

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 absorptance A_{λ} změřené pro roztok látky o koncentraci c v kyvetě 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 absorptance na koncentraci $A = f(c)$ a absorptance 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 absorptance 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 absorptanci při této vlnové délce tedy platí:

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

Pro absorptanci 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 kyvety [cm],

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

Na základě tohoto zákona a vzhledem k výše uvedené aditivnosti absorptance můžeme absorptanci 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 kyvety o stále stejné tloušťce (nejčastěji $l = 1 \text{ cm}$), 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 $(\epsilon_A)_{\lambda_1}$ a $(\epsilon_A)_{\lambda_2}$ **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 $(\epsilon_B)_{\lambda_1}$ a $(\epsilon_B)_{\lambda_2}$ **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

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

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.

V oblastech absorpčních maxim doměřit ještě absorbance pro vlnové délky po 5 nm. Absorpční křivky (tj. závislosti absorbance na vlnové délce) jednotlivých komponent vynést do grafu.

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:

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

Výsledky zaznamenat do tabulky sestavené pro pozdější výpočty:

V_{pip} (zás.roztoku) [ml]	$c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$ [mol · l ⁻¹]	A_{390}	A_{470}	A_{545}
0,5				
1				
1,5				
2				
2,5				

V_{pip} (zás.roztoku) [ml]	$c(\text{KMnO}_4)$ [mol · l ⁻¹]	A_{390}	A_{470}	A_{545}
1				
2				
3				
4				
5				

Pro každou vlnovou délku sestrojít kalibrační křivky KMnO_4 a $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ jako závislosti $A = f(c)$.

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 H_2SO_4 a 1 M H_3PO_4 , doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

	V_{pip} [ml] ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)	$c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ [mol/l] (dáno)	A_{390}	A_{470}	A_{545}	V_{pip} [ml] (KMnO_4)	A_{545}	A_{545}	A_{545}	c_{KMnO_4} [mol/l] (dáno)
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.

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.

Výpočet m(Mn,Cr) v modelových vzorcích (v mg)

DÁNO:

M.H. $KMnO_4$ 158,045 g/mol
0.0100 roztok 1,58045 mg/ml

vzorek č.	pipetováno	
	ml	mg
1	1,50	2,370675
2	2,00	3,1609
3	0,50	0,790225

M.H. $K_2Cr_2O_7$ 294,19 g/mol
0.0100M roztok 2,9419 mg/ml

vzorek č.	pipetováno	
	ml	mg
1	2,50	7,35475
2	1,00	2,9419
3	4,00	11,7676

KALIBRAČNÍ KŘIVKA MANGANISTAN

$c(KMnO_4)$

0,01

tj. v 1 ml je 0,01 mmol

t.j. v 1 ml je 1.58045 mg KMnO₄

ml do 50 ml	mmol v 50 ml	c(KMnO ₄) mol/l	A 390	ε 390	A 470	ε 470	A 545	ε 545
0,50	0,005	0,0001	0,021	210,0	0,043	430,0	0,124	1240,0
1,00	0,010	0,0002	0,031	155,0	0,077	385,0	0,237	1185,0
1,50	0,015	0,0003	0,041	136,7	0,113	376,7	0,386	1286,7
2,00	0,020	0,0004	0,047	117,5	0,143	357,5	0,548	1370,0
2,50	0,025	0,0005	0,072	144,0	0,213	426,0	0,944	1888,0
průměrná hodnota stand. odchylka %			152,6 23%		395,0 8%		1393,9 20%	

KALIBRAČNÍ KŘIVKA DVOJCHROMAN

c(K₂Cr₂O₇)

0,01

t.j. v 1 ml je 0,01 mmol

t.j. v 1 ml je 2,9419 mg K₂Cr₂O₇

ml v 50 ml	mmol v 50 ml	c(K ₂ Cr ₂ O ₇) mol/l	A 390	ε 390	A 470	ε 470	A 545	ε 545
1,00	0,010	0,0002	0,075	375,0	0,042	210,0	0,004	20,0
2,00	0,020	0,0004	0,142	355,0	0,077	192,5	0,001	2,5
3,00	0,030	0,0006	0,232	386,7	0,118	196,7	0,001	1,7
4,00	0,040	0,0008	0,328	410,0	0,148	185,0	0,011	13,8
5,00	0,050	0,001	0,447	447,0	0,181	181,0	0,003	3,0
průměrná hodnota stand. odchylka %			394,7 9%		193,0 6%		8,2 101%	

Naměřené absorbance

	A(390)	A(470)	A(545)
1.vzorek	0,227	0,192	0,395
2.vzorek	0,122	0,173	0,556
3.vzorek	0,346	0,177	0,128
4.vzorek - x	0,097	0,108	0,244

5.7.2 Vyhodnocení vícesložkové analýzy

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

1. Naměřená absorpční spektra pro manganistan a dichroman se zdůvodněním vybraných vlnových délek.
2. Kalibrační závislosti a vyplněné tabulky pro manganistan a dichroman při 390, 470 a 545 nm, popř. jiných vybraných vlnových délkách.
3. Tabulku výsledků analýz modelových vzorků s údaji:

Výsledek analýz modelových vzorků

VÝSLEDEK v mg	KMnO ₄			K ₂ Cr ₂ O ₇				
	158,045	294,19		158,045	294,19			
	dano mg	stanoveno mg	rel.ch. %	dano mg	stanoveno při 400nm. mg	rel. ch. %	stanoveno při 470 nm mg	rel. ch. %
1.vzorek	2,3707	2,2393	-6%	7,3548	6,8473	-7%	6,1007	-17%
2. vzorek	3,1609	3,1520	0%	2,9419	2,2776	-23%	1,1760	-60%
3. vzorek	0,7902	0,7256	-8%	11,7676	12,3712	5%	10,7235	-9%

VÝSLEDEK přepočet na ml	KMnO ₄			K ₂ Cr ₂ O ₇				
	158,045	294,191		158,045	294,191			
	dano ml	stanoveno ml	rel.ch. %	dano ml	stanoveno při 400nm. ml	rel. ch. %	stanoveno při 470 nm ml	rel. ch. %
1.vzorek	1,50	1,416854	-6%	2,50	2,3275	-7%	2,0737	-17%
2. vzorek	2,00	1,9943565	0%	1,00	0,7742	-23%	0,3997	-60%
3. vzorek	0,50	0,4591324	-8%	4,00	4,2052	5%	3,6451	-9%

Z tabulky výsledků analýz modelových vzorků 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:

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						
N.vzorek		x			x	

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

4. Početně stanovit množství KMnO₄ a K₂Cr₂O₇ v modelových vzorcích a neznámém vzorku pomocí vztahů v odstavci 5.6.
5. Zdůvodnit příčiny možného chybného stanovení obsahu KMnO₄ a K₂Cr₂O₇ v neznámém vzorku.