

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 λ_{\max} a intenzitou pásu.

V analytické chemii se tato intenzita nejjednodušeji vyjadřuje hodnotou molárního absorpčního koeficientu ϵ_{\max} . Hodnota ϵ_{\max} se vypočítá z hodnoty absorpance A_{\max} změřené pro roztok látky o koncentraci c v květetě tloušťky l cm při vlnové délce λ_{\max} dle **Bouguer-Lambert-Beerova zákona** ve tvaru:

$$\epsilon_{\max} = A_{\max} \cdot (l \cdot c)^{-1}$$

Předpokladem pro měření závislosti absorpance na koncentraci $A = f(c)$ a absorpance na vlnové délce $A = f(\lambda)$, 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 λ_{\max} . Intenzitu zbarvení lze vyjádřit veličinou absorpance A_{λ} , tj. jako logaritmus poměru světelného toku $\Phi_{\lambda,0}$ vstupujícího do barevného prostředí k světelnému toku Φ_{λ} prošlému barevným roztokem při určité vlnové délce použitého záření.

Platí:

$$\Phi_{\lambda} = \Phi_{\lambda,0} \cdot 10^{-\epsilon l c} \rightarrow A_{\lambda} = \log \frac{\Phi_{\lambda,0}}{\Phi_{\lambda}} = \epsilon_{\lambda} l c$$

Je-li v roztoku přítomna směs barevných látek A a B, je absorpce světelného toku určité vlnové délky λ_1 tímto roztokem součtem absorpcí barevnými látkami A a B a pro absorpanci při této vlnové délce tedy platí:

$$A_{\lambda_1} = (A_A)_{\lambda_1} + (A_B)_{\lambda_1}$$

Pro absorpanci při jiné vlnové délce λ_2 platí:

$$A_{\lambda_2} = (A_A)_{\lambda_2} + (A_B)_{\lambda_2}$$

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

- roztok látky A o koncentraci c_A silně absorbuje při vlnové délce λ_1 a málo při vlnové délce λ_2 . Naproti tomu roztok látky B o koncentraci c_B silně absorbuje při vlnové délce λ_2 a málo při vlnové délce λ_1
- absorpce roztoků jedné i druhé složky se při obou vlnových délkách λ_1 a λ_2 řídí **Bouguer-Lambert-Beerovým zákonem**:

$$A_{\lambda} = \log \frac{\Phi_{\lambda,0}}{\Phi_{\lambda}} = \epsilon_{\lambda} l c$$

kde: ϵ_{λ} je hodnota molárního absorpčního koeficientu pro danou vlnovou délku [$l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$],

l je tloušťka květy [cm],

c je koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$].

Na základě tohoto zákona a vzhledem k výše uvedené aditivnosti absorpance můžeme absorpanci směsi dvou barevných látek při vlnové délce λ_1 vyjádřit takto:

- pro vlnovou délku λ_1 :
$$A_{\lambda_1} = (\epsilon_A)_{\lambda_1} \cdot c_A + (\epsilon_B)_{\lambda_1} \cdot c_B$$

kde: $(\epsilon_A)_{\lambda_1}$, resp. $(\epsilon_B)_{\lambda_1}$ jsou molární absorpční koeficienty látky A, resp. látky B pro vlnovou délku λ_1

- pro vlnovou délku λ_2 platí analogicky:
$$A_{\lambda_2} = (\epsilon_A)_{\lambda_2} \cdot c_A + (\epsilon_B)_{\lambda_2} \cdot c_B$$

kde: $(\epsilon_A)_{\lambda_2}$, resp. $(\epsilon_B)_{\lambda_2}$ jsou molární absorpční koeficienty látky A, resp. látky B pro vlnovou délku λ_2 .

Používáme-li při měření květy 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 A_{λ_1} a A_{λ_2} 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:

- hodnoty A_{λ_1} a A_{λ_2} **změřením**
- hodnoty $(\varepsilon_A)_{\lambda_1}$ a $(\varepsilon_A)_{\lambda_2}$ **výpočtem**, resp. graficky jako směrnice koncentračních závislostí pro standardní roztok látky A naměřených pro dvě zvolené vlnové délky ($A_{\lambda_1} = f(c_A)$ a $A_{\lambda_2} = f(c_A)$)
- hodnoty $(\varepsilon_B)_{\lambda_1}$ a $(\varepsilon_B)_{\lambda_2}$ **výpočtem**, resp. graficky jako směrnice koncentračních závislostí pro standardní roztok látky B naměřených pro dvě zvolené vlnové délky ($A_{\lambda_1} = f(c_B)$ a $A_{\lambda_2} = f(c_B)$)

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

$$\left(\text{např. } \frac{(\varepsilon_A)_{\lambda_1}}{(\varepsilon_B)_{\lambda_1}}\right) \text{ co největší.}$$

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 nm 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 $\frac{2}{3}$ 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 směsi 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:

$$\begin{array}{lll} A_{390} = f(c_{\text{KMnO}_4}) & A_{470} = f(c_{\text{KMnO}_4}) & A_{545} = f(c_{\text{KMnO}_4}) \\ A_{390} = f(c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}) & A_{470} = f(c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}) & A_{545} = f(c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}) \end{array}$$

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

Výsledky zaznamenat do tabulky sestavené pro pozdější výpočty:

| V_{pip} (zás.roztoku) [ml] | $c(\text{KMnO}_4)$ [mol · l ⁻¹] | A_{390} | A_{470} | A_{545} |
|---|--|-----------|-----------|-----------|
| 0,5 | | | | |
| 1 | | | | |
| 1,5 | | | | |
| 2 | | | | |
| 2,5 | | | | |

| V_{pip} (zás.roztoku) [ml] | $c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$ [mol · l ⁻¹] | A_{390} | A_{470} | A_{545} |
|---|--|-----------|-----------|-----------|
| 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.

| | V_{pip} [ml] (K ₂ Cr ₂ O ₇) | V_{pip} [ml] (KMnO ₄) | $c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ [mol/l] (dáno) | c_{KMnO_4} [mol/l] (dáno) | A_{390} | A_{470} | A_{545} |
|----------------|---|---|--|--|-----------|-----------|-----------|
| 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 vzorků v 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 manganistan koncentraci manganistanu ve vzorku.

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

$$A_{545} = (\epsilon_{KMnO_4})_{545} \cdot c_{KMnO_4}$$

Pro takto určenou koncentraci manganistanu odečíst na kalibračních křivkách pro manganistan při 390 nm a 470 nm odpovídající hodnoty absorbance, tj. $(A_{KMnO_4})_{390}$ a $(A_{KMnO_4})_{470}$.

Pro jednotlivé vlnové délky odečíst tyto hodnoty od naměřených hodnot absorbance směsného modelového vzorku A_{390} , resp. A_{470} , čímž lze získat korigované hodnoty absorbancí, které odpovídají pouze koncentraci dichromanu $(A_{K_2Cr_2O_7})_{390}$ a $(A_{K_2Cr_2O_7})_{470}$.

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

$$A_{390} = (A_{KMnO_4})_{390} + (A_{K_2Cr_2O_7})_{390}$$

$$A_{390} = (\epsilon_{KMnO_4})_{390} \cdot c_{KMnO_4} + (\epsilon_{K_2Cr_2O_7})_{390} \cdot c_{K_2Cr_2O_7}$$

$$A_{470} = (A_{KMnO_4})_{470} + (A_{K_2Cr_2O_7})_{470}$$

$$A_{470} = (\epsilon_{KMnO_4})_{470} \cdot c_{KMnO_4} + (\epsilon_{K_2Cr_2O_7})_{470} \cdot c_{K_2Cr_2O_7}$$

Z vypočtených korigovaných hodnot absorbancí $(A_{K_2Cr_2O_7})_{390}$ a $(A_{K_2Cr_2O_7})_{470}$ 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 H_2SO_4 a 1 M H_3PO_4 , doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

Proměřit v 1 cm kvyetě 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 $KMnO_4$ a $K_2Cr_2O_7$ 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 v mg | KMnO ₄ | 158,045 | | K ₂ Cr ₂ O ₇ | 294,19 | | | |
|------------------|-------------------|--------------|--------------|---|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
| | dano mg | nalez. mg | rel.ch. % | dano mg | nalez.mg 390nm | rel.ch. % | nalezeno 470nm | rel.ch. % |
| 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. KMnO ₄ [mol . l ⁻¹] | m _{teoret.} KMnO ₄ [mg] | m _{stanoveno} KMnO ₄ [mg] | c K ₂ Cr ₂ O ₇ [mol . l ⁻¹] | m _{teoret.} K ₂ Cr ₂ O ₇ [mg] | m _{stanoveno} K ₂ Cr ₂ O ₇ [mg] |
|-------------------|--|--|---|---|--|---|
| I | | | | | | |
| II | | | | | | |
| III | | | | | | |
| Neznámý vzorek | | x | | | x | |

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