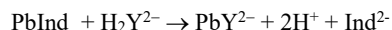


## 9. FOTOMETRICKÁ TITRACE

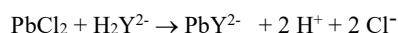
### 9.1. Standardizace 0,01M roztoku chelatonu III na navážku PbCl<sub>2</sub>

Roztok PbCl<sub>2</sub> se titruje odměrným roztokem (Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>Y) na indikátor xylenolovou oranž.

Chelát xylenolové oranže s Pb<sup>2+</sup> (PbInd) je **tmavě červenofialový**, absorpční křivka má maximum při vlnové délce 580 nm, zbarvení **volného indikátoru** (Ind<sup>2-</sup>) je za podmínek titrace jasně **citronově žluté** s maximem absorbance při vlnové délce 430 nm. Titrace probíhá při pH = 5 - 6 (tlumivý roztok urotropinu).



$$\lambda = 580\text{nm}$$



$$M(\text{PbCl}_2) = 278,10 \text{ g/mol}$$

#### 9.1.1. Příprava roztoku standardu

Na analytických vahách odvážit s přesností na jednu desetinu mg přibližně 70 mg chloridu olovnatého. Navážku kvantitativně převést do kádinky o objemu 100 ml, doplnit destilovanou vodou asi na 50 ml a okyselit 2–3 kapkami 2 M HNO<sub>3</sub>. Takto připravený roztok zahřát (nevařit!), po rozpuštění PbCl<sub>2</sub> kvantitativně převést do odměrné baňky o objemu 200 ml a doplnit destilovanou vodou po rysku.

#### 9.1.2. Výpočet předpokládané teoretické spotřeby:

$$V_{ekv} = \frac{m}{M} \times \frac{1}{20} \times \frac{1}{c}$$

kde:  $m$  je hmotnost navážky PbCl<sub>2</sub> v mg,

$M$  je molární hmotnost PbCl<sub>2</sub>,

$c$  je koncentrace Chelatonu III (0,01 mol.l<sup>-1</sup>).

Číslo 20 ve zlomku představuje faktor zředění, protože budeme titrovat vždy 10 ml připraveného roztoku standardu, tj. 1/20 z 200 ml.

#### 9.1.3. Orientační titrace s vizuální indikací

Účelem této titrace je seznámení s obsluhou mikrobyrety a určení oblasti, kde dochází k barevnému přechodu.

Návod k obsluze mikrobyrety PK2500 je uveden v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení. Pokud není k dispozici mikrobyreta, může být nahrazena mikropipetou.

#### Příprava roztoku k orientační titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml roztoku standardu, 10 ml destilované vody, špachtlí přidat malé množství směsi xylenolové oranže s KNO<sub>3</sub> tak, aby roztok byl zřetelně slabě fialový. Kyvetu s roztokem promíchat mírnými otáčkami na magnetické míchačce, poté přidat 3 kapky 10% roztoku urotropinu (tlumivý roztok). K míchačce přistavit stojan s naplněnou mikrobyretou.

#### Titrace

Mikrobyretu o obsahu 2,5 ml naplnit odměrným roztokem Chelatonu III podle odstavce pro práci s mikrobyretou PK2500 v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení. Z mikrobyrety přidávat odměrný roztok po 0,1 ml a za stálého míchání vizuálně pozorovat roztok až do přechodu barvy z fialové do čistě žluté. Nadávkovaný objem odečíst na stupnici mikrobyrety.

#### 9.1.4. Fotometrická titrace

#### Příprava roztoku k fotometrické titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml roztoku standardu, 10 ml destilované vody, špachtlí přidat malé množství směsi xylenolové oranže s KNO<sub>3</sub> tak, aby roztok byl

zřetelně slabě fialový. Kyvetu s roztokem promíchat mírnými otáčkami na magnetické míchače, poté přidat 3 kapky 10% roztoku urotropinu (tlumivý roztok).

Po přidání správné množství indikátoru je absorbance roztoku před započítáním titrace při  $\lambda = 580 \text{ nm}$  v rozmezí 0,6 až 0,9 (roztok je zřetelně světle fialový s přechodem do žlutého zbarvení).

### Titrace

Při vlastní titraci je třeba přidávat odměrný roztok nejprve po 0,2 ml a zaznamenávat absorbanci. Po přiblížení k předpokládanému bodu ekvivalence na  $\pm 0,1 \text{ ml}$ , je třeba snížit objem přidávaného činidla dle potřeby až na 0,005 ml (nejmenší objem, který lze dávkovat mikrobyretou), příp. 0,01 ml (nejmenší objem, který lze dávkovat mikropipetou 10 – 100  $\mu\text{l}$ ).

Titraci opakovat třikrát.

### 9.1.5 Zpracování výsledků

Pro každou titraci sestavit grafickou závislost absorbance titrovaného roztoku na objemu přidávaného činidla, kde :

- na vodorovnou osu vynést objem přidávaného odměrného činidla v ml
- na svislou osu odpovídající hodnoty absorbance titrovaného roztoku

Graficky zjistit spotřebu odměrného činidla v bodě ekvivalence proložením jedné přímkou několika body těsně před koncovým zlomem křivky a druhé přímkou několika body za koncovým zlomem křivky. Z průsečíku těchto přímek spustit kolmici k vodorovné ose a odečíst spotřebu odměrného činidla.

Při zjišťování bodu ekvivalence se vychází z principu, že od okamžiku dosažení ekvivalence se zbarvení roztoku nemění, proto je třeba zjistit okamžik vymizení barvy indikátorového komplexu.

### Výpočet přesné koncentrace (titru) odměrného činidla

Pro každou hodnotu graficky získaného objemu titračního činidla v bodě ekvivalence spočítat přesnou koncentraci odměrného činidla v  $\text{mol.l}^{-1}$  :

$$c_{H_2Y} = \frac{m_{PbCl_2}}{M_{PbCl_2}} \cdot \frac{1}{20} \cdot \frac{1}{V_{ekv}}$$

kde:  $m_{PbCl_2}$  je navážka  $PbCl_2$  v mg,

$V_{ekv}$  objem odměrného činidla v bodě ekvivalence v ml,

$M_{PbCl_2}$  je molární hmotnost  $PbCl_2$  v  $\text{g.mol}^{-1}$  ( $M = 278,10 \text{ g.mol}^{-1}$ )

### Statistické zpracování výsledků

Ze získaných hodnot sestavit do protokolu následující tabulku:

$\lambda = 580 \text{ nm}$			
poř. číslo titrace	1	2	3
$V_{ekv} [\text{ml}]$			
$c_{\text{ChelIII}} [\text{mol.l}^{-1}]$			
průměr $c_{\text{ChelIII}} [\text{mol.l}^{-1}]$			
$s(c_{\text{ChelIII}}) [\text{mol.l}^{-1}]$			
rel.směr.odchylka $c_{\text{ChelIII}}$			

Výpočet směrodatné odchylky  $s$  provést podle Deana a Dixona z rozpětí (viz text na konci úlohy). Pro další výpočty používat přesnou koncentraci se čtyřmi platnými ciframi.

## 9.2 Titračně fotometrické chelatometrické stanovení kationtu $\text{Cu}^{2+}$ v neznámém vzorku

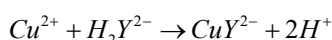
### 9.2.1 Fotometrická titrace neznámého vzorku obsahujícího $\text{Cu}^{2+}$

Reakce probíhá při mírně zásaditém pH nepřekračujícím hodnotu 8. Tohoto pH lze dosáhnout přidávkem amoniakálního tlumiče.

Měď tvoří s murexidem chelát žluté barvy ( $\text{CuInd}$ ). Při titraci roztokem Chelatonu III se nejprve na Chelaton III vážou volné ionty  $\text{Cu}^{2+}$ , chelát  $\text{CuY}^{2-}$  je modrý. V okolí bodu ekvivalence dojde k barevné změně způsobené reakcí



Volný indikátor má při daném pH modrofialovou barvu.



$$1 \text{ mol Na}_2\text{H}_2\text{Y} \approx 1 \text{ mol Cu}^{2+}$$

$$M(\text{Cu}) = 63,546 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

#### Příprava vzorku

Neznámý vzorek ve 100 ml odměrné baňce doplnit po značku destilovanou vodou a dobře promíchat.

#### Orientační titrace s vizuálním pozorováním barevné změny

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml destilované vody, špachtlí přidat indikátor murexid, promíchat na magnetické míchačce (roztok se zbarví do středně syté oranžové barvy) a poté přidat 10 ml roztoku vzorku s neznámým obsahem mědi. Připravený roztok by měl být zbarven žlutozeleně až žlutooranžově.

K míchačce přistavit stojan s mikrobyretou naplněnou roztokem odměrného činidla. Z mikrobyrety přidávat odměrný roztok po 0,1 ml a pozorovat za stálého míchání zbarvení roztoku. Těsně před předpokládaným bodem ekvivalence přidat 1 kapku amoniakálního tlumiče a titrovat až do přechodu do čistě fialového zbarvení. Nadávkovaný objem odečíst na stupnici mikrobyrety.

#### Nastavení fotometru

Před každou titrací je potřeba provést pro určenou vlnovou délku **nastavení fotometru** při vložené srovnávací kyvetě s destilovanou vodou.

#### Příprava roztoku k fotometrické titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetovat 10 ml destilované vody, špachtlí přidat indikátor murexid, promíchat na magnetické míchačce a poté přidat 10 ml roztoku vzorku s neznámým obsahem mědi. Připravený roztok bude žlutozelený až žlutooranžový. Po přidání správné množství indikátoru je absorbance roztoku před započítáním titrace při  $\lambda = 460 \text{ nm}$  v rozmezí 0,4 až 0,6.

#### Titrace

Při vlastní titraci je třeba přidávat z mikrobyrety odměrný roztok nejprve po 0,1 ml a zaznamenávat absorbanci. Po přiblížení k předpokládanému bodu ekvivalence na  $\pm 0,1 \text{ ml}$ , je třeba snížit objem přidávaného činidla dle potřeby až na 0,005 ml, současně je třeba těsně před předpokládaným bodem ekvivalence přidat 1 kapku amoniakálního tlumiče a poté titrovat až do přechodu do čistě fialového zbarvení. Nadávkovaný objem odečíst na stupnici mikrobyrety.

Titraci opakovat třikrát.

### 9.2.2 Zpracování výsledků

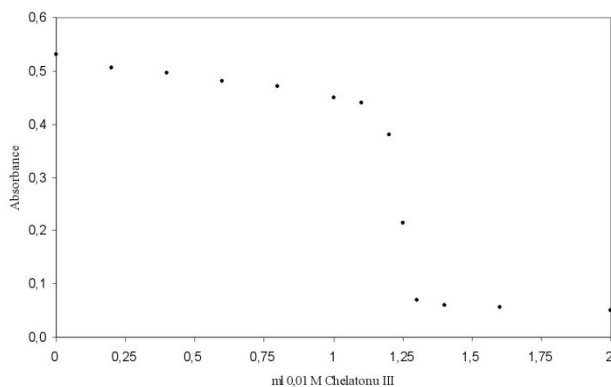
Pro každou titraci sestavit grafickou závislost absorbance titrovaného roztoku na objemu přidávaného činidla, kde :

- na vodorovnou osu vynést objem přidávaného odměrného činidla v ml
- na svislou osu odpovídající hodnoty absorbance titrovaného roztoku

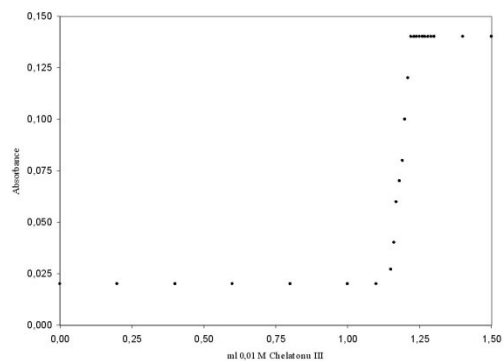
Graficky zjistit spotřebu odměrného činidla v bodě ekvivalence proložením jedné přímky několika body těsně před koncovým zlomem křivky a druhé přímky několika body za koncovým zlomem křivky. Z průsečíku těchto přímek spustit kolmici k vodorovné ose a odečíst spotřebu odměrného činidla.

Při zjišťování bodu ekvivalence se vychází z principu, že od okamžiku dosažení ekvivalence se zbarvení roztoku nemění, měří se buď konstantní zbarvení volné formy indikátoru nebo vymizení barvy indikátorového komplexu.

Příklady titračních křivek při fotometrickém stanovení  $\text{Cu}^{2+}$  jsou na obr. 9.1 a 9.2.



Obr. 9.1: Fotometrická titrace  $\text{Cu}^{2+}$  na murexid při 460 nm



Obr. 9.2: Fotometrická titrace  $\text{Cu}^{2+}$  na murexid při 550 nm

### Výpočet hmotnosti mědi v neznámém vzorku

Dosažením do vzorce vypočítat hmotnost mědi ve vzorku:

$$m_{\text{Cu}} = V_{\text{ekv}} \cdot c_{\text{H}_2\text{Y}} \cdot \frac{V_0}{V_{\text{pip}}} \cdot M_{\text{Cu}}$$

kde:  $V_{\text{ekv}}$  je průměrná spotřeba odměrného činidla (ml),  
 $c_{\text{H}_2\text{Y}}$  je přesná koncentrace 0,01 M odměrného roztoku Chelatonu III,  
 $M_{\text{Cu}}$  je molární hmotnost mědi (63,546 g.mol<sup>-1</sup>),  
 $V_0$  je objem odměrné baňky s neznámým vzorkem,  
 $V_{\text{pip}}$  je objem roztoku pipetovaného do kyvety (10 ml).

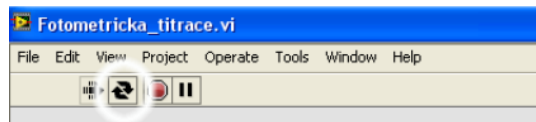
### Statistické zpracování výsledků

Zvlášť pro každou vlnovou délku zpracovat výsledky do následující tabulky do protokolu. Výpočet směrodatné odchylky s provést podle Deana a Dixona z rozpětí.

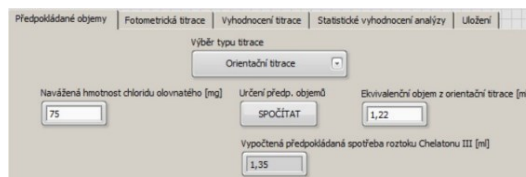
$\lambda = 460 \text{ nm}$			
poř. číslo titrace	1	2	3
$V_{\text{ekv}} [\text{ml}]$			
$m_{\text{Cu}} [\mu\text{g}]$			
průměr $m_{\text{Cu}} [\mu\text{g}]$			
$s(m_{\text{Cu}}) [\mu\text{g}]$			
rel.směr.odchylka			

### 9.3. Postup měření na spektrofotometru UV-VIS 1240 mini

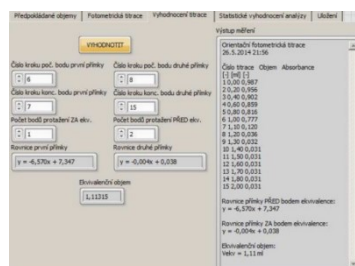
1. Na ploše PC spustit program Fotometrická titrace. Po spuštění programu je třeba ho aktivovat kliknutím na ikonku „Continuous run“.



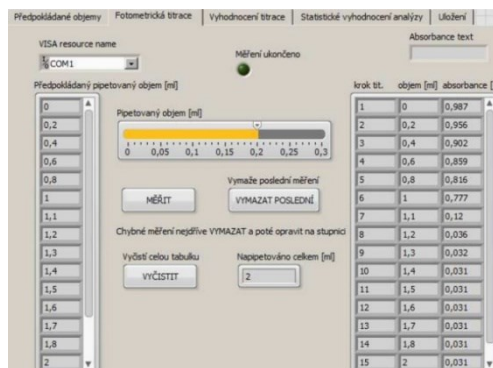
2. V záložce „**Předpokládané objemy**“ zvolte typ titrace:



- „**orientační titrace**“ - vyplnit kolonku „**Navážená hmotnost chloridu olovnatého**“ → po stlačení tlačítka „**SPOČÍTAT**“ se vypočítá předpokládaná spotřeba roztoku Chelatonu III.
  - „**přesná titrace**“ - vyplnit kolonku „**Ekvivalenční objem z orientační titrace**“ → po stlačení tlačítka „**SPOČÍTAT**“ se aktivuje tabulka s možností zadávání dávkování roztoku Chelatonu III (v tabulce v kolonce „**Fotometrická titrace**“ jsou již předdefinované doporučené objemy od 0 do 2,4 ml doplněné krokem 0,2 ml).
- Nastavení spektrofotometru:  
Na hlavním panelu spektrofotometru pomocí tlačítka „**RETURN**“ se dostaneme na úvodní obrazovku na displeji. Po stlačení tlačítka „**F4**“ (PC Ctrl) se přepne kontrola ovládání spektrofotometru na připojený PC.
  - Nastavení programu - záložka „**Fotometrická titrace**“:  
Pro správnou funkci programu je nutné zvolit správný port, přes který je připojený spektrofotometr k PC. Z rolovací nabídky „**VISA resource name**“ je třeba vybrat port COM2.  
Po zvolení správného portu se kontrolka „**Měření ukončeno**“ rozsvítí zeleně a v poli „**Absorbance text**“ se zobrazí aktuální hodnota absorbance.
  - Na posuvníku „**Pipetovaný objem**“ nastavit objem přidavku roztoku Chelatonu III. Zpočátku přidávat po 0,2 ml, v oblasti bodu ekvivalence po co nejmenších objemech.
  - Po stlačení tlačítka „**MĚŘIT**“ se do tabulky naměřených hodnot přidá nový řádek s přidáním objemem Chelatonu III a danou naměřenou absorbancí. Celkový přidávaný objem se zobrazí i v kolonce „**Napipetováno celkem**“.
  - Postup přidávání Chelatonu III pro požadovaný graf se zobrazuje v pravé části okna.



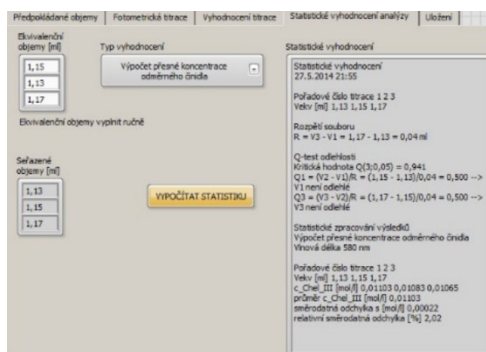
8. Po ukončení titrace otevřít záložku „**Vyhodnocení titrace**“:



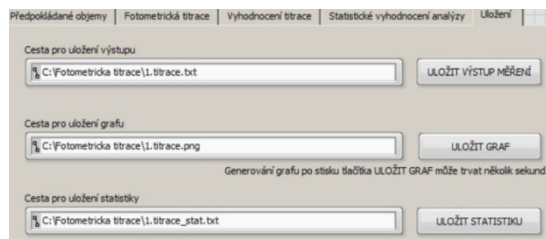
- Pro vyhodnocení titrace je nutné proložit grafem dvě přímky:
    - pro proložení přímky, která prochází strmou částí grafu před bodem ekvivalence je nutné vyplnit hodnoty v levé části záložky
    - pro proložení přímky, která prochází vodorovnou částí grafu za bodem ekvivalence je nutné vyplnit hodnoty v pravé části záložky
- Pořadová čísla jednotlivých titrací můžeme vyčíst z pole „**Výstup měření**“. Po stlačení tlačítka

„**VYHODNOTIT**“ se přímkou proloží grafem a určí se jejich průsečík, který lze vyčíst z pole „**Ekvivalenční objem**“.

10. Po provedení tří opakujících se titrací otevřít záložku „**Statistické vyhodnocení analýzy**“:



11. Po zadání 3 ekvivalenčních objemů vybrat z rolovací nabídky „**Typ vyhodnocení**“:
- „**Výpočet přesné koncentrace odměrného činidla**“ pro výpočet přesné koncentrace odměrného roztoku Chelatonu III
  - „**Výpočet množství mědi v neznámém vzorku**“ pro výpočet obsahu mědi ve vzorku.
- Výsledek statistického zpracování dat se zobrazí v poli „**Statistické vyhodnocení**“.
12. Záložka „**Uložení**“ slouží k uložení naměřených a vyhodnocených dat. Je třeba předběžně si vytvořit cestu pro jejich uložení (vytvořit si složku a zkopírovat sdresu):



#### 9.4. Statistické vyhodnocení výsledků analýzy

Pro statistické vyhodnocení výsledků analýzy použít matematicko-statistického postupu dle Dean-Dixona, který se používá pro zpracování malých souborů paralelních výsledků, jež jsou obvykle k dispozici při analýzách praktických vzorků.

- Výsledky  $m_i$  seřadit podle rostoucí velikosti.
- Vypočítat rozpětí souboru  $R = m_3 - m_1$ .
- Zjistit, zda některý z výsledků  $m_i$  není zatížen hrubou chybou, tj. zda se statisticky významně s určitou pravděpodobností neliší od ostatních paralelních výsledků stanovení. Použít Q-testu, vypočítat hodnoty  $Q_3$  a  $Q_1$  dle rovnic

$$Q_3 = \frac{m_3 - m_2}{R}, \quad Q_1 = \frac{m_2 - m_1}{R}$$

a porovnat je s kritickou hodnotou  $Q(3, \alpha)$  z tabulce statistických konstant (tab. III).

Je-li  $Q_3$  nebo  $Q_1$  větší než  $Q(3; 0,05)$ , znamená to, že příslušná hodnota je zatížena hrubou chybou a musí být ze souboru vyřazena.

4. Vypočítat průměrnou hodnotu  $m_x$  jako hodnotu nejbližší správnému výsledku

$$m_x = \frac{\sum m_i}{i}$$

Vyhodnotit variabilitu paralelních výsledků, jako míru přesnosti stanovení vypočítat směrodatnou odchylku  $s$  (jako chybu jednotlivých měření) podle Dean-Dixona z rozpětí  $R$  s pomocí tabelované konstanty  $k_i$ , která je pro daný počet paralelních stanovení  $i$  uvedena v tabulce statistických konstant (tab. 9.1)

$$s = R \cdot k_i$$

5. Přesnost měření charakterizovat také směrodatnou odchylkou průměru  $s_x$

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{i}} = \frac{R \cdot k_i}{\sqrt{i}}$$

6. Protože se směrodatná odchylka vztahuje k určitému definovanému provedení analýzy a obvykle závisí i na obsahu stanovované složky, vyjádřit přesnost ve vztahu ke stanovovanému množství jako relativní směrodatnou odchylku  $s_r$

$$s_r [\%] = \frac{s}{m_x} \cdot 100$$

7. Pokud je známa směrodatnou odchylku  $s$  a průměr  $m_x$ , lze jako výsledek analýzy definovat interval (v jednotkách výsledku), v němž  $s$  určenou pravděpodobností leží správný výsledek (jde o definici intervalu spolehlivosti)

$$m_x \pm K_i \cdot R$$

Konstantu  $K_i$  odečíst z tabulky statistických konstant (tab. 9.1) pro daný počet stanovení.

Tab. 9.1: Statistické konstanty dle Dean-Dixona (pro  $\alpha = 0,05$ )

počet měření $i$	$k_i$	$\frac{1}{\sqrt{i}}$	$K_i$	$Q$
2	0,086	0,71	6,4	
3	0,591	0,58	1,3	0,941
4	0,486	0,50	0,72	0,765
5	0,430	0,45	0,51	0,642
6	0,395	0,41	0,40	0,560
7	0,370	0,38	0,33	0,507
8	0,351	0,35	0,29	

#### 9.4. Vyhodnocení fotometrické titrace

Při vyhodnocení stanovení  $\text{Cu}^{2+}$  v neznámém vzorku v protokolu uvést:

1. Hodnoty nalezených koncentrací Chelatonu III a hmotností  $\text{Cu}^{2+}$  v neznámém vzorku zaokrouhlené na platný počet míst, vyplněné tabulky a vyhodnocené grafy.
2. Statistické vyhodnocení výsledku analýz.
3. Zdůvodnění možného chybného stanovení.