

Spektrofotometrické stanovení v analýze vod

Ultrafialová a viditelná spektrofotometrie

Princip metody

Spektrofotometrie je založena na interakci elektromagnetického záření a molekulou stanovované látky, kterou dané elektromagnetické záření prošlo. Pokud měřená látka je schopná absorbovat elektromagnetické záření, bude se prošlý tok záření lišit od vstupního. Úkolem spektrofotometrie je pak studovat, při jakých vlnových délkách a k jak intenzivnímu pohlcení záření došlo.

Molekuly mají schopnost pohlcovat elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek. Je to dáno tím, že mohou existovat jen v určitých kvantových stavech, které se liší obsahem energie. Jestliže má molekula přejít ze stavu s nižší energií do stavu s energií vyšší musí absorbovat záření o frekvenci ν , která právě odpovídá rozdílu energií mezi energetickými hladinami E_2 a E_1 obou kvantových stavů podle Planckovy podmínky:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad [3]$$

kde

c je rychlost světla, λ vlnová délka, h Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J·s).

Podstatou UV a Vis spektrometrie je absorpce UV a Vis záření (200 až 800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů. Proto tato spektra nazýváme elektronová a spektrometrii elektronovou spektrometrií. Nejnáročnější jsou přechody mezi elektronovými energetickými hladinami. K těmto přechodům dochází při absorpci ultrafialového (190 až 400 nm) a viditelného záření (400 až 800 nm). Absorpce záření se měří na přístrojích, které se nazývají absorpční spektrofotometry.

Podíl zářivých toků Φ (prošlý tok záření) a Φ_0 (vstupující tok záření) se nazývá propustnost neboli transmittance T

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0} \quad [4]$$

Na spektrofotometru můžete odečíst i absorbanci A , tedy záporně vzatý logaritmus propustnosti:

$$A = -\log T = \log \left(\frac{\Phi_0}{\Phi} \right) \quad [5]$$

Závislost propustnosti či absorpance na vlnové délce se nazývá *absorpční spektrum*.

Kvantitativní analýza je založena na *Lambert-Beerově zákoně*, podle kterého je hodnota absorpance A při vlnové délce λ přímo úměrná látkové koncentraci c . Lambert-Beerův zákon platí pro monochromatické záření a pro nízké koncentrace, řádově menší než 10^{-2} mol/l. Nejjednodušším ověřením platnosti tohoto zákona je proměření závislosti absorpance na různé koncentraci několika kalibračních roztoků při stejné vlnové délce a ve stejné kyvetě. Výsledná závislost musí být přímková a nazýváme ji *kalibrační křivkou*.

Spektrofotometrické stanovení fosforečnanů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah fosforečnanů ve vodě

Chemikálie: 0,07165 g dihydrogenfosforečnan draselný KH_2PO_4
13,3 ml kyselina sírová H_2SO_4
1 g molybdenan amonný $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$
0,06875 g vinan antimonylo-draselný $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$
0,088 g kyselina askorbová ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 50 ml, 25 ml (8 ks)
kádinka 250 ml, 100 ml (2 ks)
váženka
lžička
spektrofotometr a kyvety
stopky

Postup:

Dihydrogenfosforečnan draselný (KH_2PO_4), zásobní roztok standardu ($c = 0,005268$ mol/l):

Pro přípravu zásobního roztoku se naváží 71,65 mg vysušeného dihydrogenfosforečnanu draselného (sušení 2 hodiny při 105°C). Toto množství bylo rozpuštěno v destilované vodě v odměrné baňce 100 ml a doplněno destilovanou vodou po rysku. *Pozn.* Před vlastním měřením se zásobní roztok 50x naředí.

Kyselina sírová (H_2SO_4), ($c = 2,5$ mol/l):

Za stálého chlazení a míchání se přidá 13,3 ml 96% kyseliny sírové do 100 ml odměrné baňky se 75 ml destilované vody a doplní se po rysku destilovanou vodou.

Molybdenan amonný ($(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$):

Ve 25 ml odměrné baňce se rozpustí 1 g molybdenanu amonného v destilované vodě.

Vinan antimonylo-draselný ($K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 0,5 H_2O$) - působí jako katalyzátor:

Ve 25 ml odměrné baňce se rozpustí 0,06875 g vinanu antimonylo-draselného v destilované vodě.

Kyselina askorbová ($C_6H_8O_6$):

V 50 ml odměrné baňce se rozpustí 0,88 g kyseliny askorbové a doplní se do 50 ml destilovanou vodou.

Směsný roztok:

Do kádinky s 50 ml kyseliny sírové (2,5 mol/l) bylo za stálého míchání přidáno 15 ml připraveného roztoku molybdenanu amonného, 5 ml roztoku vinanu antimonylo-draselného a 30 ml roztoku kyseliny askorbové. Pro uchování roztoku je nutné ho skladovat v chladu a tmavé láhvi. Pak je roztok stálý asi 2 měsíce.

Spektrofotometrické stanovení:

Pro spektrofotometrické stanovení je potřeba šest odměrných baněk o objemu 25 ml. Do baněk se napipetuje dané množství (postupně 1,25; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5ml) 50x zředěného standardního zásobního roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného. Do každé baňky se dále přidá 3,25 ml směsného roztoku. Odměrné baňky se doplní destilovanou vodou po rysku a roztok se promíchá. Po 30 minutách se změří hodnoty absorbance proti slepému vzorku v 1 cm kyvetách při vlnové délce 880 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem (odměrná baňka se naplní z $\frac{3}{4}$ analyzovanou vodou, přidá se 3,25 ml směsného roztoku, baňka se doplní analyzovanou vodou po rysku a roztok se promíchá). Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 5: Příprava kalibračních roztoků $(PO_4)^{3-}$.

V KH_2PO_4 (ml)	c $(PO_4)^{3-}$ (mg/l)	Absorbance ($\lambda=880$ nm)
1,25	0,5	
2,5	1	
5	2	
7,5	3	
10	4	
12,5	5	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistíte obsah fosforečnanů ve vzorku vody. Dle obsahu fosforečnanů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Spektrofotometrické stanovení amonných iontů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah amonných iontů ve vodě

Chemikálie: 0,3714 g chlorid amonný NH_4Cl
10 g salicylan sodný $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$
20 g dihydrát citronan sodný $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
2,5 g hydroxid sodný NaOH
0,1 g nitroprusid sodný $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0,2 g dichlorisokyanuratan $\text{C}_3\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 50 ml, 25 ml (10 ks)
kádinka 100 ml
pipety
třecí miska s tloučkem
váženka
lžička
spektrofotometr a kyvety

Postup:

Chlorid amonný (NH_4Cl), zásobní roztok standardu:

V odměrné baňce o objemu 100 ml se rozpustí v destilované vodě 371,4 mg vysušenému chloridu amonného (2 hodiny při 105 °C). Zásobní roztok se uchovává v tmavé láhvi a v chladu. Roztok je stálý alespoň měsíc. *Pozn.* Pro měření se zásobní roztok 50x naředí.

Činidlo I:

V kádince s 50 ml destilované vody se rozpustí 10 g salicylanu, 10 g citronanu a 2,5 g NaOH .

Činidlo II:

V třecí misce se rozetře 0,1 g nitroprusidu, 0,2 g dichlorisokyanuratanu a 10 g citronanu.

Spektrofotometrické stanovení:

Do šesti odměrných baněk o objemu 25 ml se napipetuje dané množství 50x zředěného zásobního roztoku standardu o známé koncentraci (postupně 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 ml). Do každé baňky se přidá 10 kapek činidla I a lžička činidla II. Baňky se promíchají a doplní se destilovanou vodou po rysku. Po 10 minutách se změří hodnoty absorbance proti slepému vzorku v 1 cm kyvetách při vlnové délce 660 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem. Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 6: Příprava kalibračních roztoků (NH₄)⁺.

V NH ₄ Cl (ml)	c(NH ₄) ⁺ (mg/l)	Absorbance (λ=660 nm)
0,25	0,25	
0,5	0,5	
0,75	0,75	
1	1	
1,25	1,25	
1,5	1,5	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistěte obsah amonných iontů ve vzorku vody. Dle obsahu amonných iontů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Spektrofotometrické stanovení dusitanů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah dusitanů ve vodě

Chemikálie: 0,375 g dusitan sodný NaNO_2
10 ml kyselina fosforečná H_3PO_4
4 g amid kyseliny sulfanilové $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$
0,2 g NED dihydrochlorid (N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamin
dihydrochlorid) ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{NH}_2\cdot 2\text{HCl}$)
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml a 25 ml (8x)
pipety
váženka
lžička
spektrofotometr a kyvety

Postup:

Dusitan sodný (NaNO_2), zásobní roztok standardu ($c = 0,013588 \text{ mol/l}$):

Ve 100 ml odměrné baňce se rozpustí 375 mg dusitanu sodného. Baňka se doplní destilovanou vodou po rysku. Roztok se uchovává v chladu a v uzavřené tmavé skleněné láhvi.

Pozn. Pro měření se zásobní roztok 100x zředí.

Vybarvovací činidlo:

Do 100 ml odměrné baňky s destilovanou vodou se napipetuje 10 ml kyseliny fosforečné. Potom se přidá 4 g amidu kyseliny sulfanilové, 0,2 g NED dihydrochloridu a doplní se destilovanou vodou po rysku.

Spektrofotometrické stanovení:

Do šesti odměrných baněk objemu 25 ml se napipetuje postupně 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5 ml standardního 100x zředěného zásobního roztoku dusitanu sodného. Do každé odměrné baňky se pak přidá 10 kapek vybarvovacího činidla. Pak se baňky doplní po rysku destilovanou vodou. Absorbance se změří po 10 minutách proti slepému vzorku v 1 cm kyvetách při vlnové délce 540 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem. Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 7: Příprava kalibračních roztoků (NO₂)⁻.

V NaNO ₂ (ml)	c (mg/l) (NO ₂) ⁻	Absorbance (λ= 540 nm)
0,25	0,25	
0,5	0,5	
0,75	0,75	
1	1	
1,5	1,5	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistěte obsah dusitanů ve vzorku vody. Dle obsahu dusitanů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Spektrofotometrické stanovení dusičnanů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah dusičnanů ve vodě

Chemikálie: 0,4076 g dusičnan draselný KNO_3
10 ml kyselina fosforečná H_3PO_4
1 g amid kyseliny sulfanilové $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$
0,05 g NED dihydrochlorid (N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamin dihydrochlorid) ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{NH}_2\cdot 2\text{HCl}$)
práškový zinek Zn
síran sodný Na_2SO_4
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 25 ml
kádinka
pipety
třecí miska s tloučkem
spektrofotometr a kyvety

Postup:

Dusičnan draselný (KNO_3), zásobní roztok standardu:

Ve 100 ml odměrné baňce se rozpustí v destilované vodě 0,4076 g dusičnanu draselného a doplní destilovanou vodou po rysku. *Pozn.* Pro měření musí být zásobní roztok 10x naředěn.

Vybarvovací činidlo:

Do odměrné baňky o objemu 25 ml s destilovanou vodou se napipetuje 10 ml kyseliny fosforečné. Dále se přidá 1 g amidu kyseliny sulfanilové a 0,05 g NED dihydrochloridu. Baňka se doplní destilovanou vodou po rysku.

Redukční činidlo:

K redukci dusičnanů na dusitany se použije práškový zinek. Zinek je potřeba naředit s inertní látkou, neboť při redukci zinkem vzniká velké množství vodíku. Docházelo by tak k chybám v měření. Zinek se naředí síranem sodným v poměru 1:20 a směs dokonale rozetře v třecí misce.

Spektrofotometrické stanovení:

Do šesti odměrných baněk objemu 25 ml se napipetuje 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; ml zásobního 10x zředěného roztoku dusičnanu draselného. Do každé baňky se poté napipetuje 0,5 ml kyseliny fosforečné. Potom se přidá 10 kapek vybarvovacího činidla a malé množství (malou lžičku) práškového zinku naředěného síranem sodným. Odměrné baňky se doplní destilovanou vodou po rysku a 10 minut se reakční směs nechá reagovat. Absorbance se měří v 1 cm kyvetách proti slepému vzorku při vlnové délce 540 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem. Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 8: Příprava kalibračních roztoků $(\text{NO}_3)^-$.

V KNO_3 (ml)	c $(\text{NO}_3)^-$ (mg/l)	Absorbance ($\lambda=540$ nm)
0,5	4	
1	8	
2	16	
3	24	
4	32	
5	40	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistíte obsah dusičnanů ve vzorku vody. Dle obsahu dusičnanů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.