

# VYBRANÉ METODY Z ANALYTICKÉ CHEMIE

Pavel Coufalík

*Potravinářská chemie I, podzim 2020*

# Přehled metod

## Volumetrie

- Titrace acidobazické (neutralizační)
- Titrace srážecí (vznik málo rozpustných produktů)
- Titrace chelatometrické (vznik málo disociovaných komplexů)
- Titrace redoxní (přenos elektronů; oxidimetrie a redutometrie)

## Gravimetrie

## Kolorimetrie

## Ultrafialová a viditelná spektrometrie (UV/VIS)



# Volumetrie

- Předpoklad stanovení analytu – kvantitativní (a dostatečně rychlá) stechiometrické reakce činidla s analytem
- Stanovení obsahu analytu ze změřeného objemu titračního činidla o známé koncentraci
- Pro koncentrace od  $10^{-3}$  mol/l
- Titrace za pomoci byrety; automatické titrátory



A.... stanovovaná látka,

B.... titrační činidlo,

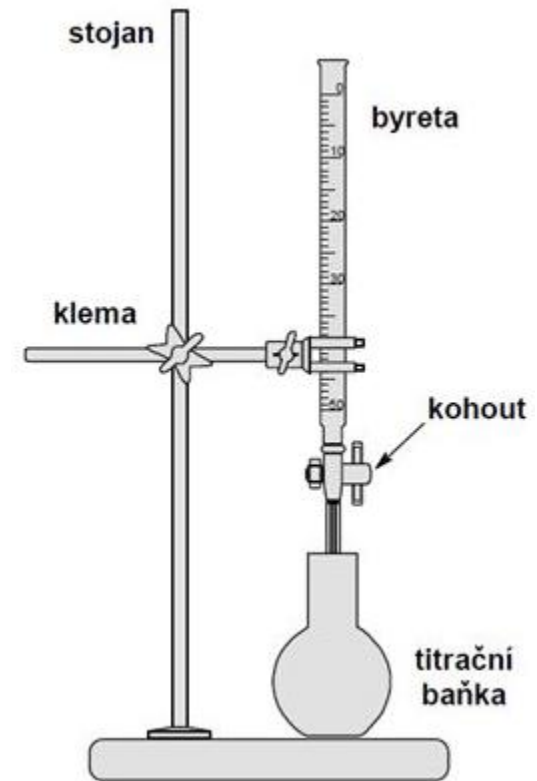
a.... počet molů stanovované látky,

b.... počet molů titračního činidla.

$$\frac{n_A}{n_B} = \frac{a}{b}$$

$$n_A = \frac{m_A}{M_A}$$

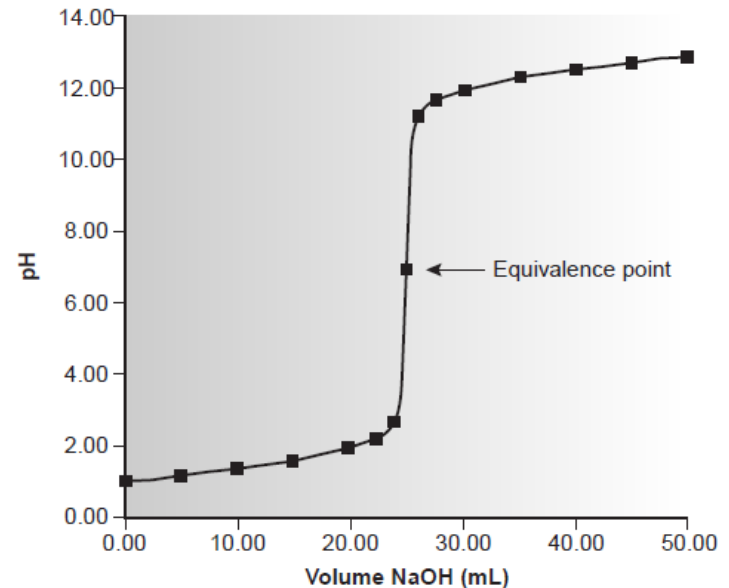
$$n_A = V_A \cdot c_A$$



Titrační aparatura

# Volumetrie

- Bod ekvivalence – spotřebované množství titračního činidla odpovídá množství analytu
- Vhodná indikace bodu ekvivalence – nejčastěji použití vizuálních indikátorů (barevná změna roztoku) nebo potenciometrické měření (např. měření pH)
- Titrační křivka – závislost sledované vlastnosti (např. pH) na objemu přidaného titračního činidla
- Titr roztoku – přesná známá koncentrace titračního roztoku (mol/l)
- Faktor roztoku – poměr mezi skutečnou a požadovanou koncentrací
- Přesnou koncentraci roztoku lze připravit pouze ze základních látek



Acid–base titration curve for 25.0 mL of 0.100 M HCl with 0.100 M NaOH.

Průběh titrace

# Volumetrie

- Základní látka – chemická sloučenina, která nemění hmotnost při navažování – nárůst hmotnosti o  $\text{H}_2\text{O}$  nebo  $\text{CO}_2$ , (oxidace vzdušným kyslíkem)
- Příprava odměrného roztoku – ze základní látky nebo standardizací
- Standardizace – titrace známého množství základní látky (primární standard) o přesné koncentraci odměrným roztokem → určení přesné koncentrace titračního činidla → titrace analytu
- Chemické indikátory – látky způsobující barevnou změnu roztoku (jednobarevné nebo barevná změna); acidobazické, metalochromní, redoxní
- Funkční oblast indikátoru – interval barevné změny indikátoru (např. v rozmezí pH)
- Bezindikátorová titrace – titrace barevným titračním činidlem
- Chyba titrace – bod ekvivalence nelze určit nikdy zcela přesně – přidávání činidla po kapkách, barevná změna indikátoru se nekryje přesně s bodem ekvivalence; vyhodnocení z průběhu titrační křivky graficky nebo výpočtem

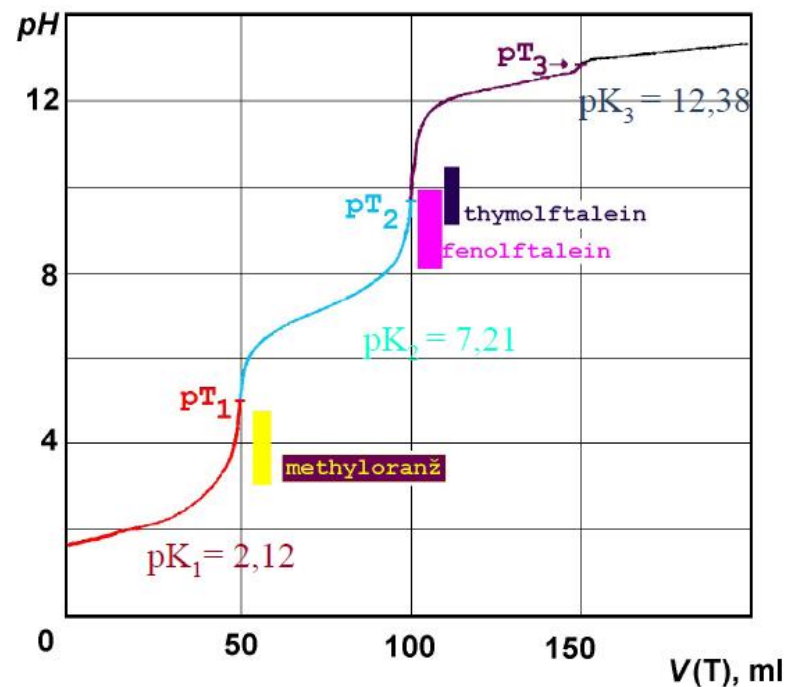
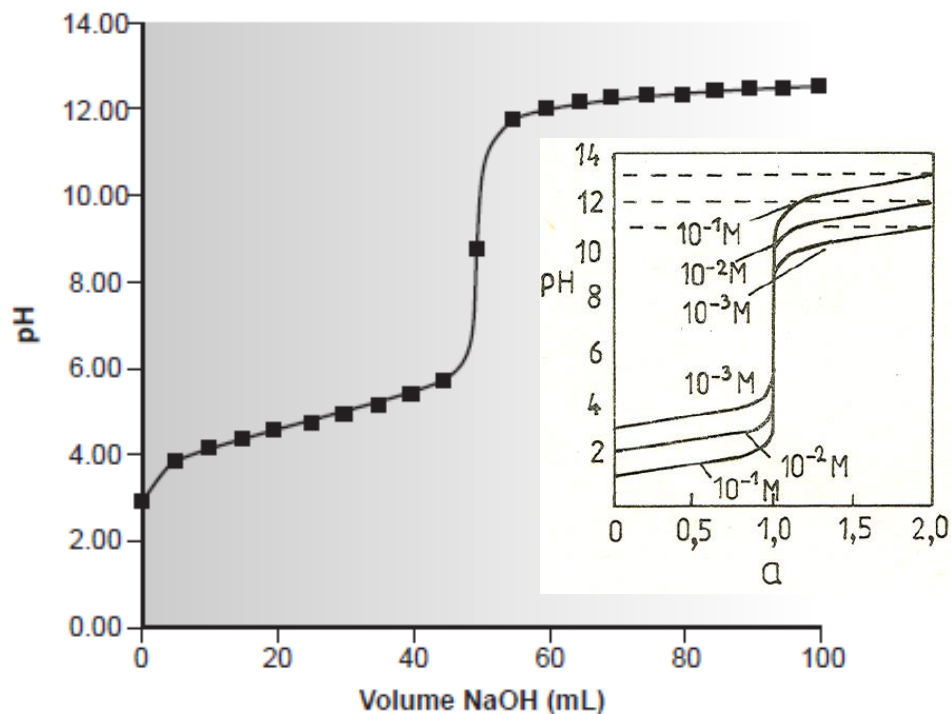
# Volumetrie

- Příprava odměrného roztoku: 
$$m_{\text{látky}} = c_{\text{látky}} \cdot M_{\text{látky}} \cdot V_{\text{roztoku}}$$
  
(m – hmotnost v g, M – molární hmotnost v mol/l, V – objem roztoku v l)
- Přímá titrace – titrace vzorku titračním činidlem
- Nepřímá titrace – nadbytkem činidla se uvolní produkt, který titrujeme odměrným roztokem
- Zpětná titrace – ke vzorku se přidá známý nadbytek činidla, po proběhnutí chemické reakce se zbylý nadbytek činidla titruje odměrným roztokem
- Kapalně vzorky – naředění do definovaného objemu
- Pevně vzorky – rozpuštění do definovaného objemu
- Provedení titrace – jedna hrubá titrace na začátku pro orientační zjištění bodu ekvivalence; pro výpočet používáme průměrnou spotřebu titračního činidla ze třech následujících opakování
- Při titraci intenzivně mícháme titrovaný roztok!



# Acidobazické titrace

- Acidimetrie – titrace odměrným roztokem kyseliny
- Alkalimetrie – titrace odměrným roztokem zásady
- Titrační křivka – závislost pH na objemu titračního činidla



Titrační křivka titrace silné kyseliny silnou zásadou

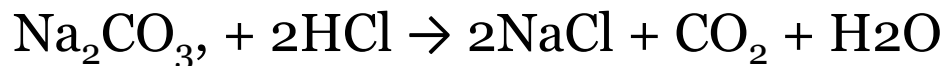
Titrace vícesytné kyseliny ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )

# Acidobazické titrace

## Acidimetrie

- Odměrné roztoky HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub> o koncentraci 0,1-1 mol/l
- HCl – uvolňuje plynný HCl; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – přijímá vlhkost ze vzduchu
- Základní látky – Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (vysušený při 300°C), KHCO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>
- Titrace na methylooranž

- Standardizace roztoku HCl na Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:



## Alkalimetrie

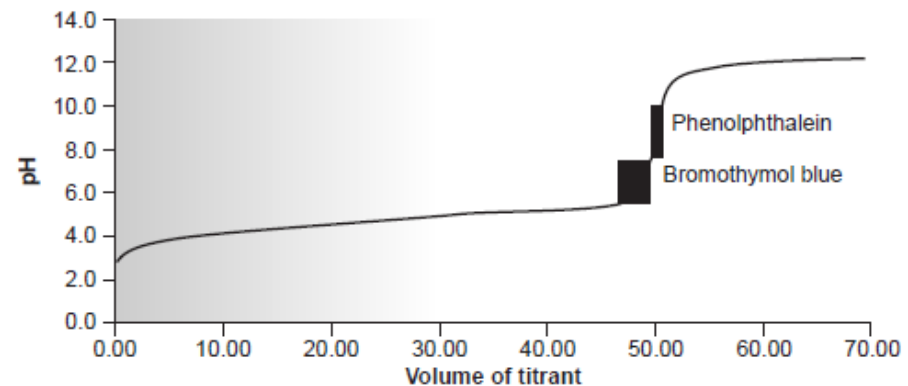
- Odměrný roztok NaOH, KOH o koncentraci 0,1-1 mol/l
- NaOH – přijímá H<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> ze vzduchu → standardizace roztoku
- Základní látky – kyselina šťavelová, benzoová, salicylová



# Acidobazické titrace

- Acidobazické indikátory – organické kyseliny nebo zásady
- Funkční oblast indikátoru:  $\text{HInd} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{Ind}^- \quad \text{pH} \approx \text{p}K_{\text{Ind}} \pm 1$
- Vizuální detekce – přeměna 10% dvoubarevného indikátoru; u jednobarevných indikátorů je zbarvení závislé na jejich koncentraci
- [Alkalimetrická titrace na fenolftalein](#)

Indicator	Acid Color	Base Color	pH Range
cresol red	red	yellow	0.2–1.8
thymol blue	red	yellow	1.2–2.8
bromophenol blue	yellow	blue	3.0–4.6
methyl orange	red	orange	3.1–4.4
Congo red	blue	red	3.0–5.0
bromocresol green	yellow	blue	3.8–5.4
methyl red	red	yellow	4.2–6.3
bromocresol purple	yellow	purple	5.2–6.8
litmus	red	blue	5.0–8.0
bromothymol blue	yellow	blue	6.0–7.6
phenol red	yellow	red	6.8–8.4
cresol red	yellow	red	7.2–8.8
thymol blue	yellow	blue	8.0–9.6
phenolphthalein	colorless	red	8.3–10.0
alizarin yellow R	yellow	orange/red	10.1–12.0



Titration curve for 50.00 mL of 0.100 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  with 0.100 M NaOH showing the range of pHs and volumes of titrant over which the indicators bromothymol blue and phenolphthalein are expected to change color.

# Acidobazické titrace

## Titrace kyseliny octové odměrným roztokem NaOH

- Výpočet stanovení v pevném vzorku:

$$\%(\text{X}) = \frac{V(\text{A}) \cdot c(\text{A}) \cdot \text{Me}(\text{X}) \cdot \text{zřed.} \cdot 100}{\text{nav.}}$$

m je hmotnost stanovované složky X v gramech

V(A) spotřeba odměrného roztoku v litrech

c(A) přesná molární koncentrace odměrného roztoku v mol.l<sup>-1</sup>

Me(X) molární hmotnost ekvivalentu stanovované složky X v g.mol<sup>-1</sup>

zřed. - zředění stanovované složky

nav. (navážka) představuje navážku vzorku použitou pro stanovení

k alkalimetrickému stanovení octové kyseliny bylo naváženo 1,2437 g vzorku a po zředění byl vzorek doplněn v odměrné baňce na 100,00 ml. Do titrační baňky bylo odpipetováno 20,00 ml tohoto roztoku a při titraci se spotřebovalo 23,05 ml hydroxid o koncentraci c(NaOH) = 0,0955 mol.l<sup>-1</sup>. Kolik procent kyseliny octové obsahuje vzorek? M(CH<sub>3</sub>COOH) = 60,04 g.mol.<sup>-1</sup>

$$\%(\text{CH}_3\text{COOH}) = \frac{0,02305 \cdot 0,09550 \cdot 60,04 \cdot 5 \cdot 100}{1,2437} = 53,13$$

Data for Titration of 50.0 mL of 0.100 M Acetic Acid with 0.100 M NaOH

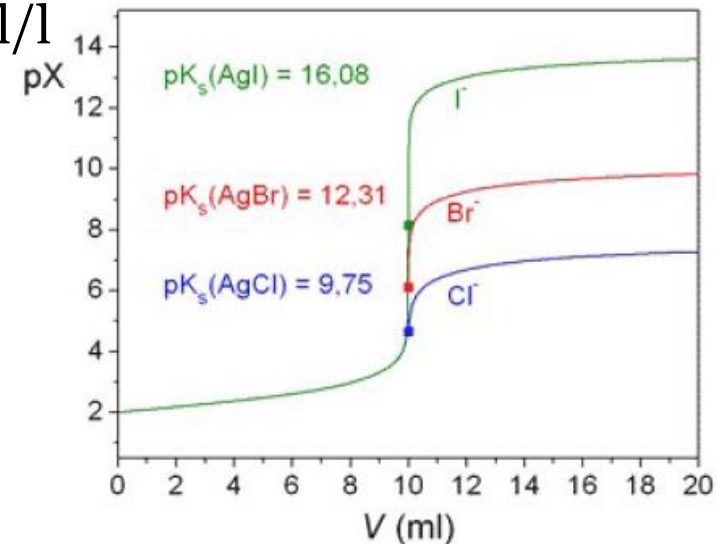
Volume of NaOH (mL)	pH
0.00	2.88
5.00	3.81
10.00	4.16
15.00	4.39
20.00	4.58
25.00	4.76
30.00	4.94
35.00	5.13
40.00	5.36
45.00	5.71
48.00	6.14
50.00	8.73
52.00	11.29
55.00	11.68
60.00	11.96
65.00	12.12
70.00	12.22
75.00	12.30
80.00	12.36
85.00	12.41
90.00	12.46
95.00	12.49
100.00	12.52

# Srážecí titrace

- Předpoklad – dostatečně rychlý vznik sraženiny analytu s titračním činidlem

## Argentometrická titrace

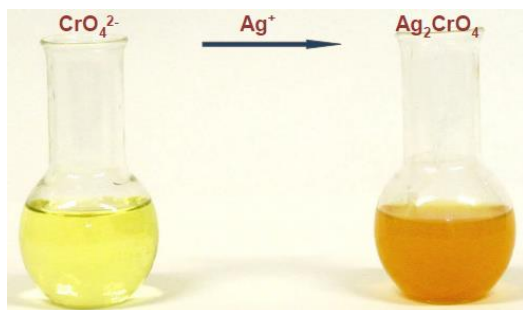
- Titrace roztokem  $\text{AgNO}_3$ , vznik málo rozpustných halogenidů Ag; naopak stanovení Ag titrací roztokem NaCl
- Stanovení Ag,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{SCN}^-$
- Roztok  $\text{AgNO}_3$  o koncentraci 0,01 – 0,1 mol/l
- Základní látka – NaCl (vysušení 120°C)
- Velmi nízké součiny rozpustnosti sraženin



# Srážecí titrace

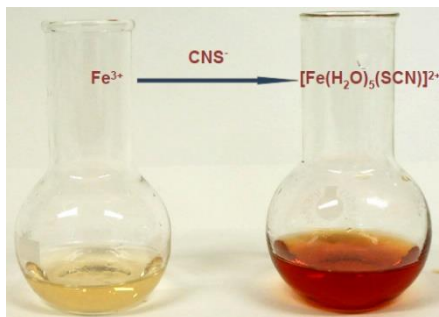
Určení bodu ekvivalence v argentometrii

- Mohrova metoda



Indikace  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  – po vysrážení halogenidů se sráží  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$

- Volhardova metoda



Titrace Ag roztokem  $\text{NH}_4\text{SCN}$  s indikací vznikem železité soli

- Fajansova metoda – použití adsorpčních indikátorů (fluorescein, eosin)

Analyte	Titrant <sup>a</sup>	End Point <sup>b</sup>
$\text{AsO}_4^{3-}$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard
$\text{Br}^-$	$\text{AgNO}_3$	Mohr or Fajans
	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard
$\text{Cl}^-$	$\text{AgNO}_3$	Mohr or Fajans
	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard*
$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard*
$\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard*
$\text{CrO}_4^{2-}$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard*
$\text{I}^-$	$\text{AgNO}_3$	Fajans
	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard
$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard*
$\text{S}^{2-}$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard*
$\text{SCN}^-$	$\text{AgNO}_3$ , KSCN	Volhard

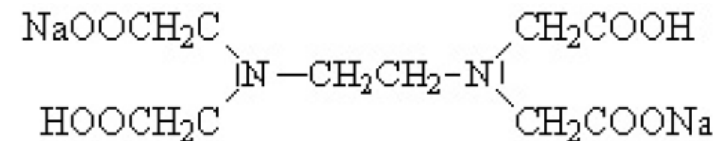
# Komplexometrické titrace

- Předpoklad – vznik stabilních komplexních sloučenin

## Chelatometrie

- Titrace chelatony:
  - chelaton I - kyselina nitrilotrioctová
  - chelaton II - ethylendiamintetraoctová kyselina
  - chelaton III - disodná sůl ethylendiamintetraoctové kys.
  - chelaton IV - cyklohexan 1,2 diamintetraoctová kyselina

- Chelaton reaguje s analytem v poměru 1:1



- Chelaton III o koncentraci 0,01 – 0,05 mol/l
- Stabilita chelátu závislá na pH
- Základní látky – čisté kovy (Cu, Zn) nebo soli (CaCO<sub>3</sub>, PbCl<sub>2</sub>)
- Jednobarevné indikátory – KSCN, sulfosalicylová kyselina
- $\text{Ind}^- + \text{M}^{n+} = \text{komplex}$
- Metalochromní indikátory (organická barviva) – murexid, eriochromová čerň T

chelaton III (EDTA)

# Komplexometrické titrace



murexid

při pH < 6 červenofialový, při pH > 6 modrofialový

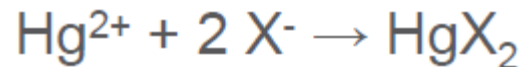


eriochromová čern T

při pH < 6 červený, do pH 11 modrý  
při pH > 11,5 žlutooranžový

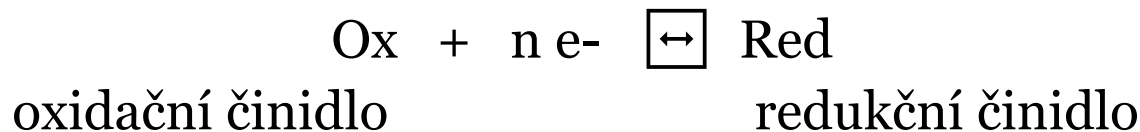
## Merkurimetrie

- Titrace roztokem  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$
- Tvorba málo disociovaných, dobře rozpustných sloučenin  $\text{Hg}^{2+}$  s  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$
- Základní látka – NaCl
- Indikátor – nitroprusid sodný, difenylkarbazid

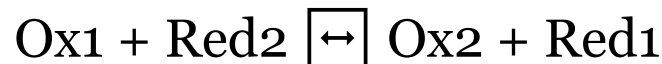


# Redoxní titrace

- Oxidační činidlo – látka přijímá elektrony a tím se redukuje
- Redukční činidlo – látka odevzdává elektrony a tím se oxiduje
- Stejná látka může být v jedné redoxní reakci oxidačním činidlem, v jiné redukčním činidlem.



- Za běžných podmínek se elektrony nemohou vyskytovat ve volném stavu, oxidace a redukce vždy probíhají současně



- Oxidimetrické i reduktometrické titrace – přidavkem odměrného roztoku se mění poměr oxidované a redukované formy analytu
- Oxidační činidla:  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{KBrO}_3$ ,  $\text{I}_2$ ,  $\text{Ce}^{4+}$
- Redukční činidla: soli  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$

# Redoxní titrace

## Manganometrie

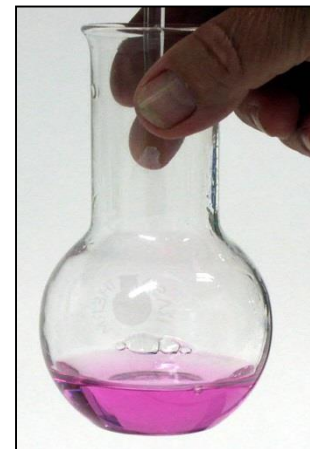
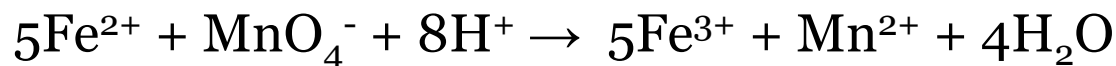
- Titrace roztokem  $\text{KMnO}_4$  o koncentraci 0,002 – 0,1 mol/l



- Základní látky – kyselina šťavelová, šťavelan sodný
- Stanovení kyseliny šťavelové, šťavelanů, siřičitanů, dusitanů, jodidů, peroxidů,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , solí Sn, Sb, As ...

## Stanovení železa a jeho solí

- V prostředí  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , s autoindikací manganistanem
- Železné piliny se rozpustí ve zředěné  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a titrují manganistanem



Autoindikace bodu ekvivalence v kyselém prostředí

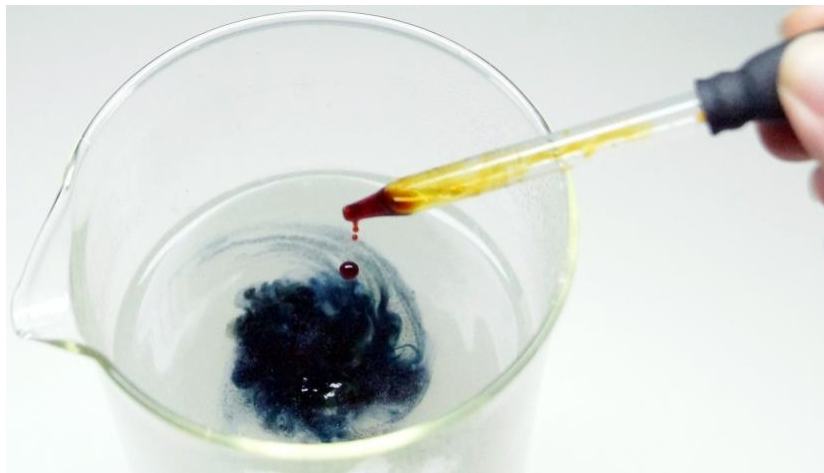


# Redoxní titrace

## Jodometrie



- Odměrný roztok – roztok jodu o koncentraci 0,01 – 0,1 mol/l v prostředí KI
- Titrace v rozmezí pH = 0-8 (kyselá a slabě zásaditá oblast)
- Bod ekvivalence je indikován první přebytečnou kapkou roztoku jodu (žlutohnědé zbarvení) nebo modrým zbarvením sloučeniny  $\text{I}_3^-$  se škrobem
- Základní látky - resublimovaný jod,  $\text{As}_2\text{O}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ,  $\text{KBrO}_3$ ,  $\text{KIO}_3$
- Stanovení formaldehydu,  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{Br}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , solí As, Sb, Sn, Fe,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{ClO}_3^-$ ,  $\text{BrO}_3^-$ ,  $\text{IO}_3^-$ ,  $\text{MnO}_4^-$



Adsorpční  
sloučenina  
amylózy

# Použití titrací v potravinářské chemii

- Argentometrické stanovení obsahu soli v potravinách
- Jodometrické stanovení vody v potravinách (podle Karl Fishera)
- Stanovení siřičitanů a kyselin ve víně
- Stanovení kyseliny citrónové v nápojích
- Stanovení kyseliny octové v octu
- Stanovení kyseliny šťavelové ve špenátu
- Stanovení vitamínu C
- ...

# Gravimetrie

- Metoda založená na kvantitativním vyloučení stanovované složky ve formě málo rozpustné sloučeniny (tzv. vylučovací forma), která se převede sušením nebo žíháním na sloučeninu definovaného složení (tzv. vážitelná forma)



- Gravimetrický faktor:

$$\frac{m_x}{m_g} = \frac{n_x \cdot M_x}{n_g \cdot M_g} = f_g$$

$m_x$  .... hledaná hmotnost stanovované látky v gramech,

$m_g$  .... hmotnost vážitelné formy stanovované látky v gramech,

$M_x$  .... molární hmotnost stanovované látky v  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,

$M_g$  .... molární hmotnost vážitelné formy stanovované látky v  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,

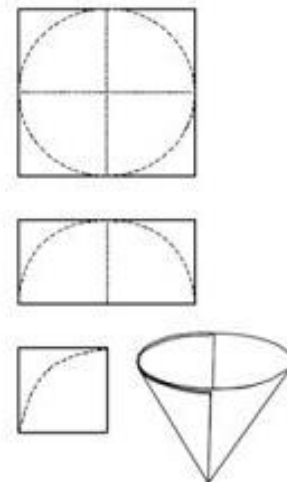
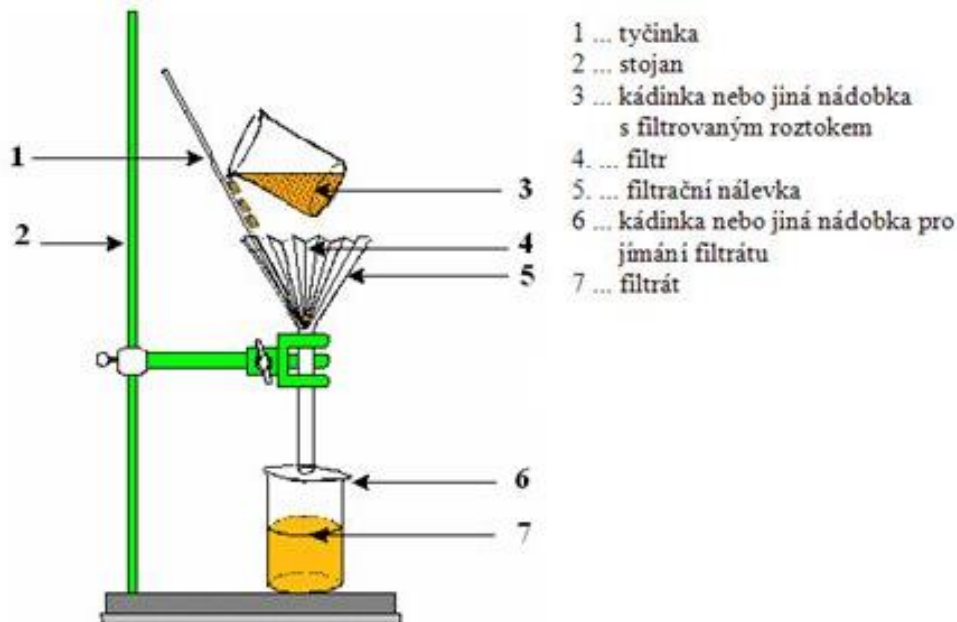
$f_g$  .... tzv. stechiometrický přepočítávací **gravimetrický faktor**, který udává hmotnost stanovované složky v gramech odpovídající 1 g vážitelné formy.

# Gravimetrie

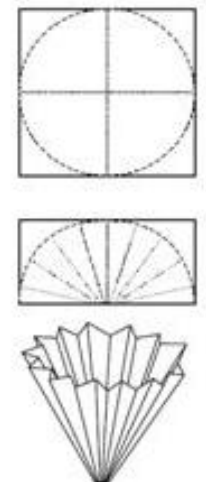
## Srážení

- Pomalé přidávání srážecího činidla do zředěného roztoku vzorku za míchání (+ úprava pH, teplota roztoku ...)
- Většinou za horka – vznik lépe filtrovatelné sraženiny (+rekrytalizace v matečném louhu)

## Filtrační aparatura a skládání filtru



Příprava „klasického“ filtru



Příprava skládaného filtru

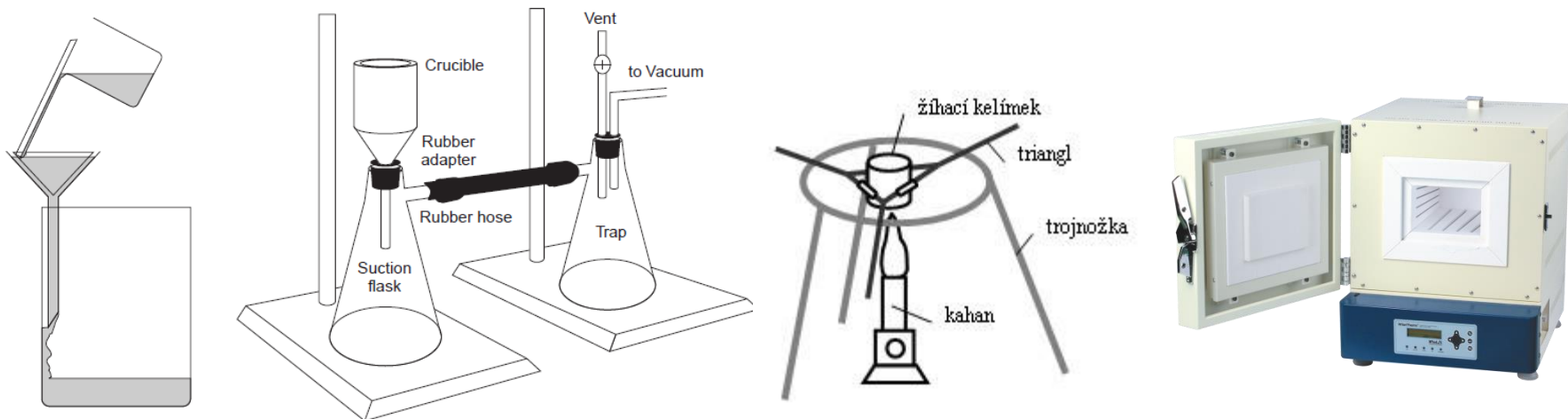
# Gravimetrie

## Filtrace a promývání

- Papírové kvantitativní filtry (nízký obsah popeloviny), filtrační kelímky s fritou
- Promývání sraženiny destilovanou vodou, dekantace

## Sušení a žíhání

- Převedení na vážitelnou formu, do konstantní hmotnosti
- Sušení sraženiny na 100-120°C, chladnutí v exikátoru
- Sušení a spalování filtru v kelímku, žíhání zuhelnatělého zbytku nad kahanem nebo v peci



# Gravimetrie

## Stechiometrické výpočty v gravimetrii

- Stanovení analytu ve vážitelné formě sloučeniny :  $m_x = m_g \cdot f_g$

Procentový obsah stanovované látky ( $w_x$ ) v navážce vzorku ( $m_v$ )

$$w_x = \frac{m_g \cdot f_g}{m_v} \cdot 100 \quad [\%] \quad m_v \dots \text{navážka vzorku v gramech}$$

- Příprava  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  – stanovení Fe:

$$\frac{n_x}{n_g} = \frac{n_{\text{Fe}}}{n_{\text{Fe}_2\text{O}_3}} = \frac{2}{1}$$

$$\frac{m_{\text{Fe}}}{m_{\text{Fe}_2\text{O}_3}} = \frac{2}{1} \cdot \frac{M_{\text{Fe}}}{M_{\text{Fe}_2\text{O}_3}}$$

$$m_{\text{Fe}} = \frac{2 \cdot M_{\text{Fe}}}{M_{\text{Fe}_2\text{O}_3}} \cdot m_{\text{Fe}_2\text{O}_3} = f_g \cdot m_{\text{Fe}_2\text{O}_3}$$

$$m_{\text{Fe}} = 0,6994 \cdot m_{\text{Fe}_2\text{O}_3}$$

# Gravimetrie

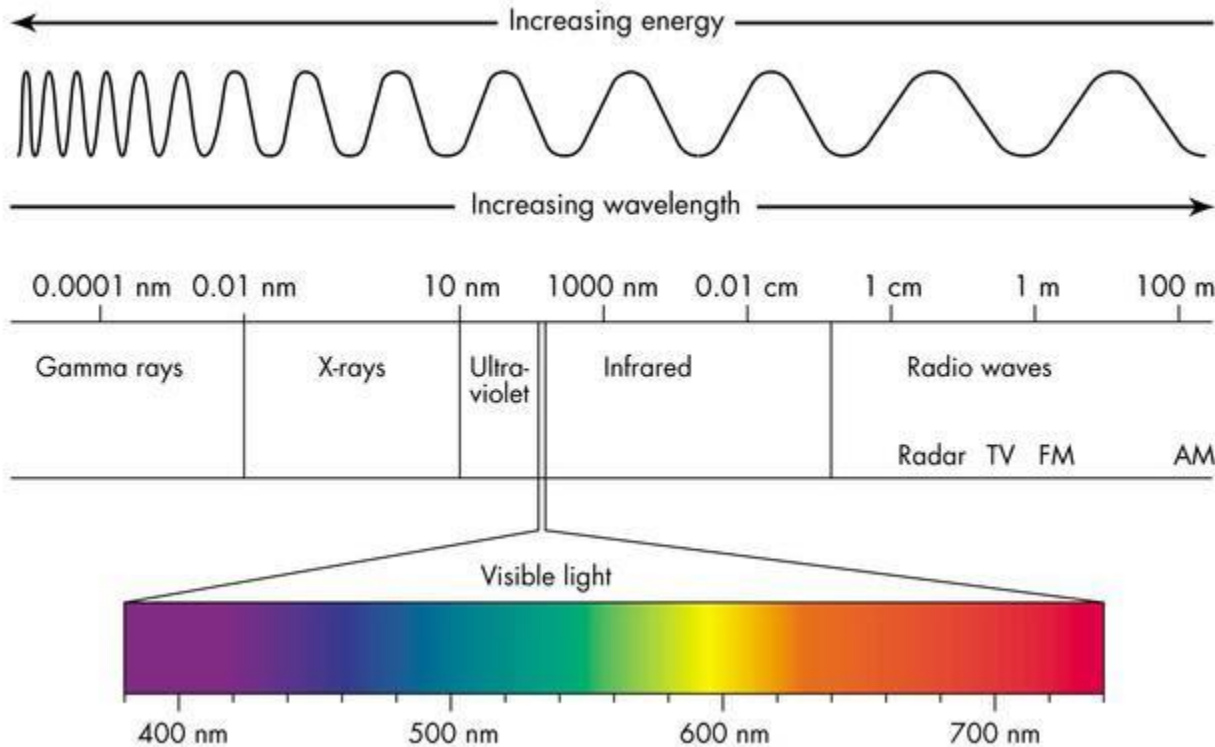
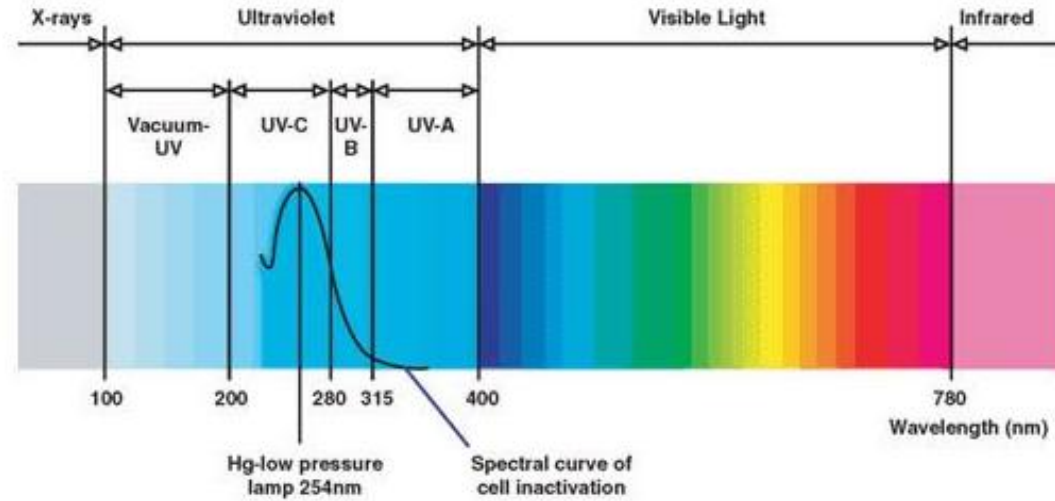
- Jednoduchá vážková analýza – stanovení sušiny, popeloviny
- Stanovení škrobu, pentosanů, pektinu, sterolů, tuků, ligninu, glycerolu, kys. mravenčí, citrónové ...

Stanovovaná komponenta	Vážitelná forma	Gravimetrický faktor
Ag	AgCl	0,7526
Ag	AgBr	0,5745
Al	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,5293
Al	Al(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> NO) <sub>3</sub>	0,0587
Ba	BaSO <sub>4</sub>	0,5884
Ba	BaCO <sub>3</sub>	0,6959
Ca	CaSO <sub>4</sub>	0,2944
Ca	CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,2743
Cl	AgCl	0,2474
Cu	CuO	0,7989
Fe	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,6994
Fe	Fe(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> NO) <sub>3</sub>	0,1144
K	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,4487
K	KCl	0,5244
Mg	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0,2184
Mg	Mg(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> NO) <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,0697
Na	NaCl	0,3934
Ni	Ni(HL) <sub>2</sub>	0,2032
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0,6378
S	BaSO <sub>4</sub>	0,1374
SO <sub>4</sub>	BaSO <sub>4</sub>	0,4116
Th	Th(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> NO) <sub>4</sub>	0,2869
Zn	Zn <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0,4292

Ion	Srážedlo	Srážecí forma	Teplota sušení resp. žihání	Vážená forma
Ag <sup>+</sup>	HCl	AgCl	130	AgCl
Al <sup>3+</sup>	NH <sub>4</sub> OH	Al(OH) <sub>3</sub>	1 000	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	8-chinolinol	Al(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>3</sub>	130	Al(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>3</sub>
Ba <sup>2+</sup>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	BaSO <sub>4</sub>	700	BaSO <sub>4</sub>
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	BaCrO <sub>4</sub>	550	BaCrO <sub>4</sub>
Bi <sup>3+</sup>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	BiPO <sub>4</sub>	800	BiPO <sub>4</sub>
	8-chinolinol	Bi(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O	130	Bi(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>3</sub>
Ca <sup>2+</sup>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	105	CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O
Cu <sup>2+</sup>	benzoinoxim	Cu(C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N)	110	Cu(C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N)
Fe <sup>3+</sup>	NH <sub>4</sub> OH	Fe(OH) <sub>3</sub>	1 000	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	8-chinolinol	Fe(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>3</sub>	120	Fe(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>3</sub>
Hg <sup>2+</sup>	H <sub>2</sub> S	HgS	110	HgS
Mg <sup>2+</sup>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> MgPO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1 100	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
Ni <sup>2+</sup>	2,3-butandion- dioxim	Ni(C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	120	Ni(C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>
Pb <sup>2+</sup>	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , anthrani- lová kyselina	PbCrO <sub>4</sub>	140	PbCrO <sub>4</sub>
		Pb(C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> N) <sub>2</sub>	110	Pb(C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> N) <sub>2</sub>
Zn <sup>2+</sup>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> ZnPO <sub>4</sub>	900	Zn <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
	8-chinolinol	Zn(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	130	Zn(C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> ON) <sub>2</sub>
AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	MgCl <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> Cl	NH <sub>4</sub> MgAsO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	900	Mg <sub>2</sub> As <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
Br <sup>-</sup>	AgNO <sub>3</sub>	AgBr	130	AgBr
Cl <sup>-</sup>	AgNO <sub>3</sub>	AgCl	130	AgCl
I <sup>-</sup>	AgNO <sub>3</sub>	AgI	130	AgI
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	MgCl <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> Cl	NH <sub>4</sub> MgPO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1 100	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	BaCl <sub>2</sub>	BaSO <sub>4</sub>	700	BaSO <sub>4</sub>



# Spektrum záření



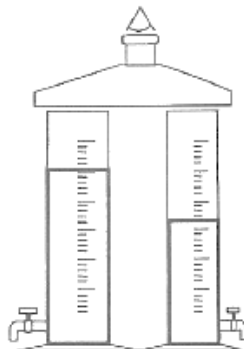
# Kolorimetrie

- Nejstarší optická metoda – vizuální porovnání intenzity zbarvení vzorku a standardu
- Absorbance  $A_{\text{vzorek}} = A_{\text{standard}}$

2 možnosti srovnávání:

- Roztok vzorku porovnáváme se sadou různě koncentrovaných roztoků při stejné tloušťce absorbující vrstvy (stejný průměr válce, zkumavky)  $c_{\text{vzorek}} l_{\text{vzorek}} = c_{\text{standard}} l_{\text{standard}}$

- Měníme tloušťku absorbující vrstvy dokud nedosáhneme stejné absorbance



$$c_{\text{vzorek}} = c_{\text{standard}} * l_{\text{standard}} / l_{\text{vzorek}}$$

(c – koncentrace, l – tloušťka absorbující vrstvy)

Kolorimetr podle Wolfa

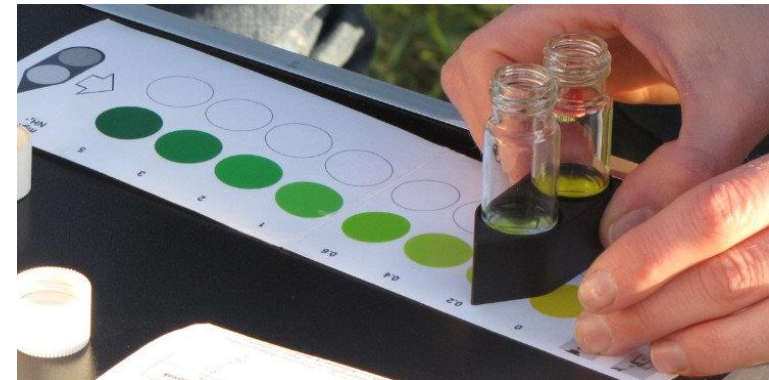
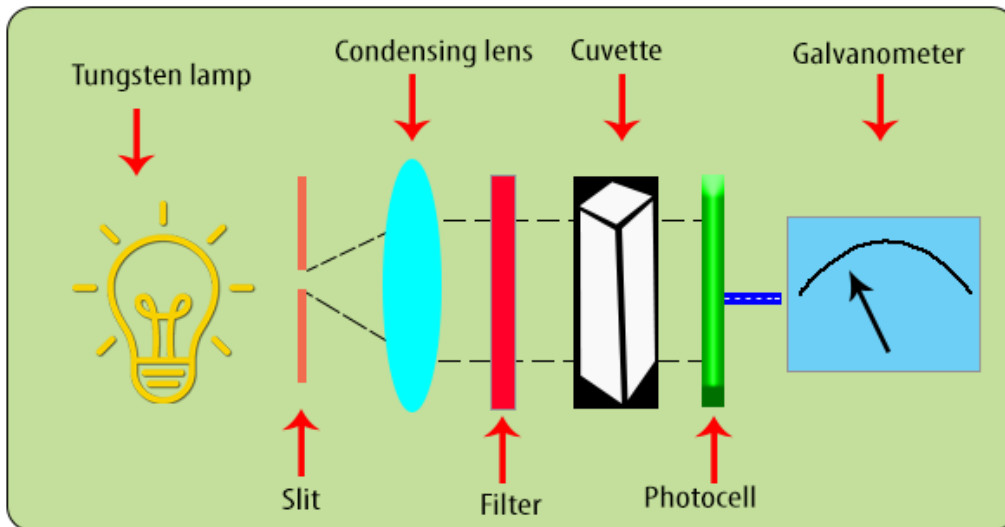
# Kolorimetrie

- Zdroj záření pro viditelnou oblast – wolframová nebo halogenová žárovka

Princip kolorimetrie



## Components of the Colorimeter



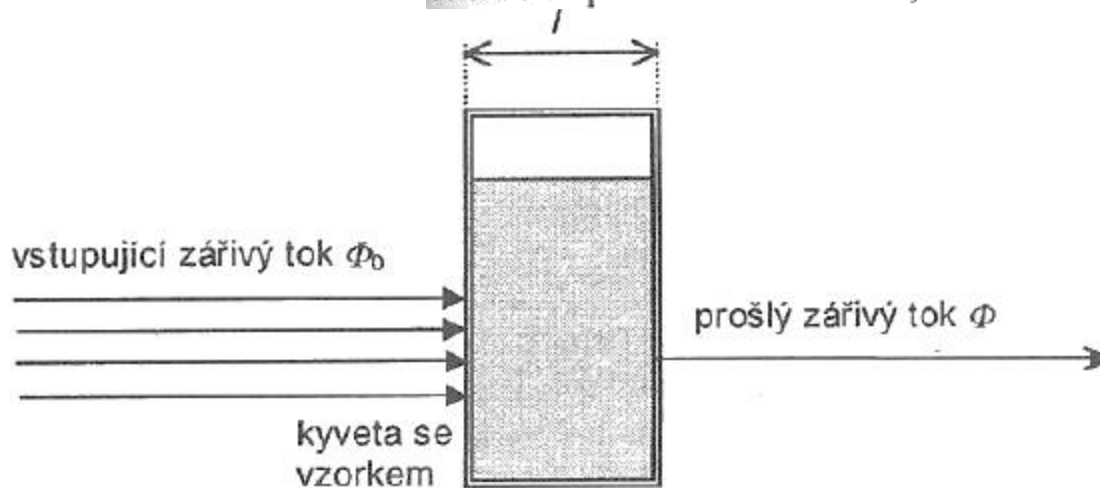
# Ultrafialová a viditelná spektrometrie

- UV/VIS – absorpce ultrafialového a viditelného záření (200 – 800 nm) zředěnými roztoky látek
- Fotometrie (spektrofotometrie) – měření prošlého zářivého toku přes absorpční vrstvu

- Transmittance:  $T = \frac{\Phi}{\Phi_0}$       $T = \frac{\Phi}{\Phi_0} 100 (\%)$       $\Phi_0$  ..... dopadající zářivý  
 $\Phi$  ..... prošlý zářivý tok

- Absorbance:  $A = -\log T = \log \frac{\Phi_0}{\Phi}$

Je-li absorpce záření nulová, transmittance je jednotková (100 %)



Absorpce při průchodu záření kyvetou se vzorkem

# UV/VIS

**Lambert-Beerův zákon:**  $A = \varepsilon_{\lambda} c l$

$\varepsilon_{\lambda}$ .....molární absorpční koeficient (konstanta pro danou látku za daných podmínek při určité vlnové délce;  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

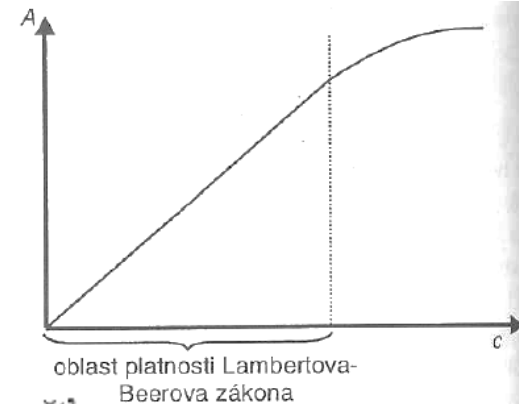
$c$ .....látková koncentrace ( $\text{mol dm}^{-3}$ )

$l$ .....tloušťka absorbující vrstvy (cm)

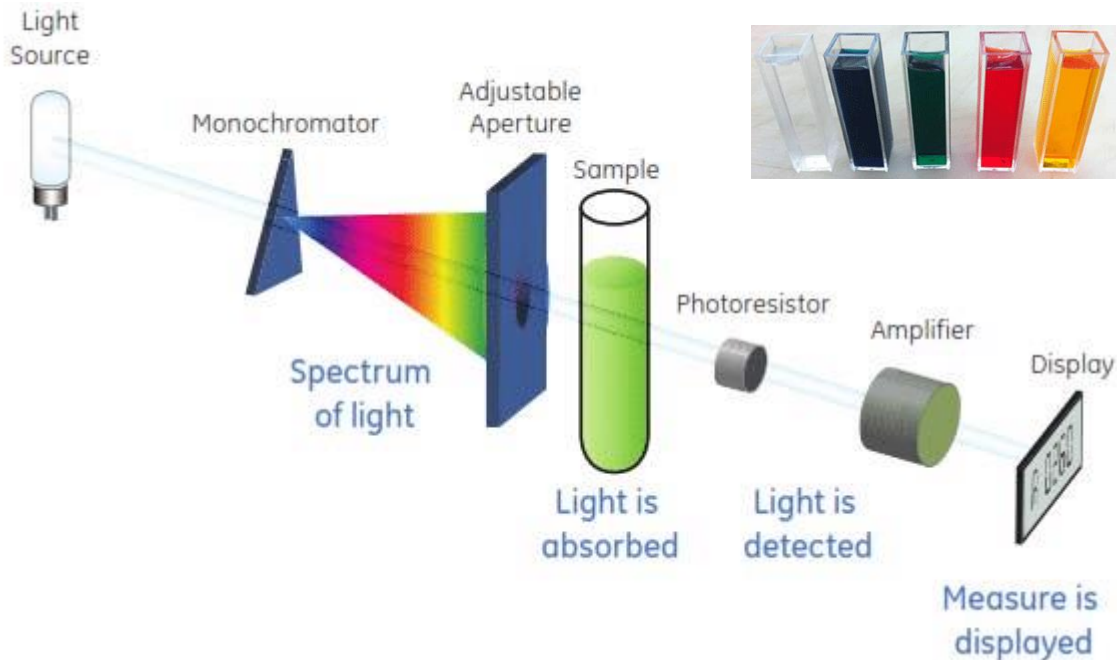
Absorbance je přímo úměrná koncentraci absorbující látky a tloušťce absorbující vrstvy.

Absorbance je aditivní veličinou; absorbují-li záření dané vlnové délky dvě a více složek, je celková absorbance součtem absorpčních složek.

- Platný pro zředěné roztoky látek do koncentrací 0,01 mol/l
- Platný pro monochromatické záření
- UV/VIS spektrum – závislost absorpce na vlnové délce záření
- Absorpce záření molekulou – molekulová spektrometrie
- Chromofor – seskupení atomů v molekule způsobující absorpci záření v oblasti 200-800 nm



# UV/VIS instrumentace

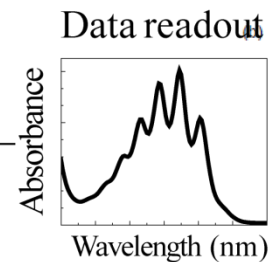
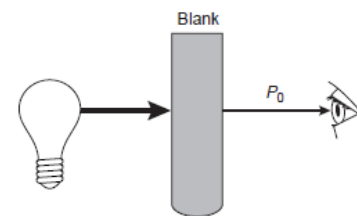
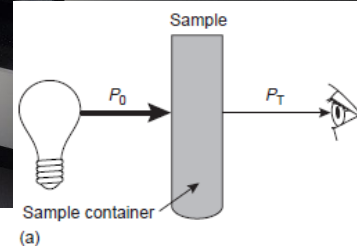
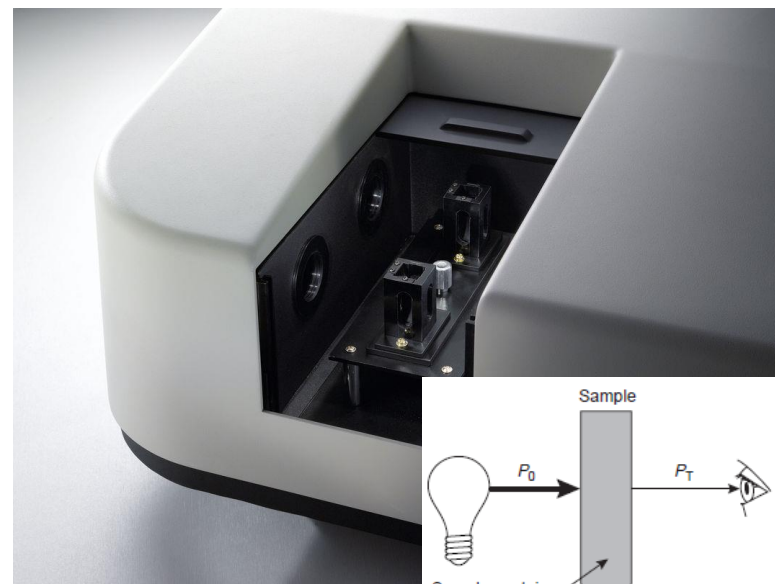
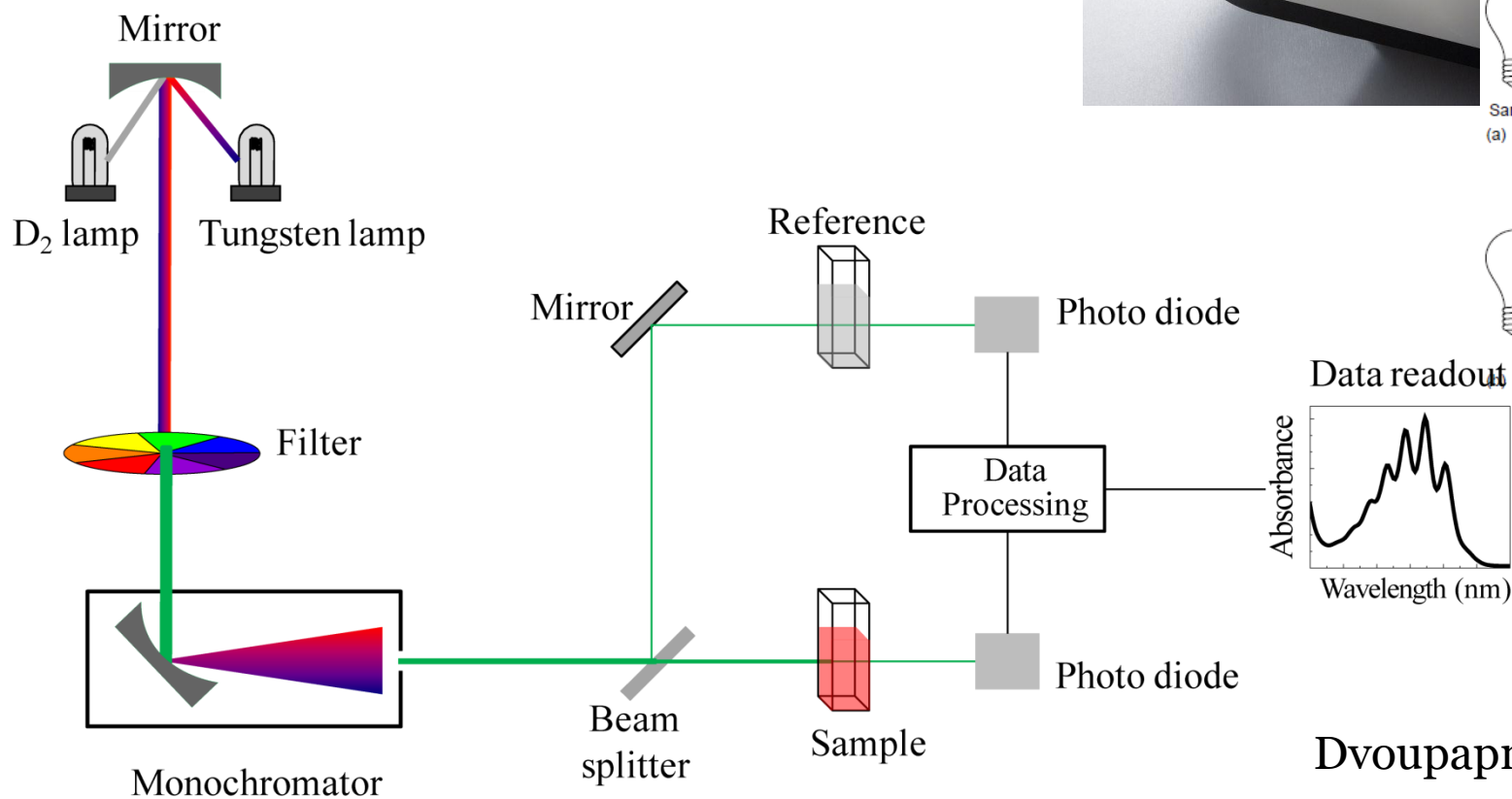


Jednopaprskový systém

- Zdroj UV záření – deuteriová lampa
- Monochromátor – hranol, mřížka
- Kyveta – skleněná pro VIS, křemenná pro UV (použití organických rozpouštědel pro UV spektrometrii)
- Detektor – fotočlánek, fotonásobič
- Citlivá, jednoduchá a relativně levná metoda; stanovení čistoty látek

# UV/VIS instrumentace

- Porovnání absorpčního spektra látky se spektry standardů
- Kvantitativní stanovení anorganických i organických látek přesnými postupy



Dvoupaprskový systém

# UV/VIS

## Použití

- Stanovení vitamínů, alkaloidů, antibiotik, léčiv
- Klinicko-biochemické analýzy (krev, moč)
- Sledování stability léčiv, chemických sloučenin ...
- Stanovení jednotlivých složek v několikasložkových směsích (měření při různých vlnových délkách)
- Sledování průběhu chemických reakcí

...

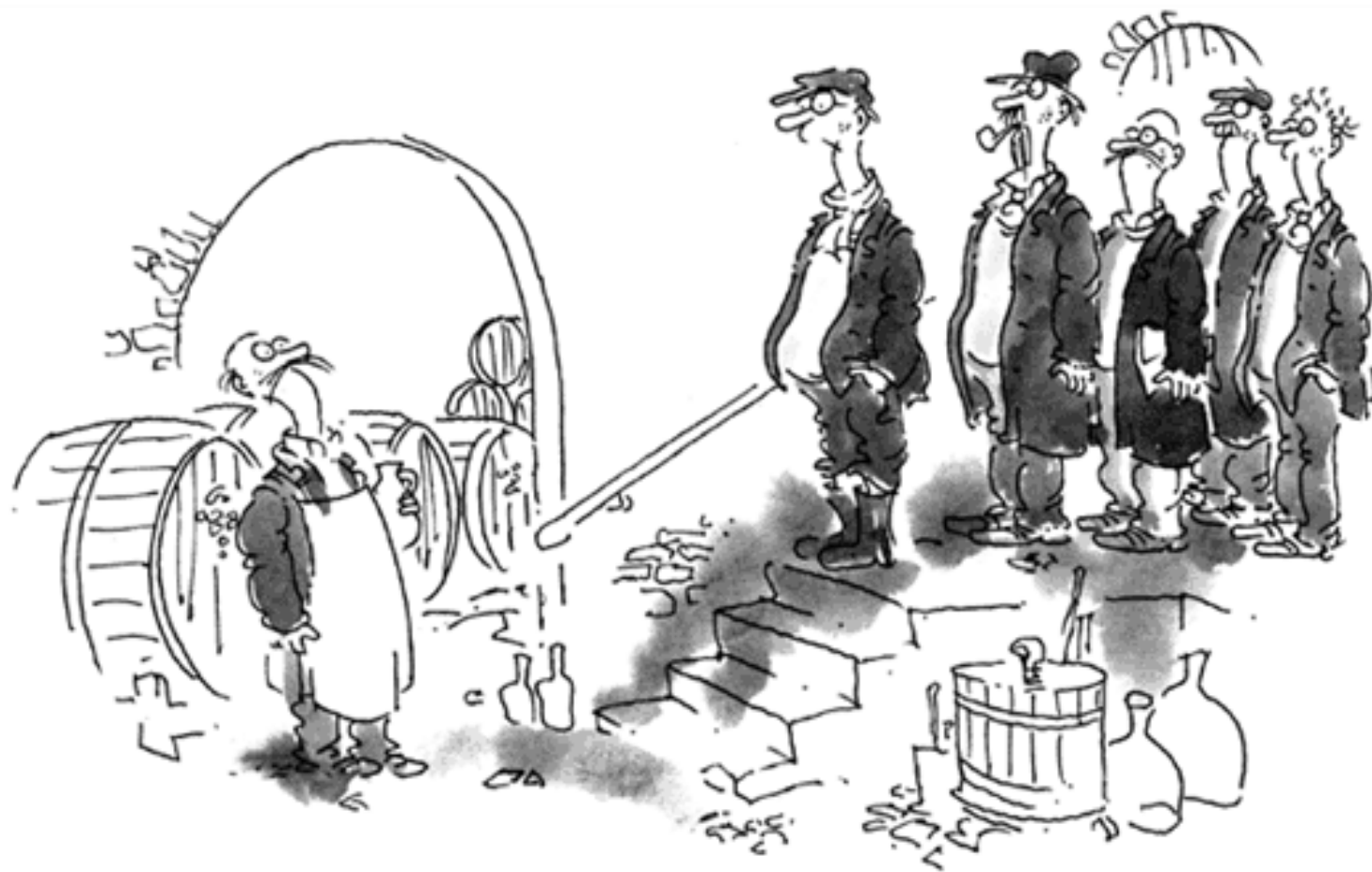
Analyte	Method	$\lambda$ (nm)
total serum protein	reaction with protein, NaOH, and $\text{Cu}^{2+}$ produces blue-violet complex	540
serum cholesterol	reaction with $\text{Fe}^{3+}$ in presence of isopropanol, acetic acid, and $\text{H}_2\text{SO}_4$ produces blue-violet complex	540
uric acid	reaction with phosphotungstic acid produces tungsten blue	710
serum barbiturates	barbiturates are extracted into $\text{CHCl}_3$ , and then into 0.45 M NaOH	260
glucose	reaction with <i>o</i> -toluidine at 100 °C produces blue-green complex	630
protein-bound iodine	decompose protein to release iodide; $\text{I}^-$ determined by its catalytic effect on redox reaction between $\text{Ce}^{4+}$ and $\text{As}^{3+}$	420

Selected Examples of the Application of UV/Vis Molecular Absorption to the Analysis of Clinical Samples



## Selected Examples of the Application of UV/Vis Molecular Absorption to the Analysis of Waters and Wastewaters

Analyte	Method	$\lambda$ (nm)
<i>Trace Metals</i>		
aluminum	reaction with Eriochrome cyanide R dye at pH 6 produces red to pink complex	535
arsenic	reduce to AsH <sub>3</sub> using Zn and react with silver diethyldithiocarbamate to form red complex	535
cadmium	extraction into CHCl <sub>3</sub> containing dithizone from sample made basic with NaOH; pink to red complex	518
chromium	oxidize to Cr(VI) and react with diphenylcarbazide in acidic solution to give red-violet product	540
copper	react with neocuprine in neutral to slightly acid solution; extract into CHCl <sub>3</sub> /CH <sub>3</sub> OH to give yellow solution	457
iron	react with <i>o</i> -phenanthroline in acidic solution to form orange-red complex	510
lead	extraction into CHCl <sub>3</sub> containing dithizone from sample made basic with ammoniacal buffer; cherry red complex	510
manganese	oxidize to MnO <sub>4</sub> <sup>-</sup> with persulfate	525
mercury	extraction into CHCl <sub>3</sub> containing dithizone from acidic sample; orange complex	492
zinc	reaction with zincon at pH 9 to form blue complex	620
<i>Inorganic Nonmetals</i>		
ammonia	reaction with ammonia, hypochlorite, and phenol produces blue indophenol; catalyzed by manganous salt	630
cyanide	convert to CNCl by reaction with chloramine-T, followed by reaction with a pyridine-barbituric acid to form red-blue dye	578
fluoride	reaction with red Zr-SPADNS lake results in formation of ZrF <sub>6</sub> <sup>2-</sup> and decrease in concentration of the lake	570
chlorine (residual)	oxidation of leuco crystal violet to form product with a bluish color	592
nitrate	reduction to NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> by Cd, colored azo dye formed by reaction with sulfanilamide and <i>N</i> -(1-naphthyl)-ethylenediamine	543
phosphate	reaction with ammonium molybdate followed by reduction with stannous chloride to form molybdenum blue	690
<i>Organics</i>		
phenol	reaction with 4-aminoantipyrine and K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> to form antipyrine dye	460
surfactants	formation of blue ion pair between anionic surfactant and the cationic dye methylene blue, which is extracted into CHCl <sub>3</sub>	652



STRÝCU, SÚ TU NÁCÍ FYZICI Z PRAHY, ŽE PRÝ JEŠTĚ NEVIDĚLI ČTVRTÝ ROZMĚR,  
TOŽ JIM DEJTE CUCNŮT!