovovanému množství jako relativní směrodatnou odchylku s_r

$$s_r [\%] = \frac{s}{m_x} \cdot 100$$

7. Pokud je známa směrodatnou odchylku s a průměr m_x , lze jako výsledek analýzy definovat interval (v jednotkách výsledku), v němž s určenou pravděpodobností leží správný výsledek (jde o definici intervalu spolehlivosti)

$$m_x \pm K_i \cdot R$$

Konstantu K_i odečíst z tabulky statistických konstant (tab. 9.1) pro daný počet stanovení.

Tab. 9.1: Statistické konstanty dle Dean-Dixona (pro $\alpha = 0,05$)

| počet měření i | k_i | $\frac{1}{\sqrt{i}}$ | K_i | Q |
|------------------|-------|----------------------|-------|-------|
| 2 | 0,086 | 0,71 | 6,4 | |
| 3 | 0,591 | 0,58 | 1,3 | 0,941 |
| 4 | 0,486 | 0,50 | 0,72 | 0,765 |
| 5 | 0,430 | 0,45 | 0,51 | 0,642 |
| 6 | 0,395 | 0,41 | 0,40 | 0,560 |
| 7 | 0,370 | 0,38 | 0,33 | 0,507 |
| 8 | 0,351 | 0,35 | 0,29 | |

9.4. Vyhodnocení fotometrické titrace

Při vyhodnocení stanovení Cu^{2+} v neznámém vzorku v protokolu uvést:

1. Hodnoty nalezených koncentrací Chelatonu III a hmotností Cu^{2+} v neznámém vzorku zaokrouhlené na platný počet míst, vyplněné tabulky a vyhodnocené grafy.
2. Statistické vyhodnocení výsledku analýz.
3. Zdůvodnění možného chybného stanovení.