

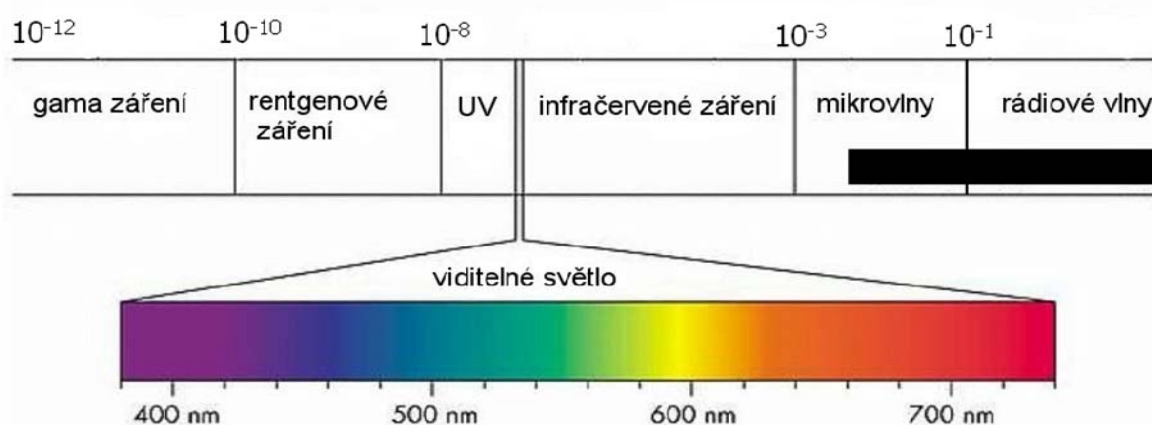
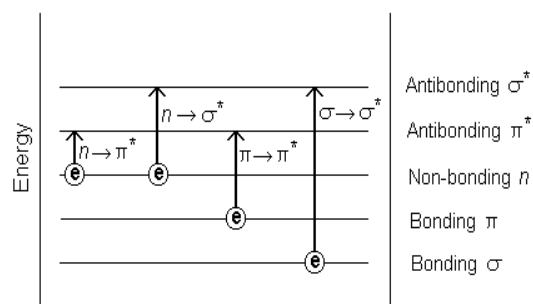
UV-VIS fotometrie

Spektrofotometrické stanovení fenazonu v Antipyridinu železitými ionty pomocí kalibrační křivky

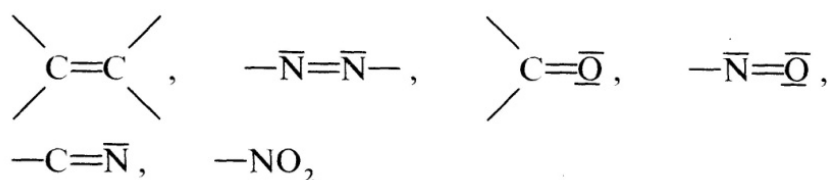
Teorie

Molekuly vzorku absorbují z dopadajícího záření fotony vhodné vlnové délky λ (tj. ty, které odpovídají jejich energetickým hladinám) a přecházejí do vyššího energetického stavu. V UV-VIS oblasti mají fotony energii dostatečnou k tomu, aby jejich absorpce způsobila přechod vnějších elektronů (200-600 kJ/mol). Skupiny, v kterých se realizuje takový elektronový přechod, se nazývají *chromofory*.

U koordinačně kovalentních sloučenin (vazba donor-akceptor) se jedná o energetické přechody v *d* a *f* orbitalech



Obr. 1 Vlnové délky elektromagnetického záření



Obr. 2 Některé chromofory

2.2.25 ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE V ULTRAFIALOVÉ A VIDITELNÉ OBLASTI

6.0:0225

Stanovení absorbance. Absorbance (A) roztoku je definována jako dekadický logaritmus převrácené hodnoty transmittance (T) pro monochromatické záření a je vyjádřena vzorcem:

$$A = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right),$$

v němž značí:

T – I/I_0 ;

I_0 – intenzitu dopadajícího monochromatického záření;

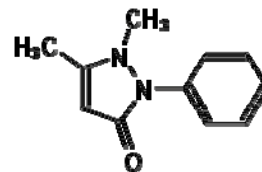
I – intenzitu prošlého monochromatického záření.

V homogenním prostředí je měřená absorbance (A) úměrná tloušťce vrstvy (b), kterou záření prochází, a koncentraci (c) látky v roztoku podle vzorce:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b,$$

Tvorba komplexu s fenazonem

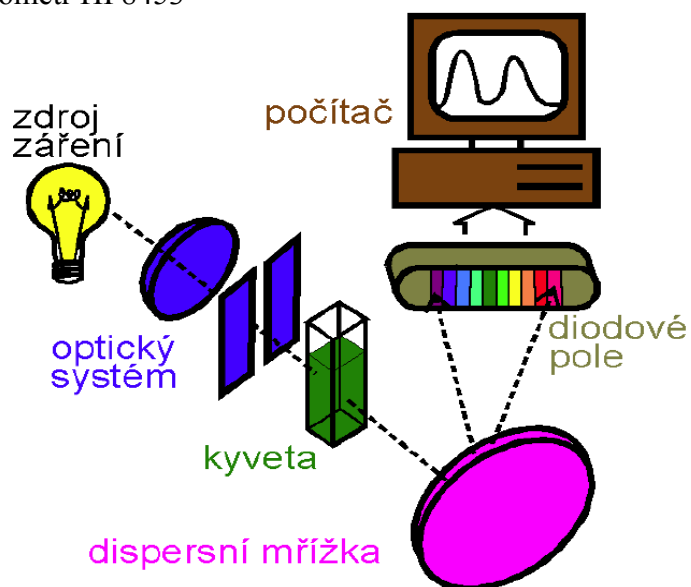
Fenazon (1,5-dimethyl-2-fenyl-2,3-dihydro-pyrrazol-3-on) tvoří se železitými ionty v kyselém prostředí oranžově červený komplex $[\text{Fe}_2(\text{fenazon})_3]^{6+}$, který poskytuje charakteristické absorpční spektrum s maximem přibližně 460 nm a který lze využít pro identifikaci a stanovení fenazonu.



Využití komplexů ke kvantitativnímu stanovení je typické pro analyty kovové ionty (M^{n+}), které vytvoří donor-akceptorovou vazbu s tzv. ligandem (L) a vznikne komplex $[\text{M-L}]$, někdy i ML_2 nebo dokonce M_2L_3 (viz stanovení Cu s Chelatonem III). Ovšem v tomto případě je analytem právě ligand a $\text{Fe}(3+)$ je činidlem.

Přístrojové vybavení

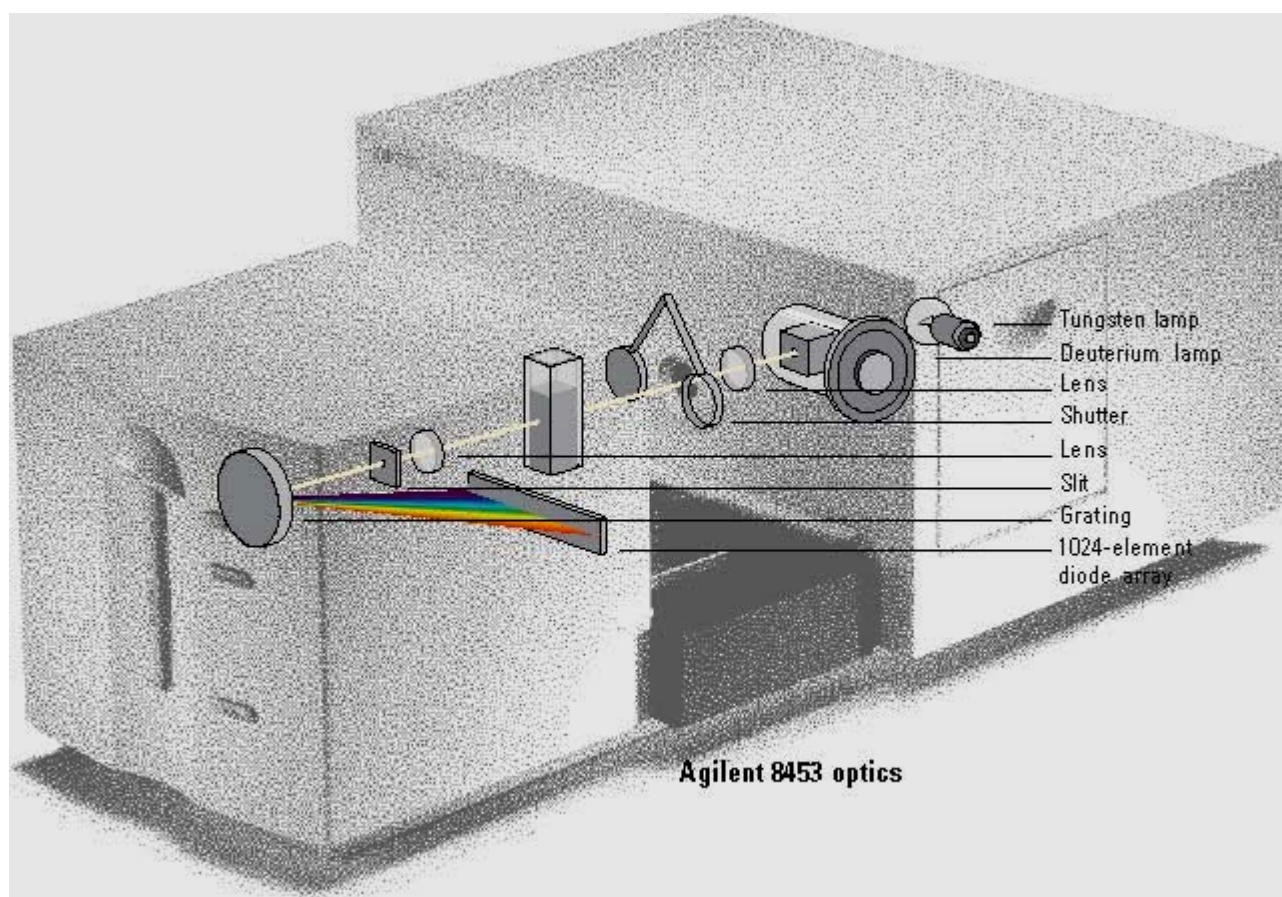
Jednopaprskový fotometr HP8453



Obr.3 Fotometr s diodovým polem HP 8453



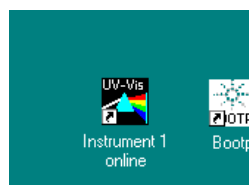
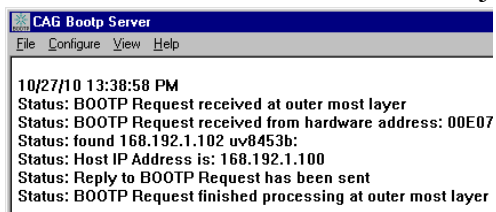
Obr. 4 Popis fotometru Hewlett Packard 8453



<http://www.p-forster.com/english/themes/Spectroscopy/BASICS/>

Obsluha přístroje

Nejprve zkontrolujeme, zda je přístroj zapojen do elektrické sítě, a zapneme fotometr - v levé spodní části spektrofotometru se nachází tlačítko. V pravém horním rohu fotometru začne blikat kontrolka. Po jejím ustálení na žluté barvě lze spustit počítač.

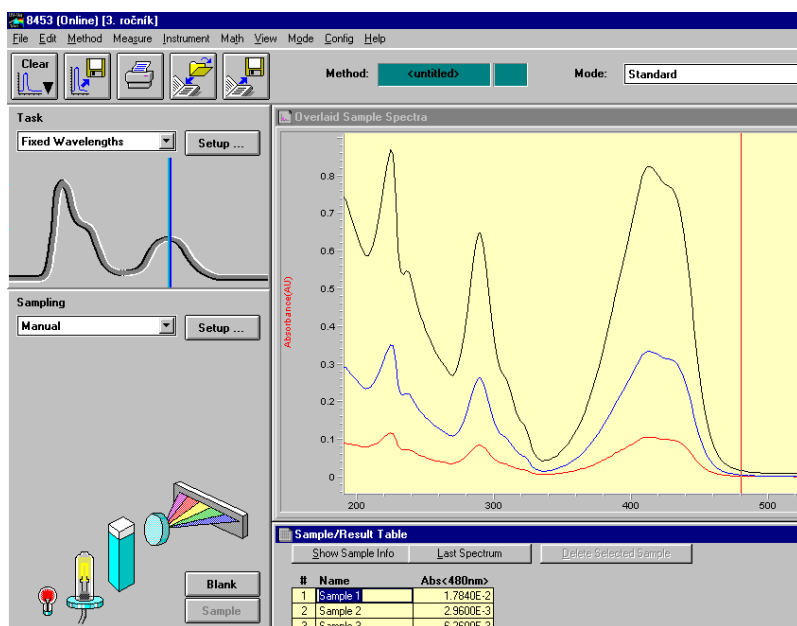


a pak teprve spustíme ovládací software Chemstation.

Jedná se o ovládání jednopaprskového přístroje, a proto každá série měření začíná změřením „blanku“ – obvykle rozpouštědla, ve kterém budu provádět následující měření analytu (Tlačítko BLANK). Pak už můžeme měřit libovolný počet vzorků (SAMPLE). Pokud nám některé naměřené spektrum nevyhovuje, po označení (klepnutím myši) jej můžeme odstranit (Delete).

Software Chemstation, modul UV-VIS

Obsluha je velmi jednoduchá a umožňuje přehledně srovnávat více spekter, odečítat hodnoty maxim i absorbancí (kliknutím pravého tlačítka myši). Zapisujeme do tabulky maximum informací o příslušném vzorku kvůli pozdější orientaci. Budeme pracovat v modu Standard. Můžeme exportovat spektrální data do excelovského sešitu a detailně je zpracovat doma na počítači.



Postup

(úloha 3, str. 15-16, ROZDÍLY od Skript: měří se na fotometrech HP8453, do 50 ml odměrky splachujeme **0,2 g** fenazonu)

Chemikálie: čištěná voda, okyselený základní roztok $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ($c = 0,0125 \text{ M}$).

Úkoly

- Příprava základního roztoku činidla
- Naředění kalibračních roztoků
- změření kalibrační závislosti A vs. $c(\text{fenazon})$ při 460 nm – udělat 3x (15 bodů)
- stanovení antipyrinu v neznámém vzorku

pozn.:

měření absorbance vždy proti slepému vzorku!

Postup:

kalibrační závislost = závislost $A = f(c_{\text{fenazon}})$

do 50-ml odměrné baňky navažte na analytických vahách **0,20 g** fenazonu a rozpust'ete ve 30 ml destil. vody. Po rozpuštění doplňte vodou po rysku a promíchejte.

Z takto připraveného základního roztoku přesně odpipetujte postupně do pěti 25ml baněk 2,00; 3,00; 5,00; 7,00 a 10,00 ml základního roztoku. Přidejte byretou 5,00 ml roztoku $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, doplňte vodou po rysku a promíchejte. Porovnávací roztok připravte doplněním 5,00 ml roztoku $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ve 25ml odměrné baňce vodou.

Změřte absorbanci všech pěti roztoků proti slepému roztoku při vlnové délce 460 nm.

Tento postup opakujte 3x (včetně nové navážky) – ověřte si tak přesnost celého postupu.

Naměřené hodnoty vyhodnoťte graficky **na milimetrový papír**.

Stanovení obsahu fenazonu v neznámém vzorku

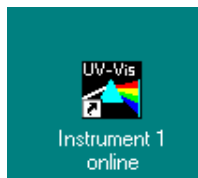
do 25ml odměrné baňky kvantitativně převed'te roztok vzorku, přidejte 5,00 ml roztoku $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, doplňte vodou po rysku a promíchejte. Změřte absorbanci připraveného roztoku proti slepému roztoku při vlnové délce 460 nm.

Po skončení všech měření přístroj vypněte, kyvety vyndejte z přístroje, omyjte a osušte.

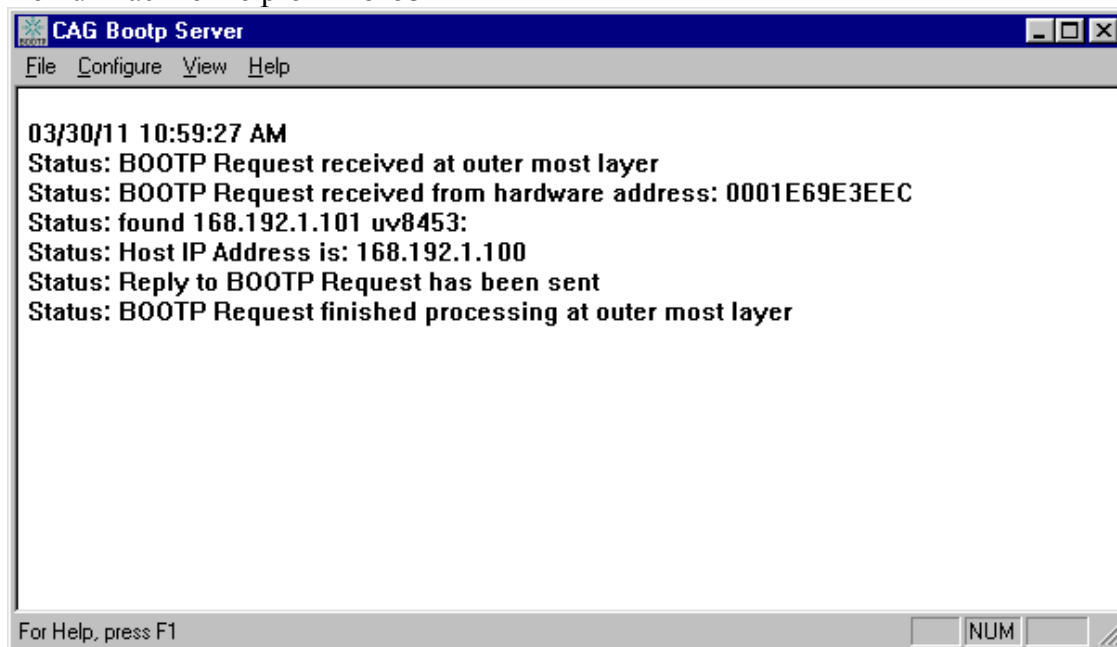
Vyhodnocení: koncentraci neznámého roztoku vzorku fenazonu stanovte odečtením z kalibrační závislosti.

Jako výsledek udávejte: mg fenazonu ve vzorku

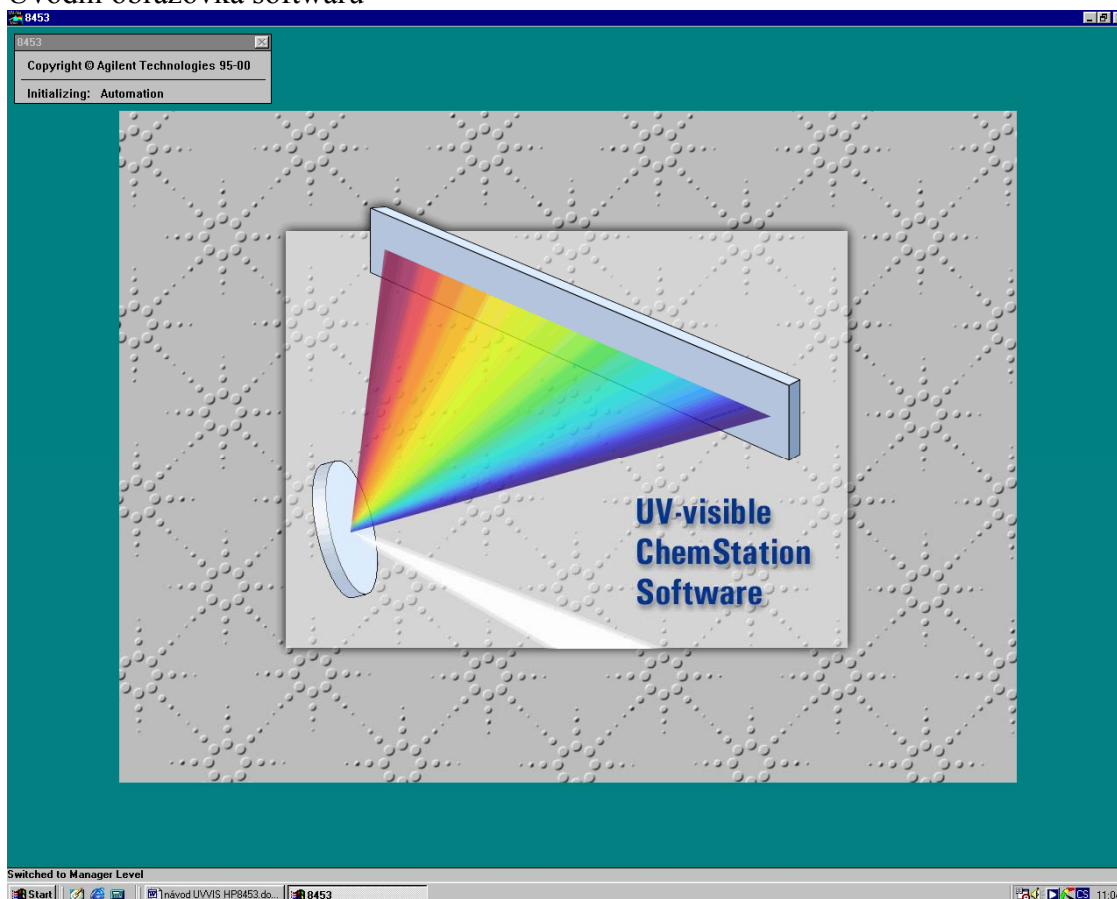
Příloha



Komunikační okno pro HP 8453



Úvodní obrazovka softwaru



Nastavení módu pro snímání spekter

The screenshot shows the HP8453 software interface. At the top, the menu bar includes File, Edit, Method, Measure, Instrument, Math, View, Mode, Config, and Help. The main window is titled "8453 (Online) [3. ročník]".

On the left side, there are several control panels:

- Task:** A dropdown menu set to "Spectrum/Peaks" with a "Setup ..." button. Below it is a small graph showing two peaks with blue arrows pointing to them.
- Sampling:** A dropdown menu set to "Manual" with a "Setup ..." button.
- Automation:** A section with a diagram of a spectrometer and buttons for "Blank" and "Sample".

The main area on the right is a large plot titled "Overlay Sample Spectra". The y-axis ranges from 0 to 0.9, and the x-axis ranges from 0 to 0.9. The plot area is currently empty and yellow.

Below the plot is a "Sample/Result Table" with buttons for "Show Sample Info", "Last Spectrum", "Delete Selected Sample", and "All Peaks/Valleys". The table has the following columns: #, Name, Peaks(nm), Abs(AU), Valleys(nm), and Abs(AU).

At the bottom of the window, the status bar reads "UV-Visible ChemStation, Rev. A.08.03 [71], ready to use". The taskbar shows the Start button, several icons, and the system tray with the time "11:04".

Načtení metody

The "Load Method ..." dialog box is shown. It has a title bar with a close button. The dialog is divided into several sections:

- File Name:** A text field containing ".m".
- Directories:** A list box showing the path "c:\hpchem\1\methods".
- List Files of Type:** A dropdown menu set to "Method(*.M)".
- Drives:** A dropdown menu set to "c: system".
- File Information:** An empty text area.

On the right side of the dialog, there are five buttons: "OK", "Cancel", "Help", and "Network...".

The file list in the "List Files of Type" section contains the following files:

- 55.m
- dpph.m
- griess.m
- gsht.m
- JČ.M
- jvdpphvy.m
- jvic50.m
- k.m

Method setup:

počet spektrálních maxim a minim k označení, rozsah měření

Spectrum/Peaks Parameters

Peak/Valley find

Find and annotate up to: 3 peaks

Find and annotate up to: 3 valleys

Prompt for sample information

Data type: Absorbance

Display spectrum: From: 200 nm To: 350 nm

OK Cancel

Výběr vlnových délek k přímému měření absorbance

Fixed Wavelength(s) Parameters

Wavelengths

Use wavelength(s): 480 nm

Background correction: none

Prompt for sample information

Data type: Absorbance

Display spectrum: From: 200 nm To: 350 nm

OK Cancel

Neshoda v použití zdrojů: pro UV oblast nutno použít Deuteriovou výbojku, pro měření nad 350 nm wolframovou žárovku (Tungsten lamp).

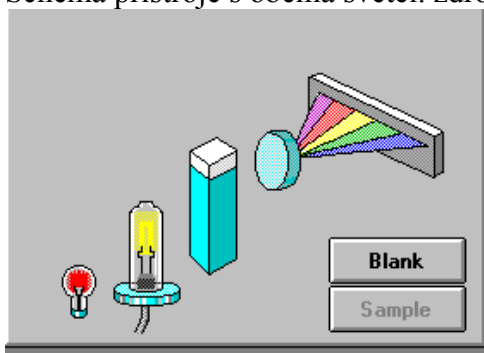
Warning

Loading this method will change current Lamp settings!

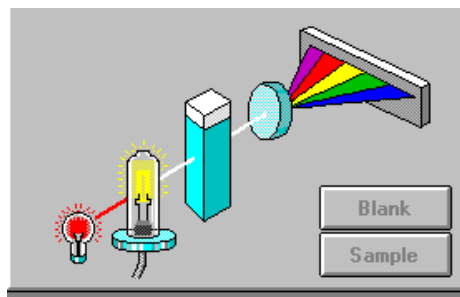
	Current	New
Deuterium Lamp	ON	ON
Tungsten Lamp	ON	OFF

Use Current Use New

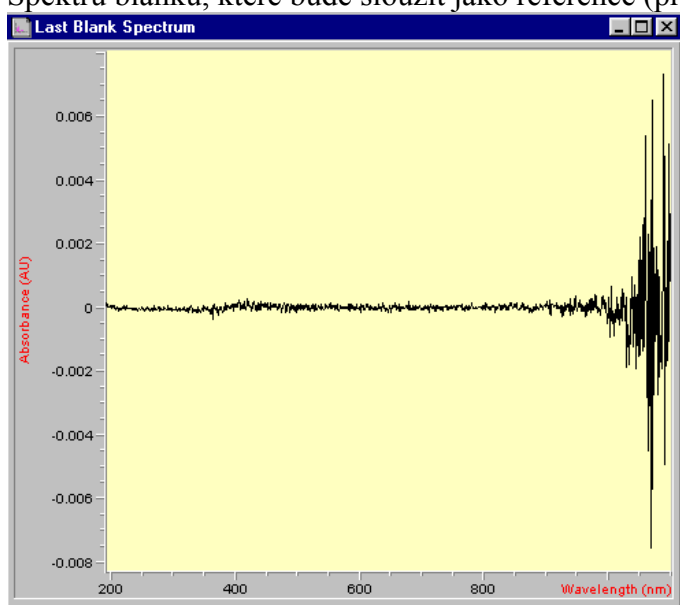
Schéma přístroje s oběma světel. zdroji zapnutými



a při měření (blanku)



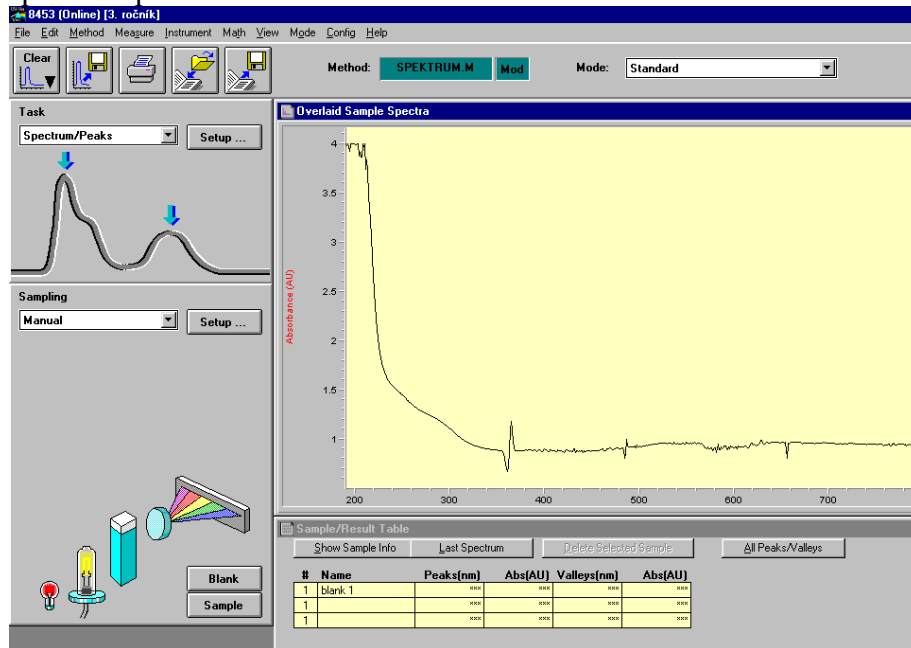
Spektru blanku, které bude sloužit jako reference (pro každou vlnovou délku)



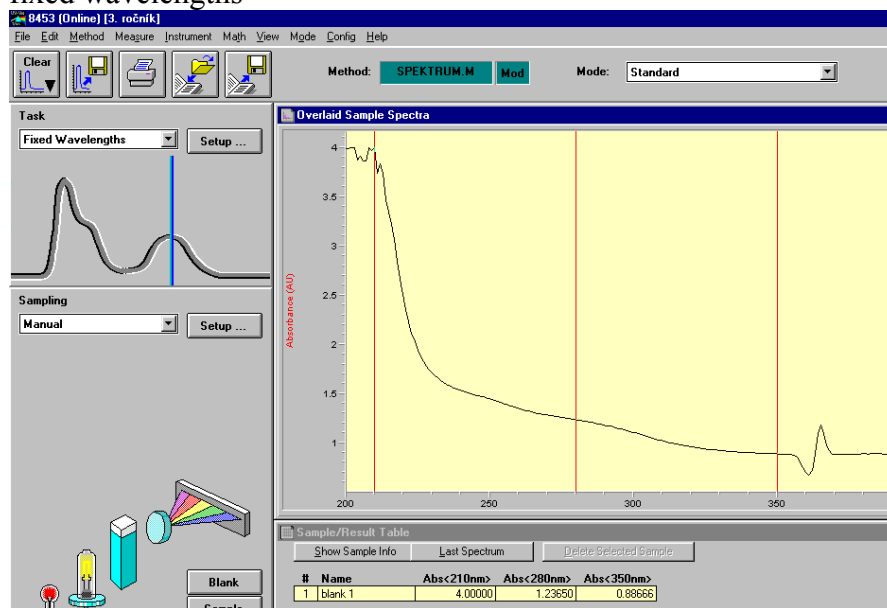
Dialog pro zadání textového popisu při měření vzorku

A dialog box titled "Sample Information". It contains three text input fields: "Name:" with the text "kalibrační roztok č.2", "Solvent:" with the text "pufr, c=0.1 M", and "Comment:" with the text "c (čínidla) = 0.002 M". At the bottom are two buttons: "OK" and "Cancel".

spectrum/peaks



fixed wavelengths



Wavelength (nm)	Absorbance (AU)	Std.Dev.
190.0	2.36130E-3	4.62532E-5
191.0	1.89161E-3	5.45671E-5
192.0	1.39761E-3	4.16790E-5
193.0	1.07241E-3	5.37453E-5
194.0	6.45638E-4	4.70742E-5
195.0	3.19004E-4	3.93268E-5
196.0	2.40326E-4	3.62765E-5
197.0	4.76937E-5	3.97216E-5
198.0	-1.19686E-4	3.52811E-5
199.0	-2.26974E-4	3.46405E-5
200.0	-3.46184E-4	3.71750E-5
201.0	-4.62095E-4	3.78665E-5
202.0	-5.17845E-4	3.55238E-5
203.0	-6.16550E-4	2.61310E-5
204.0	-6.20842E-4	2.70788E-5
205.0	-5.46459E-4	3.41230E-5
206.0	-7.24792E-4	3.60596E-5
207.0	-8.15392E-4	3.12556E-5
208.0	-7.69615E-4	4.54986E-5
209.0	-7.60078E-4	5.74663E-5
210.0	-8.36849E-4	3.50897E-5
211.0	-8.37803E-4	3.39560E-5
212.0	-9.11236E-4	4.01896E-5
213.0	-9.53674E-4	3.06607E-5
214.0	-9.19342E-4	2.32480E-5
215.0	-9.29832E-4	2.99313E-5
216.0	-8.88007E-4	4.49683E-5
217.0	-1.01662E-3	4.92645E-5

dvojklik na spektrum →

Dialog před ukončením činnosti softwaru.

