

Příloha IV

Návod pro realizaci stanovení koncentrace železitých kationtů ve vodě pomocí digitálního zrcadlového fotoaparátu použitý v rámci projektu Expedice Gymnázia Přírodní škola, o. p. s. v roce 2017.

Autor: Mgr. Karel Kudláček

Spektrofotometrické stanovení železa

Co to je?

Pokud je vzorek barevný, znamená to, že absorbuje záření určité vlnové délky ve viditelném záření. Železité kationty reagují s thiokyanatanem za vzniku oranžovo-červeného komplexu - vznikne načervenalý roztok. Pokud máme vhodné zařízení, které dokáže určit intenzitu záření dané barvy (vlnové délky), například fotoaparát v kombinaci s programem na počítači k vyhodnocení, můžeme zjistit, kolik železa v minerální vodě máme.

Nejprve musíme pomocí fotoaparátu přiřadit intenzitu záření k jednotlivým koncentracím. Vytvoříme tedy několik standardů (=roztoků známého složení a koncentrace), které proměříme a vytvoříme z nich kalibrační závislost. Z této závislosti pak určíme množství železa ve vzorku.

Odběr vzorku

Odebereme jednu lahvičku (100 ml) vody z pramene a zakonzervujeme vzorek 0,5 ml koncentrované kyseliny dusičné (stejně konzervační činidlo jako při stanovení tvrdosti vody).

Postup

Před každým měřením

Vytvoříme si kalibrační roztoky - standardy, stačí jedna kalibrace pro každý celý den, co budeme na základně analyzovat. Do sedmi odměrných baněk o objemu 5 ml budeme pipetovat jednotlivá činidla podle následující tabulky:

c (mg/l)	V(Fe, μ l)	V(KSCN, μ l)
0,0	0	200
2,5	125	200
5,0	250	200
10,0	500	200
20,0	1000	200
40,0	2000	200
80,0	4000	200
vzorek	0	200

Do každé baňky dáme příslušný objem standardu železitých kationtů (zásobní roztok má koncentraci 100 mg/l) a vždy 200 μ l zásobního 10% roztoku thiokyanatanu draselného. Každou baňku doplníme deionizovanou vodou po rysku baňky, zavřeme a promícháme.

Vzorek

Vzorku pipetujeme do baňky nejprve více, to je 4000 μ l, přidáme 200 μ l roztoku thiokyanatanu a doplníme po rysku deionizovanou vodou. Pokud bude intenzita zelené větší než nejvyšší naměřená hodnota kalibračního roztoku, zkusíme připravit nový vzorek - do baňky pipetujeme 2000 μ l, přidáme thiokyanatan (200 μ l) a doplníme vodou. Pokud naopak bude intenzita zelené menší než nejnižší naměřená hodnota kalibračního standardu, musíme použít vzorku více - do odměrné baňky na 50 ml pipetujeme 10 ml vzorku, přidáme 2 ml thiokyanatanu a doplníme deionizovanou vodou po rysku.

Na mikrotitrační destičku nanese se trojicích standardy se vzrůstající koncentrací a nakonec vzorek. To znamená, že do prvních tří jamek pipetujeme jeden standard, pod něj do dalších tří vedle sebe druhý standard, atd. Do každé jamky pipetujeme vždy 200 µl.

Nyní vyfotografujeme mikrotitrační destičku na bílém podkladu (papíru). Fotografii otevřeme v počítači v programu RGB color a určíme intenzitu zelené barvy v každé jamce.

Kalibrační rovnice

Intenzity pak pro každý standard zprůměrujeme a vyneseme do tabulky v excelu:

Koncentrace (mg/l)	Intenzita zelené (průměr)
0	
2,5	
5	
10	
20	
40	
80	

Vytvoříme bodový graf, kde na "x" ose bude koncentrace a na "y" ose bude intenzita zelené. Soubor bodů v grafu proložíme regresní přímkou. Na body kliknem pravým tlačítkem a vybereme "přidat spojnici trendu", vyskočí nám tabulka, kde zaškrtneme "zobrazit R hodnotu" a "zobrazit rovnici regrese". Dostaneme rovnici přímky a hodnotu korelačního koeficientu - ten nám říká, jak moc je naše kalibrace přesná. Jeho hodnota by měla být ideálně 1 (všechny body leží na přímce). My musíme mít hodnotu koeficientu alespoň 0,9900. Jinak musíme kalibraci předělat. Může se stát, že body v grafu nebudou ležet na přímce, ale závislost bude zakřivená, v takovém případě ze série bodů vyškrtneme nejvyšší koncentraci, abychom mohli proložit přímkou lineární část.

Rovnice ve tvaru $y = ax + b$ je kalibrační rovnice, kterou použijeme k vyhodnocení vzorku. Změřenou intenzitu zeleného světla dosadíme do rovnice za "y" a dopočítáme "x". Hodnota "x" je koncentrace našeho ředěného vzorku.

Abychom zjistili koncentraci železitých kationtů v minerální vodě, vynásobíme zjištěnou koncentraci a objem vzorku, který jsme použili k analýze v litrech (takže pro 5 ml to je 0,005 l a pro 50 ml to je 0,05 l). Teď jsme spočítali, kolik miligramů máme v ředěném vzorku. Koncentraci zjistíme tak, že toto množství v miligramech vydělíme objemem vzorku v litrech, který jsme vzali k analýze (tj. pokud jsme dávali 4000 µl, napíšeme 0,004 l a pokud jsme dávali 10 ml, napíšeme 0,01 l). Výsledek máme v mg/l.