# 5. VÍCESLOŽKOVÁ FOTOMETRICKÁ ANALÝZA

**TEORIE:**

Metody molekulové absorpční spektroskopie oblasti UV-VIS jsou založeny na interpretaci změn, které nastávají v molekulách látek při absorpci záření v rozmezí vlnových délek asi 200–800 nm.

Absorbovaná kvanta energie vyvolávají přechody valenčních elektronů. Absorpční přechod je charakterizován hodnotou vlnové délky pro maximum pásu λmax a intenzitou pásu.

V analytické chemii se tato intenzita nejjednodušeji vyjadřuje hodnotou molárního absorpčního koeficientu εmax. Hodnota εmax se vypočítá z hodnoty absorbance Amax změřené pro roztok látky o koncentraci c v kyvetě tloušťky l cm při vlnové délce λmax dle **Bouguer-Lambert-Beerova** **zákona** ve tvaru:

****

Předpokladem pro měření závislostí absorbance na koncentraci A = f(c) a absorbance na vlnové délce A = f(λ), která jsou základem každé spektrofotometrické metody, je časová stabilita proměřovaného roztoku.

Pro určitou barevnou látku v roztoku je charakteristické absorpční spektrum s definovaným absorpčním maximem λmax. Intenzitu zbarvení lze vyjádřit veličinou absorbance Aλ, tj. jako logaritmus poměru světelného toku Φλ,0 vstupujícího do barevného prostředí k světelnému toku Φλ prošlému barevným roztokem při určité vlnové délce použitého záření.

Platí:

** →** 

Je-li v roztoku přítomna směs barevných látek A a B, je absorpce světelného toku určité vlnové délky λ1 tímto roztokem součtem absorpcí barevnými látkami A a B a pro absorbanci při této vlnové délce tedy platí:



Pro absorbanci při jiné vlnové délce λ2 platí:



Při přesném fotometrickém stanovení dvou barevných složek v roztoku metodou klasické vícesložkové analýzy vycházíme proto z těchto předpokladů:

1. roztok látky A o koncentraci *c*A silně absorbuje při vlnové délce λ1 a málo při vlnové délce λ2. Naproti tomu roztok látky B o koncentraci *c*B silně absorbuje při vlnové délce λ2 a málo při vlnové délce λ1
2. absorpce roztoků jedné i druhé složky se při obou vlnových délkách λ1 a λ2 řídí **Bouguer-Lambert-Beerovým zákonem:**

****

*kde:* ελ je hodnota molárního absorpčního koeficientu pro danou vlnovou délku [l mol-1 cm-1 ],

lje tloušťka kyvety [cm],

c je koncentrace [mol. l-1].

Na základě tohoto zákona a vzhledem k výše uvedené aditivnosti absorbance můžeme absorbanci směsi dvou barevných látek při vlnové délce λ1 vyjádřit takto:

* pro vlnovou délku λ1: 

*kde:* (εA)λ1, resp. (εB)λ1 jsou molární absorpční koeficienty látky A, resp. látky B pro vlnovou délku λ1

* pro vlnovou délku λ2 platí analogicky: 

*kde:* (εA)λ2, resp. (εB)λ2 jsou molární absorpční koeficienty látky A, resp. látky B pro vlnovou délku λ2 .

Používáme-li při měření kyvety o stále stejné tloušťce (nejčastěji l = 1 cm), můžeme hodnoty *ε* definovat vzhledem k této jednotkové tloušťce a veličinu *l* v rovnicích vynechat.

Rovnice pro Aλ1 a Aλ2 představují dvě vzájemně spjaté rovnice pro dvě neznámé, kterými jsou koncentrace látky A, tj. *c*A, a látky B, tj. *c*B ve směsi.

**Hodnoty jednotlivých veličin vyskytujících se v těchto rovnicích určíme takto**:

1. hodnoty Aλ1 a Aλ2  **změřením**
2. hodnoty (εA)λ1 a (εA)λ2 **výpočtem**, resp. graficky jako směrnice koncentračních závislostí pro standardní roztok látky A naměřených pro dvě zvolené vlnové délky

(Aλ1 = f (cA) a Aλ2 = f (cA))

1. hodnoty (εB)λ1 a (εB)λ2 **výpočtem**, resp. graficky jako směrnice koncentračních závislostí pro standardní roztok látky B naměřených pro dvě zvolené vlnové délky

(Aλ1 = f (cB) a Aλ2 = f (cB))

 Pro současné stanovení dvou složek je žádoucí, aby poměr molárních absorpčních koeficientů jednotlivých složek byl alespoň při jedné ze dvou zvolených vlnových délek

### 5.1. Příprava kalibračních roztoků

**KMnO4**

Přesně 0,5; 1; 1,5; 2 a 2,5 ml 0,01 M KMnO4 napipetovat postupně do pěti 50 ml odměrných baněk, pipetou přidat 10 ml směsi 1 M H2SO4 a 1 M H3PO4, doplnit destilovanou vodou po rysku a dobře promíchat.

**K2Cr2O7**

Přesně 1, 2, 3, 4 a 5 ml 0,01 M K2Cr2O7 napipetovat postupně do pěti 50 ml odměrných baněk, pipetou přidat 10 ml směsi 1 M H2SO4 a 1 M H3PO4, doplnit destilovanou vodou po rysku a dobře promíchat.

### 5.2. Měření absorpčních spekter manganistanu a dichromanu

Měření absorpčních spekter manganistanu a dichromanu provést pro kalibrační roztoky střední koncentrace (tj. obsahující 1,5 ml manganistanu a 3 ml dichromanu).

Absorbanci v rozsahu 370 – 550 mn změřit po 10 nm v 1 cm kyvetách proti destilované vodě (vyhodnotit v programu PVC).

Absorpční křivky (tj. závislosti absorbance na vlnové délce) jednotlivých komponent vynést do grafu, příp. je uložit s koncovkou \*rtf v programu PVC Viewer.

Při práci s kyvetou dodržujeme tyto zásady:

* kyvetu naplnit měřeným roztokem do 2/3 objemu kyvety (pokud ji naplníme po okraj, hrozí nebezpečí vylití jejího obsahu do přístroje a jeho následné poškození)
* pro měření vždy používat stejnou absorpční kyvetu
* kyvetu vkládat do kyvetového prostoru vždy stejnou stranou, ověřit si směr paprsku

### 5.3. Měření kalibračních závislostí manganistanu a dichromanu při vybraných vlnových délkách

Po vyhodnocení každé naměřené absorpční křivky vybrat vlnové délky vhodné pro stanovení, tj. takové, kde jsou rozdíly v absorbancích jednotlivých látek nejvýraznější (maximum, minimum). Pro analýzy směsí manganistanu a dichromanu jsou doporučeny vlnové délky 390, 470 a 545 nm.

Při každé z vybraných vlnových délek změřit kalibrační závislost se sadou kalibračních roztoků v 1 cm kyvetách proti destilované vodě:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| A390 = f(cKMnO4) | A470 = f(cKMnO4) | A545 = f(cKMnO4) |
| A390 = f(cK2Cr2O7) | A470 = f(cK2Cr2O7) | A545 = f(cK2Cr2O7) |

Pro každou vlnovou délku sestrojit kalibrační křivky KMnO4 a K2Cr2O7 jako závislosti A = f(c).

Výsledky zaznamenat do tabulky sestavené pro pozdější výpočty:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Vpip (zás.roztoku)  [ml] | c(KMnO47)  [mol . l-1] | A390 | A470 | A545 |
| 0,5 |  |  |  |  |
| 1 |  |  |  |  |
| 1,5 |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |
| 2,5 |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Vpip (zás.roztoku)  [ml] | c(K2Cr2O)  [mol . l-1] | A390 | A470 | A545 |
| 1 |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |
| 5 |  |  |  |  |

### 5.4. Příprava modelových směsných roztoků manganistanu a dichromanu

Do tří 50 ml odměrných baněk připravit dle následující tabulky směsné roztoky o různém poměru obsahu manganistanu a dichromanu. Pipetou přidat 10 ml směsi 1 M H2SO4 a 1 M H3PO4 , doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

K neznámému vzorku vzorku přidat 10 ml směsi 1 M H2SO4 a 1 M H3PO4 , doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Vpip [ml]  (K2Cr2O7) | Vpip [ml]  (KMnO4) | cK2Cr2O7 [mol/l]  (dáno) | cKMnO4 [mol/l]  (dáno) | A390 | A470 | A545 |
| Vzorek I | 2,5 | 1,5 |  |  |  |  |  |
| Vzorek II | 1 | 2 |  |  |  |  |  |
| Vzorek III | 4 | 0,5 |  |  |  |  |  |
| Neznámý vzorek | x | x |  |  |  |  |  |

**5.5. Měření absorbance směsných vzorků a výpočet jejich složení**

Při vlnových délkách, při nichž byly naměřeny kalibrační závislosti, změřit absorbance modelových vzorkův 1 cm kyvetě proti destilované vodě.

### 5.6. Stanovení koncentrace manganistanu a dichromanu v modelových vzorcích

Jak lze odvodit z naměřených spekter, jsou rozdíly mezi absorpčními křivkami pro žlutooranžový dichroman a fialový manganistan takové, že v oblasti vlnové délky 545 nm dichroman na rozdíl od manganistanu prakticky neabsorbuje.

To umožňuje z absorbance naměřené při této vlnové délce stanovit s použitím příslušné kalibrační křivky pro manganistankoncentraci manganistanu ve vzorku.

Naměřená absorbance směsného vzorku při 545 nm odpovídá totiž pouze koncentraci manganistanu, protože platí:



Pro takto určenou koncentraci manganistanu odečíst na kalibračních křivkách pro manganistan při 390 nm a 470 nm odpovídající hodnoty absorbance, tj. (AKMnO4)390  a (AKMnO4)470.

Pro jednotlivé vlnové délky odečíst tyto hodnoty od naměřených hodnot absorbance směsného modelového vzorku A390, resp. A470, čímž lze získat korigovanéhodnoty absorbancí, které odpovídají pouze koncentraci dichromanu (AK2Cr2O7)390 a (AK2Cr2O7)470.

Při výpočtu je třeba vycházet z následujících vztahů, patřičně je upravit:









Z vypočtených korigovaných hodnot absorbancí (AK2Cr2O7)390 a (AK2Cr2O7)470 určit pomocí kalibračních křivek dichromanu pro jednotlivé vlnové délky (390 a 470 nm) hledané koncentrace dichromanu ve vzorku. Určené koncentrace dichromanu pro jednotlivé vlnové délky (390 a 470 nm) porovnat a posoudit, zda existuje souvislost mezi přesností měření pro určitou úroveň absorbance a výsledkem analýzy.

### 5.7. Stanovení koncentrace manganistanu a dichromanu v neznámém vzorku

K neznámému vzorku v 50 ml odměrné baňce napipetovat 10 ml směsi 1 M H2SO4 a 1 M H3PO4 , doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

Proměřit v 1 cm kyvetě proti destilované vodě při vlnových délkách, při nichž byly naměřeny modelové vzorky a kalibrační závislosti.

### 5.7.1. Použití tabulkového procesoru pro grafické znázornění naměřených závislostí a zpracování výsledků

Podle pokynů vedoucího cvičení v programu MS Excel otevřít šablonu *„5-vícesložková analýza - vzorové řešení“* a uložit nový sešit.

Přepsat absorbance pro jednotlivé vlnové délky.

Program zpracuje zadaná vstupní data a naměřené hodnoty a v řádcích 93–111, ve sloupcích A–I se objeví výsledky analýz modelových vzorků (v jednotkách hmotnostních v řádcích 95–101 a v jednotkách objemových v řádcích 103–113). V řádcích 114–131 a ve sloupcích A–D jsou výsledky analýzy zadaného neznámého vzorku.

**5.7.2 Vyhodnocení vícesložkové analýzy**

Při vyhodnocení stanovení koncentrací a hmotností KMnO4 a K2Cr2O7 v neznámém vzorku v protokolu do závěru uvést:

1. **Grafy naměřených absorpčních spekter pro manganistan a dichroman se zdůvodněním vybraných vlnových délek.**
2. **Kalibrační závislosti (grafy a tabulky z programu MS Excel) pro manganistan a dichroman při 390, 470 a 545 nm, popř. jiných vybraných vlnových délkách.**
3. **Tabulku výsledků analýz modelových vzorků s následujícími údaji:**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | VÝSLEDEK | KMnO4 | 158,045 |  | K2Cr2O7 | 294,19 |  |  |  | | v mg | dano mg | nalez. | rel.ch. | dano mg | nalez.mg | rel.ch. | nalezeno | rel.ch. | |  |  | mg | % |  | 390nm | % | 470nm | % | | 1.vzorek | **2,37** | **2,45** | 3% | **7,35** | **7,25** | -1% | **7,18** | -2% | |  |  |  |  |  |  |  |  |  | | 2. vzorek | **3,16** | **3,15** | 0% | **2,94** | **2,76** | -6% | **2,84** | -3% | |  |  |  |  |  |  |  |  |  | | 3. vzorek | **0,79** | **0,86** | 9% | **11,77** | **11,57** | -2% | **10,97** | -7% | |  |  |  |  |  |  |

**Z tabulky grafického vyhodnocení výsledků analýz modelových vzorků a hodnot stanovených množství K2Cr2O7 a KMnO4 v neznámém vzorku uvést do oddělené tabulky teoretické hodnoty stanovovaných látek (m[mg]) a hodnoty naměřené při jednotlivých stanoveních modelových vzorků (m[mg], c[mol .l-1]) s ohledem na relativní chybu stanovení.**

**Uvést a zdůvodnit, při které vlnové délce je stanovený obsah dichromanu draselného přesnější.**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| vzorek č. | c. KMnO4  [mol . l-1] | mteoret. KMnO4  [mg] | mstanoveno KMnO4  [mg] | c K2Cr2O7  [mol . l-1] | mteoret. K2Cr2O7  [mg] | mstanoveno K2Cr2O7  [mg] |
| I |  |  |  |  |  |  |
| II |  |  |  |  |  |  |
| III |  |  |  |  |  |  |
| Neznámý vzorek |  | x |  |  | x |  |

1. **Početně stanovit množství KMnO4 a K2Cr2O7 (v mg) v neznámém vzorku pomocí vztahů v odstavci 5.6.** (*hodnoty molárních absorpčních koeficientů jsou uvedene v tabulkách pro kalibrační závislosti*). **Porovnat výsledky z početního a grafického vyhodnocení.**
2. **Zdůvodnit příčiny možného chybného stanovení obsahu KMnO4 a K2Cr2O7 v neznámém vzorku.**