

# 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  $\lambda_{\max}$  a intenzitou pásu.

V analytické chemii se tato intenzita nejjednodušeji vyjadřuje hodnotou molárního absorpčního koeficientu  $\varepsilon_{\max}$ . Hodnota  $\varepsilon_{\max}$  se vypočítá z hodnoty absorptance  $A_{\max}$  změřené pro roztok látky o koncentraci  $c$  v květce tloušťky  $l$  cm při vlnové délce  $\lambda_{\max}$  dle **Bouguer-Lambert-Beerova zákona** ve tvaru:

$$\varepsilon_{\max} = A_{\max} \cdot (l \cdot c)^{-1}$$

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  $\lambda_{\max}$ . Intenzitu zbarvení lze vyjádřit veličinou absorptance  $A_{\lambda}$ , tj. jako logaritmus poměru světelného toku  $\Phi_{\lambda,0}$  vstupujícího do barevného prostředí k světelnému toku  $\Phi_{\lambda}$  prošlému barevným roztokem při určité vlnové délce použitého záření.

Platí:

$$\Phi_{\lambda} = \Phi_{\lambda,0} \cdot 10^{-\varepsilon l c} \rightarrow A_{\lambda} = \log \frac{\Phi_{\lambda,0}}{\Phi_{\lambda}} = \varepsilon_{\lambda} l c$$

Je-li v roztoku přítomna směs barevných látek A a B, je absorpce světelného toku určité vlnové délky  $\lambda_1$  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  $\lambda_2$  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  $\lambda_1$  a málo při vlnové délce  $\lambda_2$ . Naproti tomu roztok látky B o koncentraci  $c_B$  silně absorbuje při vlnové délce  $\lambda_2$  a málo při vlnové délce  $\lambda_1$
- absorpce roztoků jedné i druhé složky se při obou vlnových délkách  $\lambda_1$  a  $\lambda_2$  řídí **Bouguer-Lambert-Beerovým zákonem**:

$$A_{\lambda} = \log \frac{\Phi_{\lambda,0}}{\Phi_{\lambda}} = \varepsilon_{\lambda} l c$$

kde:  $\varepsilon_{\lambda}$  je hodnota molárního absorpčního koeficientu pro danou vlnovou délku [ $\text{l mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ],

$l$  je tloušťka květy [cm],

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

Na základě tohoto zákona a vzhledem k výše uvedené aditivnosti absorptance můžeme absorptanci směsi dvou barevných látek při vlnové délce  $\lambda_1$  vyjádřit takto:

- pro vlnovou délku  $\lambda_1$ : 
$$A_{\lambda_1} = (\varepsilon_A)_{\lambda_1} \cdot c_A + (\varepsilon_B)_{\lambda_1} \cdot c_B$$

kde:  $(\varepsilon_A)_{\lambda_1}$ , resp.  $(\varepsilon_B)_{\lambda_1}$  jsou molární absorpční koeficienty látky A, resp. látky B pro vlnovou délku  $\lambda_1$

- pro vlnovou délku  $\lambda_2$  platí analogicky: 
$$A_{\lambda_2} = (\varepsilon_A)_{\lambda_2} \cdot c_A + (\varepsilon_B)_{\lambda_2} \cdot c_B$$

kde:  $(\varepsilon_A)_{\lambda_2}$ , resp.  $(\varepsilon_B)_{\lambda_2}$  jsou molární absorpční koeficienty látky A, resp. látky B pro vlnovou délku  $\lambda_2$ .

Používáme-li při měření květy o stále stejné tloušťce (nejčastěji  $l = 1$  cm), můžeme hodnoty  $\varepsilon$  definovat vzhledem k této jednotkové tloušťce a veličinu  $l$  v rovnicích vynechat.

Rovnice pro  $A_{\lambda_1}$  a  $A_{\lambda_2}$  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  $A_{\lambda_1}$  a  $A_{\lambda_2}$  **změřením**
- hodnoty  $(\varepsilon_A)_{\lambda_1}$  a  $(\varepsilon_A)_{\lambda_2}$  **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  $(\varepsilon_B)_{\lambda_1}$  a  $(\varepsilon_B)_{\lambda_2}$  **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

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

## 5.1. Příprava kalibračních roztoků

### KMnO<sub>4</sub>

Přesně 0,5; 1; 1,5; 2 a 2,5 ml 0,01 M KMnO<sub>4</sub> napipetovat postupně do pěti 50 ml odměrných baněk, pipetou přidat 10 ml směsi 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, doplnit destilovanou vodou po rysku a dobře promíchat.

### K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Přesně 1, 2, 3, 4 a 5 ml 0,01 M K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> napipetovat postupně do pěti 50 ml odměrných baněk, pipetou přidat 10 ml směsi 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 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 (vyhodnotit v programu PVC).

Absorpční křivky (tj. závislosti absorbance na vlnové délce) jednotlivých komponent vynést do grafu, příp. je uložit s koncovkou \*.rtf v programu PVC Viewer.

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:

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

Pro každou vlnovou délku sestavit kalibrační křivky KMnO<sub>4</sub> a K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> jako závislosti  $A = f(c)$ .

Výsledky zaznamenat do tabulky sestavené pro pozdější výpočty:

$V_{\text{pip}}$ (zás.roztoku) [ml]	$c(\text{KMnO}_4)$ [mol · l <sup>-1</sup> ]	$A_{390}$	$A_{470}$	$A_{545}$
0,5				
1				
1,5				
2				
2,5				

$V_{\text{pip}}$ (zás.roztoku) [ml]	$c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$ [mol · l <sup>-1</sup> ]	$A_{390}$	$A_{470}$	$A_{545}$
1				
2				
3				
4				
5				

#### 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

K neznámému vzorku vzorku přidat 10 ml směsi 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, doplnit destilovanou vodou po značku a dobře promíchat.

	$V_{\text{pip}}$ [ml] (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	$V_{\text{pip}}$ [ml] (KMnO <sub>4</sub> )	$c_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ [mol/l] (dáno)	$c_{\text{KMnO}_4}$ [mol/l] (dáno)	$A_{390}$	$A_{470}$	$A_{545}$
Vzorek I	2,5	1,5					
Vzorek II	1	2					
Vzorek III	4	0,5					
Neznámý vzorek X	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:

$$A_{545} = (\varepsilon_{KMnO_4})_{545} \cdot c_{KMnO_4}$$

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:

$$A_{390} = (A_{KMnO_4})_{390} + (A_{K_2Cr_2O_7})_{390}$$

$$A_{390} = (\varepsilon_{KMnO_4})_{390} \cdot c_{KMnO_4} + (\varepsilon_{K_2Cr_2O_7})_{390} \cdot c_{K_2Cr_2O_7}$$

$$A_{470} = (A_{KMnO_4})_{470} + (A_{K_2Cr_2O_7})_{470}$$

$$A_{470} = (\varepsilon_{KMnO_4})_{470} \cdot c_{KMnO_4} + (\varepsilon_{K_2Cr_2O_7})_{470} \cdot c_{K_2Cr_2O_7}$$

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.

Proměřit v 1 cm kvetě proti destilované vodě při vlnových délkách, při nichž byly naměřeny modelové vzorky a kalibrační závislosti.

### 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.

### 5.7.2. Vyhodnocení vícesložkové analýzy

Při vyhodnocení stanovení koncentrací a hmotností  $KMnO_4$  a  $K_2Cr_2O_7$  v neznámém vzorku v protokolu do závěru uvést:

1. Grafy naměřených absorpčních spekter pro manganistan a dichroman se zdůvodněním vybraných vlnových délek.
2. Kalibrační závislosti (grafy a tabulky z programu MS Excel) pro manganistan a dichroman při 390, 470 a 545 nm, popř. jiných vybraných vlnových délkách.

3. Tabulku výsledků analýz modelových vzorků s následujícími údaji:

VÝSLEDEK v mg	KMnO <sub>4</sub>	158,045		K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	294,19			
	dano mg	nalez. mg	rel.ch. %	dano mg	nalez.mg 390nm	rel.ch. %	nalezeno 470nm	rel.ch. %
1.vzorek	<b>2,37</b>	<b>2,45</b>	3%	<b>7,35</b>	<b>7,25</b>	-1%	<b>7,18</b>	-2%
2. vzorek	<b>3,16</b>	<b>3,15</b>	0%	<b>2,94</b>	<b>2,76</b>	-6%	<b>2,84</b>	-3%
3. vzorek	<b>0,79</b>	<b>0,86</b>	9%	<b>11,77</b>	<b>11,57</b>	-2%	<b>10,97</b>	-7%

Z tabulky grafického vyhodnocení výsledků analýz modelových vzorků a hodnot stanovených množství K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> a KMnO<sub>4</sub> v neznámém vzorku uvést do oddělené tabulky teoretické hodnoty stanovovaných látek (m[mg]) a hodnoty naměřené při jednotlivých stanoveních modelových vzorků (m[mg], c[mol .l<sup>-1</sup>]) s ohledem na relativní chybu stanovení.

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

vzorek č.	c. KMnO <sub>4</sub> [mol . l <sup>-1</sup> ]	m <sub>teoret.</sub> KMnO <sub>4</sub> [mg]	m <sub>stanoveno</sub> KMnO <sub>4</sub> [mg]	c K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> [mol . l <sup>-1</sup> ]	m <sub>teoret.</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> [mg]	m <sub>stanoveno</sub> K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> [mg]
I						
II						
III						
Neznámý vzorek		x			x	

- Početně stanovit množství KMnO<sub>4</sub> a K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (v mg) v neznámém vzorku pomocí vztahů v odstavci 5.6. (hodnoty molárních absorpčních koeficientů jsou uvedeny v tabulkách pro kalibrační závislosti). Porovnat výsledky z početního a grafického vyhodnocení.
- Zdůvodnit příčiny možného chybného stanovení obsahu KMnO<sub>4</sub> a K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> v neznámém vzorku.