

6. SPEKTROFOTOMETRIE

Metoda A

1) Časová závislost A

- Měření A = f(t) při 510 nm; 25 ml odměrná baňka
- 5 ml standardního roztoku A + 3 ml CH₃COONa (na pH 3,5) + 1 ml 10% hydroxylamin hydrochloridu + 1 ml 0,5 % 1,10-fenanthrolinu, doplnit po značku

t (min)	A	t (min)	A
0	0,271	30	0,343
5	0,283	35	0,346
10	0,301	40	0,351
15	0,322	45	0,355
20	0,331	50	0,358
25	0,338	55	0,359

2) Výběr spektra A (v rozsahu 350 – 600 nm po 10 m)

- 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda; graf A = f(λ) → odečíst max. vlnovou délku

λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A
350	0,148	470	0,391	590	0,027
360	0,084	480	0,410	600	0,019
370	0,059	490	0,416		
380	0,075	500	0,428		
390	0,110	510	0,445		
400	0,155	520	0,423		
410	0,202	530	0,344		
420	0,244	540	0,232		
430	0,278	550	0,143		
440	0,307	560	0,086		
450	0,328	570	0,054		
460	0,356	580	0,039		

3) Kalibrační křivka A

- A = f(C), 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda
- 1 – 10 ml ml standardního roztoku A + 3 ml CH₃COONa (na pH 3,5) + 1 ml 10 % hydroxylamin hydrochloridu + 1 ml 0,5 % 1,10-fenanthrolinu, doplnit po značku

č.	V [ml]	m [mg]	n [mmol]	C _{Fe} [mol/l]	A	ε	teor.abs. A ^t .
λ = 510nm		1 ml = 10 ug	n = m/M			ε = A/C _{Fe}	A ^t = ε [*] · C
1	1				0,081		
2	2				0,160		
3	3				0,242		
4	4				0,323		
5	5				0,397		
6	6				0,484		
7	7				0,551		
8	8				0,627		
9	9				0,719		
10	10				0,784		

ε* =

4) Neznámý vzorek A

- 100 ml odměrná baňka → vzorek doplnit na 100 ml, odsud pipetovat 10 ml do tří 25 ml odměrných baněk
- přidat 3 ml CH₃COONa (na pH 3,5) + 1 ml 10 % hydroxylamin hydrochloridu + 1 ml 0,5 % 1,10-fenanthrolinu, doplnit po rysku

č.	A
1	0,200
2	0,198
3	0,199

Metoda B

1) Časová závislost B

- Měření A = f(t) při 420 nm; 50 ml odměrná baňka
- **2 ml** standardního roztoku **B** + 5 ml 10 % kyseliny sulfosalicylové + 10 ml 10 % amoniaku, doplnit po rysku

t (min)	A	t (min)	A	t (min)	A
0	0,202	20	0,207	40	0,208
5	0,203	25	0,207	45	0,208
10	0,205	30	0,208	50	0,208
15	0,206	35	0,208	55	0,208

2) Výběr spektra B (v rozsahu 370 – 560 nm po 10 nm)

- 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda

λ (nm)	A	λ (nm)	A
370	0,241	490	0,159
380	0,265	500	0,119
390	0,314	510	0,088
400	0,362	520	0,062
410	0,399	530	0,043
420	0,418	540	0,031
430	0,416	550	0,025
440	0,394	560	0,015
450	0,357		
460	0,308		
470	0,258		
480	0,206		

3) Kalibrační křivka B

- A = f(c), 1 cm kyveta, BLANK = destilovaná voda
- **0,5 - 3 ml ml** standardního roztoku **B** + 5 ml 10 % kyseliny sulfosalicylové + 10 ml 10 % amoniaku, doplnit po rysku

č.	V [ml]	m [mg]	n [mmol]	c _{Fe} [mol/l]	A	ε	teor.abs. A ^t
λ = 420nm		1 ml = 100 ug	n = m/M			ε = A/c _{Fe}	A ^t = ε* . c
1	0,5				0,081		
2	1				0,160		
3	1,5				0,242		
4	2				0,323		
5	2,5				0,397		
6	3				0,484		

ε* =

4) **Neznámý vzorek B**

- 50 ml odměrná baňka
- Ke vzorku v odm. baňce přidat 5 ml 10 % kyseliny sulfosalicylové, 10 ml 10 % amoniaku, doplnit po rysku

č.	A
1	0,532