**6. SPEKTROFOTOMETRIE**

 **Metoda A**

1. **Časová závislost A**
* Měření A = f(t) při 510 nm; 25 ml odměrná baňka
* 5 ml standardního roztoku **A** + 3 ml CH3COONa (na pH 3,5) + 1 ml 10% hydroxylamin hydrochloridu + 1 ml 0,5 % 1,10-fenanthrolinu, doplnit po značku

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **t (min)** | **A** | **t (min)** | **A** |
| 0 | 0,271 | 30 | 0,343 |
| 5 | 0,283 | 35 | 0,346 |
| 10 | 0,301 | 40 | 0,351 |
| 15 | 0,322 | 45 | 0,355 |
| 20 | 0,331 | 50 | 0,358 |
| 25 | 0,338 | 55 | 0,359 |

1. **Výběr spektra A** (v rozsahu 350 – 600 nm po 10 m)
* 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda; graf A = f(λ) → odečíst max. vlnovou délku

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **λ (nm)** | **A** | **λ (nm)** | **A** | **λ (nm)** | **A** |
| 350 | 0,148 | 470 | 0,391 | 590 | 0,027 |
| 360 | 0,084 | 480 | 0,410 | 600 | 0,019 |
| 370 | 0,059 | 490 | 0,416 |   |   |
| 380 | 0,075 | 500 | 0,428 |   |   |
| 390 | 0,110 | 510 | 0,445 |   |   |
| 400 | 0,155 | 520 | 0,423 |   |   |
| 410 | 0,202 | 530 | 0,344 |   |   |
| 420 | 0,244 | 540 | 0,232 |   |   |
| 430 | 0,278 | 550 | 0,143 |   |   |
| 440 | 0,307 | 560 | 0,086 |   |   |
| 450 | 0,328 | 570 | 0,054 |   |   |
| 460 | 0,356 | 580 | 0,039 |   |   |

1. **Kalibrační křivka A**
* A = f©, 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda
* **1 – 10 ml ml** standardního roztoku **A** + 3 ml CH3COONa (na pH 3,5) + 1 ml 10 % hydroxylamin hydrochloridu + 1 ml 0,5 % 1,10-fenanthrolinu, doplnit po značku

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| č. | V [ml] | m [mg] | n [mmol] | cFe[mol/l] | A |  | teor.abs.At. |
| λ *= 510nm* |  | 1 ml = 10 ug | n = m/M |  |  |  = A/cFe | At = \*. C |
| 1 | 1 |  |  |  | **0,081** |  |  |
| 2 | 2 |  |  |  | **0,160** |  |  |
| 3 | 3 |  |  |  | **0,242** |  |  |
| 4 | 4 |  |  |  | **0,323** |  |  |
| 5 | 5 |  |  |  | **0,397** |  |  |
| 6 | 6 |  |  |  | **0,484** |  |  |
| 7 | 7 |  |  |  | **0,551** |  |  |
| 8 | 8 |  |  |  | **0,627** |  |  |
| 9 | 9 |  |  |  | **0,719** |  |  |
| 10 | 10 |  |  |  | **0,784** |  |  |

\* =

1. **Neznámý vzorek A**
* 100 ml odměrná baňka → vzorek doplnit na 100 ml, odsud pipetovat 10 ml do tří 25 ml odměrných baněk
* přidat 3 ml CH3COONa (na pH 3,5) + 1 ml 10 % hydroxylamin hydrochloridu + 1 ml 0,5 % 1,10-fenanthrolinu, doplnit po rysku

|  |  |
| --- | --- |
| č. | A |
| 1 | **0,200** |
| 2 | **0,198** |
| 3 | **0,199** |

**Metoda B**

1. **Časová závislost B**
* Měření A = f(t) při 420 nm; 50 ml odměrná baňka
* **2 ml** standardního roztoku **B** + 5 ml 10 % kyseliny sulfosalicylové + 10 ml 10 % amoniaku, doplnit po rysku

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **t (min)** | **A** | **t (min)** | **A** | **t (min)** | **A** |
| 0 | 0,202 | 20 | 0,207 | 40 | 0,208 |
| 5 | 0,203 | 25 | 0,207 | 45 | 0,208 |
| 10 | 0,205 | 30 | 0,208 | 50 | 0,208 |
| 15 | 0,206 | 35 | 0,208 | 55 | 0,208 |

1. **Výběr spektra** **B** (v rozsahu 370 – 560 nm po 10 nm)
* 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **λ (nm)** | **A** | **λ (nm)** | **A** |
| 370 | 0,241 | 490 | 0,159 |
| 380 | 0,265 | 500 | 0,119 |
| 390 | 0,314 | 510 | 0,088 |
| 400 | 0,362 | 520 | 0,062 |
| 410 | 0,399 | 530 | 0,043 |
| 420 | 0,418 | 540 | 0,031 |
| 430 | 0,416 | 550 | 0,025 |
| 440 | 0,394 | 560 | 0,015 |
| 450 | 0,357 |  |  |
| 460 | 0,308 |  |  |
| 470 | 0,258 |  |  |
| 480 | 0,206 |  |  |

1. **Kalibrační křivka B**
* A = f(c), 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda
* **0,5 - 3 ml ml** standardního roztoku **B** + 5 ml 10 % kyseliny sulfosalicylové + 10 ml10 % amoniaku, doplnit po rysku

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| č. | V [ml] | m [mg] | n [mmol] | cFe[mol/l] | A |  | teor.abs.At |
| λ *= 420nm* |  | 1 ml = 100 ug | n = m/M |  |  |  = A/cFe | At = \*. c |
| 1 | 0,5 |  |  |  | **0,081** |  |  |
| 2 | 1 |  |  |  | **0,160** |  |  |
| 3 | 1,5 |  |  |  | **0,242** |  |  |
| 4 | 2 |  |  |  | **0,323** |  |  |
| 5 | 2,5 |  |  |  | **0,397** |  |  |
| 6 | 3 |  |  |  | **0,484** |  |  |

 \* =

1. **Neznámý vzorek B**
* 50 ml odměrná baňka
* Ke vzorku v odm. baňce přidat 5 ml 10 % kyseliny sulfosalicylové, 10 ml 10 % amoniaku, doplnit po rysku

|  |  |
| --- | --- |
| č. | A |
| 1 | **0,532** |