UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍDODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE

STANOVENÍ FENOLU RŮZNÝMI ANALYTICKÝMI METODAMI

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Eva EGERSDORFOVÁ

Přírodovědecká fakulta UK
KNIHOVNA CHEMIE

STANOVENÍ FENOLU RŮZNÝMI ANALYTICKÝMI METODAMI

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Eva EGERSDORFOVÁ

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE

Studijní obor: **Chemie životního prostředí**

Školitel: **Doc. RNDr. Pavel COUFAL, Ph.D.**

Datum odevzdání práce: **červen 2007**

PRAHA 2007

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Doc. RNDr. Pavla Coufala PhD., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.
Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 1. 6. 2007

Egyrodová
.....
podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala Doc. RNDr. Pavlu Coufalovi, Ph.D. za odborné vedení a konzultace, které mi vždy s ochotou poskytoval v průběhu zpracovávání bakalářské práce.

Práce na tomto projektu byla finančně podporována výzkumným záměrem MSM0021620857 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Anotace

Fenol je nepříjemným a jedovatým polutantem, který je vypouštěn do říčních toků mnoha chemickými továrnami v jejich odpadních vodách. Redoxní titrace, coulometrie, spektrofotometrie jsou analytické metody, které mohou být využity ke stanovení fenolu v reálných vzorcích. V prvních kapitolách je uveden teoretický princip těchto stanovení a charakteristický popis vlastností hydroxysloučenin a fenolu. Následně je popsáno praktické provedení coulometrického, bromometrického a spektrofotometrického stanovení vzorků fenolu pro různé koncentrace. Získané hodnoty obsahu fenolu ve vzorku jsou statisticky zpracovány a graficky znázorněny.

Cíl práce

Cílem této práce je porovnání metod coulometrické titrace, bromometrické titrace a spektrofotometrického stanovení fenolu v modelovém vzorku fenolu.

Klíčová slova:

Fenol, coulometrie, bromometrie, spektrofotometrie

Předmětová hesla:

Analytická chemie, elektrochemie, optické metody

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

A_λ	absorbance roztoku při vlnové délce λ
c	koncentrace [mol/l]
d	tloušťka kyvety [cm]
E°	standardní redoxní potenciál [V]
F	Faradayova konstanta [96486 C/mol]
f	faktor odměrného roztoku
k_n, K_n	tabelované koeficienty
k_{ow}	rozdělovací koeficient oktanol/voda
$L_{1,2}$	interval spolehlivosti
M	hmotnost [g]
M_h	molární hmotnost [g/mol]
n	počet výsledků
Q	náboj
R	rozpětí
s	směrodatná odchylka
s_r	relativní směrodatná odchylka
V	objem titračního činidla
x_{max}	největší hodnota
x_{min}	nejmenší hodnota
$\bar{x}$	aritmetický průměr
z	počet vyměňovaných elektronů
ε_λ	molární absorpční koeficient [L/mol · cm]

OBSAH

ANOTACE, CÍL PRÁCE
KLÍČOVÁ SLOVA, PŘEDMĚTOVÁ HESLA
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ
1. ÚVOD
1.1. Hydroxy sloučeniny, fenoly ... 8
1.2. Coulometrická titrace ... 10
1.3. Bromátometrie ... 11
1.4. Spektrofotometrie ... 12
1.5. Statistické vyhodnocení výsledků ... 13
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST
2.1. Chemikálie ... 14
2.2. Instrumentace ... 14
2.3. Laboratorní pomůcky ... 14
3. VÝSLEDKY A DISKUSE
3.1. Princip coulometrické titrace ... 15
3.1.1 Příprava vzorku fenolu a jeho coulometrické stanovení ... 16
3.2. Princip bromometrické titrace ... 17
3.2.1. Příprava odměrného roztoku $Na_2S_2O_3$ a jeho standardizace na $KBrO_3$ ... 18
3.2.2. Příprava vzorku fenolu a jeho bromomerické stanovení ... 19
3.2.3. Stanovení vzorku fenolu o hmotnostní koncentraci 100 mg/L ... 20
3.3. Princip spektrofotometrického stanovení ... 20
3.3.1. Spektrofotometrické stanovení fenolu pomocí 4-aminoantipyrinu ... 21
3.3.1.1. Kalibrační křivky ... 21
3.3.1.2. Příprava vzorku fenolu a jeho spektrofotometrické stanovení ... 23
3.3.1.3. Stanovení časové stálosti vzorku ... 24
3.3.2. Spektrofotometrické stanovení fenolu pomocí p-nitroanilinu ... 26
3.3.2.1. Stanovení časové stálosti vzorku ... 26
4. ZÁVĚR ... 29
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ÚVOD

1.1. HYDROXYSLOUČENINY, FENOLY

Hydroxysloučeniny, v nichž je hydroxylová skupina vázána na nasycený uhlíkový atom, v hybridizaci sp^3 se nazývají alkoholy. Pokud je tato skupina vázána přímo na aromatické jádro, jde o fenoly [1].

Fenoly jsou krystalické sloučeniny, jež obsahují jednu nebo více hydroxylových skupin. Podle toho se dělí na fenoly jednosytné a vícesytné. Přítomnost hydroxylových skupin v molekule zvyšuje polaritu a z tohoto důvodu se jednosytné i vícesytné fenoly, pokud neobsahují dlouhý postranní uhlíkový řetězec, dobře rozpouštějí ve vodě [2].

Fenoly jsou ve srovnání s alkoholy značně kyselejší, což vyplývá ze silné rezonanční stabilizace jejich anionů, fenolátů, a proto se u fenolů projevuje větší snaha odštěpit proton než u alkoholů. Fenoly jsou rovněž stabilizovány kladným mezomeriním efektem +M hydroxylové skupiny, ale mnohem méně než fenoláty, u kterých je delokalizován celý jednotkový záporný náboj. Fenoly a fenoláty jsou účinnými nukleofilními činidly. Elektrofilní substituce fenolů probíhá snadno, a to do poloh ortho a para, protože hydroxylová skupina silně atakuje jádro. Z tohoto důvodu fenol bromací nebo nitrací poskytuje příslušné 2,4,6-trisubstituované deriváty. Fenoly se kopulují s diazoniovými solemi, což má velký význam při výrobě azobarviv [2].

Fenoly jsou nebezpečné závadné látky, náležící do skupiny organických aromatických látek, které jsou velice toxické pro vodní prostředí. Do skupiny fenolů patří jak látky přirozeně se vyskytující, tak člověkem vyrobené sloučeniny. Fenoly a jejich deriváty jsou široce rozšířené přírodní látky, které jsou produkovány celou řadou rostlin a živočichů, ale i člověkem. Právě tyto přirozené deriváty fenolů zapříčiňují chuť a barvu mnohých poživatin. Fenol a jeho deriváty jsou široce využívány v chemickém průmyslu. Fenol je hlavním chemickým meziproduktem pro výrobu syntetických vláken a fenolových pryskyřic. Je také používán jako protislizový prostředek (slimicidy – chemikálie používané pro zamezení růstu bakterií a houbového slizu) v průmyslových vodních systémech, dále jako desinfekční prostředek a v léčivech, jako jsou prostředky proti bolení v krku a proti kožním onemocněním. Fenoly také využívají rostliny pro produkci ligninu. Přírodní fenoly nejsou produkovány ve významném množství. Významnější problém představují nadměrná množství fenolů a jejich derivátů, která mohou do životního prostředí unikat v rámci lidské činnosti.

Mezi antropogenní zdroje emisí patří:

- úniky při výrobě fenolů;
- úniky z chemického průmyslu při užívání (desinfekce vodních potrubních systémů) a aplikaci fenolů do produktů (např. fenolové pryskyřice a umělá vlákna), odpady z tepelného zpracování uhlí, petrochemie;
- kontaminace vody z nátěrů obsahujících fenoly a jejich deriváty;
- spalovací procesy, např. spalovací motory, cigaretový kouř, otevřená ohniště;
- úniky chlorfenolů do ovzduší během spalování látek obsahujících chlor;
- fenoly mohou být do životního prostředí také vyluhovány ze špatně zajištěných skládek odpadů;
- vznik chlorfenolů v rámci chlorace vod s obsahem fenolů.

Fenoly emitované antropogenní cestou a jejich deriváty mohou mít díky svým vlastnostem negativní vliv na životní prostředí. Antropogenní úniky z důvodu omezené těkavosti fenolů většinou směřují do vody nebo půdy. Nechlorované deriváty fenolů jsou v aerobním prostředí rozkládány mikroorganismy na neškodné produkty. Za nepřístupu vzduchu, např. ve skládkách, sedimentech či v podzemních vodách, jsou stabilnější. Fenoly vykazují akutní toxicitu pro vodní živočichy. Ve vodě dokáže fenol setrvat až 9 dní. Díky toxicitě, bioakumulativnosti a vysoké stabilitě představují největší riziko pro životní prostředí chlorfenoly. Přestože fenoly nejsou látkami ze skupiny těkavých organických látek (VOC - Volatile Organic Compounds), objevují se v literatuře informace, že mohou po vypaření reagovat s dalšími polutanty přítomnými v ovzduší, a tak potenciálně přispívat ke tvorbě škodlivého přízemního ozonu tzv. fotochemického smogu [3].

Hlavním legislativním nástrojem v ČR upravujícím zastoupení fenolů a fenolických sloučenin ve vodním prostředí je nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, které stanovuje emisní standardy pro obsah fenolů v odpadních vodách vypouštěných z vybraných průmyslových odvětví, imisní standardy pro obsah fenolů v povrchových vodách a požaduje nezvyšování jejich obsahu v sedimentech, plaveninách a živých organismech [4].

Fenol, dříve nazývaný kyselina karbolová, byl prvně izolován z dehtu roku 1834. Tvoří bezbarvé krystalky, které delším skladováním červenají až tmavnou. Základní fyzikální vlastnosti jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1 Fyzikálně - chemické vlastnosti fenolu

Sumární vzorec	C_6H_6O
CAS – No.	108-95-2
Molární hmotnost	94,11 g/mol
pH	6
Bod varu	182 °C
Bod tání	40 – 42 °C
Bod vzplanutí	79 °C
Teplota samovznícení	715 °C
Tlak par	0,36 mmHg (20 °C)
Hustota	1,071 g/cm^3
Povrchové napětí	38,2 mN/m
Viskozita	3,437 Pa s
Hustota par	3,24 g/l
Mez výbušnosti	spodní 1,7 horní 8,6 vol.%
Rozdělovací koeficient	log k_{ow} 1,46 (50 °C)

Chemické vlastnosti fenolu umožňují ke stanovení fenolu použít různé analytické metody, jako coulometrickou titraci, bromometrickou titraci , spektrofotometrii a některé další metody.

1.2. COULOMETRICKÁ TITRACE

Coulometrie za konstantního proudu neboli coulometrická titrace je elektrochemická metoda, při které je stanovovaná látka v roztoku titrována činidlem elektrolyticky generovaným konstantním proudem. Generační proud prochází párem elektrod, jež jsou ponořeny do titrovaného roztoku. Činidlo se generuje na jedné z nich, a to na generační elektrodě, která je v přímém kontaktu s analyzovaným roztokem. Titrovaný roztok obsahuje pomocnou látku, jejíž elektrolýzou vzniká požadované titrační činidlo, které v roztoku chemicky reaguje s analytem. Druhá, pomocná elektroda, je od titrovaného roztoku oddělena fritou z důvodu, aby případné produkty elektrolýzy na této elektrodě nekontaminovaly titrovaný roztok. Činidlo se generuje do té doby, než je

v roztoku analyt, který s ním reaguje. K určení konečného bodu titrace se používá vhodný indikační systém, např. biamperometrický obvod.

Z prošlého náboje, daného součinem doby potřebné k dosažení konečného bodu titrace a velikosti generačního proudu, a ze známé stechiometrie reakcí na generační elektrodě a v roztoku je možno určit obsah analytu ve vzorku [5].

1.3. BROMÁTOMETRIE

Bromátometrie patří mezi oxidimetrické titrace. Jako odměrný roztok se používá $KBrO_3$, který je v kyselém prostředí silným oxidovadlem, schopným oxidovat anorganické i organické látky. Pokud je v roztoku přítomna stanovovaná látka, probíhá redukce bromičnanu podle reakce [6]:

$$5\ BrO_3^- + 6\ H^+ + 6\ e^- \rightarrow 5\ Br^- + 3\ H_2O \qquad E^\circ = 1{,}42\ V$$

Odměrný roztok $KBrO_3$ je stálý a připravuje se rozpuštěním navážky $KBrO_3$, který je základní látkou. Titrace se provádějí v roztocích okyselených kyselinou chlorovodíkovou nebo sírovou. Indikace bodu ekvivalence je založena na reakci [7]:

$$5\,Br^- + BrO_3^- + 6\,H^+ \rightarrow 3\,Br_2 + 3\,H_2O$$

Určení konce titrace je založeno na indikaci uvolněného bromu dvěma způsoby. Buď prvním nepatrným nadbytkem bromičnanu po dosažení bodu ekvivalence se uvolní Br_2, který rozruší přidanou methylovou červeň nebo methylovou oranž, což je vizuální neutralizační indikátor, na bezbarvé produkty, takže je bod ekvivalence indikován odbarvením roztoku, tedy rozrušením nevratného redoxního vizuálního indikátoru. Ve druhém případě se aplikuje jodometrická indikace, kdy první přebytek bromičnanu poskytne reakcí s přidaným jodidem elementární jod, zbarvující škrobový maz modře [8,9].

Bromátometricky lze v kyselém prostředí stanovit soli cínaté, antimonité, arsenité, thallné a měďné, které se při titraci oxidují na sloučeniny Sn^{4+}, Sb^{5+}, As^{5+}, Tl^{3+} a Cu^{2+}. Titrací bromičnanem za přítomnosti bromidu, tedy bromometricky je možné také stanovit dvojné vazby v nenasycených organických sloučeninách:

$$R_1\text{-}CH{=}CH\text{-}R_2 + Br_2 \rightarrow R_1\text{-}CHBr\text{-}CHBr\text{-}R_2$$

a dále organické látky, jako např. fenol nebo anilin [7,8].

1.4. SPEKTROFOTOMETRIE

Molekulová absorpční spektrometrie ve viditelné oblasti se zabývá měřením látek, které absorbují elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 380 až 770 nm. Látky, které v této oblasti absorbují se oku jeví jako barevné [10]. Vlnová délka pohlceného záření neodpovídá barvě látky jež vnímáme, ale barvě komplementární [7]. Spektrální absorpční analýza je jednou z nejužívanějších metod pro svou rychlost, experimentální nenáročnost, přesnost a citlivost [11].

Pokud stanovovaný analyt nevykazuje dostatečnou absorbanci při nějaké vhodné vlnové délce v této oblasti spektra, pak se musí nejprve nechat reagovat s vhodným činidlem, s nímž vytváří přesně definovaný barevný produkt. Intenzita zabarvení roztoku je pak přímo úměrná koncentraci analytu v analyzovaném roztoku a lze ji změřit spektrofotometrem jako hodnotu absorbance příslušného barevného roztoku. Nejprve se proměřuje absorpční křivka barevného produktu závislosti absorbance (A) barevného produktu na vlnové délce (λ) absorbovaného záření. Z absorpční křivky se poté zjistí vlnová délka maxima, při níž barevný produkt vykazuje největší absorbanci a při které je stanovení analytu nejcitlivější. Absorbance při vlnové délce maxima se použije ke konstrukci kalibrační přímky a ke stanovení analytu [5]. Absorpci záření ve vzorku vystihuje Lambertův-Beerův zákon, kde absorbance vzniklého barevného produktu je přímo úměrná koncentraci analytu ve vzorku podle vztahu:

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \boxdot d \boxdot c \qquad (1)$$

kde:

A_λ je absorbance roztoku při vlnové délce λ; ε_λ je molární absorpční koeficient barevného produktu [L/mol · cm]; d je optická dráha paprsku, tedy tloušťka kyvety [cm] a c je molární koncentrace analytu [mol/L]. Tento zákon platí jen pro zředěné roztoky, kde je možné zanedbat změnu indexu lomu měřeného roztoku se změnou koncentrace barevné látky [6].

1.5. STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

V této bakalářské práci byly pro statistické vyhodnocení získaných výsledků použity následující vztahy:

Rozpětí souboru výsledků

$$R = x_{max} - x_{min} \quad (2)$$

Kriterium Q_n

$$Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (3)$$

Aritmetický průměr

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (4)$$

Odhad směrodatné odchylky

$$s = k_n \cdot R \quad (5)$$

Relativní směrodatná odchylka

$$s_r = \frac{s}{x} \cdot 100\ [\%] \quad (6)$$

Interval spolehlivosti

$$L_{1,2} = K_n \cdot R \quad (7)$$

Vyjádření výsledku

$$\bar{x} \pm L_{1,2} \quad (8)$$

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. CHEMIKÁLIE

V této bakalářské práci byly použity chemikálie o příslušné čistotě: fenol (p.a.) M_h(fenol) = 94,11 g/mol, KBr (p.a.), H_2SO_4 (p.a.) koupené od firmy Lachema (Brno, Česká republika) a použité pro coulometrickou titraci. $KBrO_3$ (p.a.) $M_h(KBrO_3)$ = 167,02 g/mol, KBr (p.a.), KIO_3 (p.a.), KI (p.a.), $Na_2S_2O_3$ (p.a.) dodané firmou Lachema byly použity pro bromometrické stanovení. 4-amino-2,3-dimethyl-1-fenyl-3-pyrazolin-5-on (p.a.), 4-nitroanilin (p.a.) dodané firmou Merck (Darmstadt, Německo) a Na_2CO_3 (p.a.), $K_3[Fe(CN)_6]$ (p.a.), $NaNO_3$ (p.a.) a HCl (p.a.) dodané firmou Lachema byly použity pro spektrofotometrické stanovení.

2.2. INSTRUMENTACE

K experimentální práci byly použity následující přístroje: spektrofotometr Agilent Technologies 8453 (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) s měřením ve viditelné i ultrafialové oblasti spektra 190 – 1100 nm, osobní počítač s ovládacím programem UV-Visible ChemStation, verze 9.01., dále spektrofotometr Marcel Miny (Marcel, Varšava, Polsko) s měřením ve viditelné části spektra 380 – 800 nm a program Coulometry vytvořený v programovacím prostředí Control Panel od firmy Alcor, a.s.

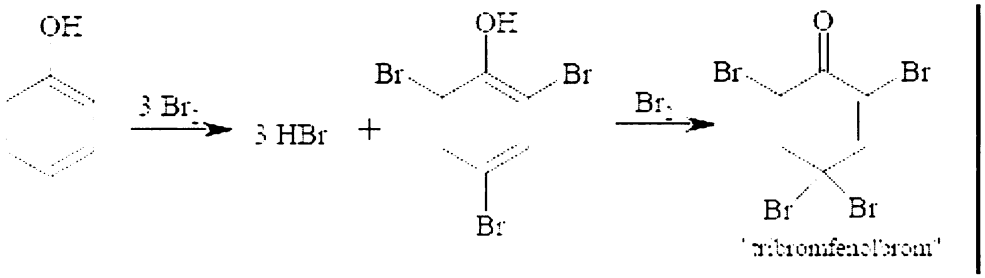
2.3. LABORATORNÍ POMŮCKY

K experimentální práci byly použity následující laboratorní pomůcky dodané firmou Simax (Praha, Česká republika): poloautomatická byreta (25 mL), odměrné baňky (25 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL, 2000 mL), kádinky, jodové baňky, odměrné válce (10 mL, 50 mL), dělená pipeta (10 mL), nedělené pipety (5 mL, 10 mL, 20 mL a 25 mL).

3. VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1. PRINCIP COULOMETRICKÉ TITRACE

Fenol lze titrovat brómem elektrolyticky generovaným z bromidu na anodě. Titrovaný roztok proto obsahuje jako pomocnou látku bromid draselný, jehož oxidací na generační anodě vzniká bróm. Generovaný bróm pak substituuje v míchaném titrovaném roztoku fenol přes 2,4,6-tribromfenol a poté oxiduje na tribromfenolbrom, sám se redukuje zpět na bromid a dochází k výměně 8 elektronů podle schématu [12].



Konec titrace je indikován biampérometricky, a proto je v titrovaném roztoku kromě generačních elektrod umístěn i pár stejných platinových indikačních elektrod. Na indikační elektrody je vloženo malé napětí, avšak proud mezi nimi teče jedině v případě, že na katodě se redukuje bróm a na anodě se současně oxiduje bromid. Před spuštěním titrace a po dobu titrace, kdy je veškerý generovaný bróm spotřebován na substituci a oxidaci fenolu, je v titrovaném roztoku pouze bromid, a proto indikačními elektrodami proud téci nemůže. Teprve po zoxidování veškerého fenolu se v titrovaném roztoku objeví volný bróm a indikačními elektrodami teče elektrický proud. Z toho vyplývá, že velikost indikačního proudu tedy závisí na aktuální koncentraci brómu v titrovaném roztoku. Titrace je ukončena v okamžiku, kdy proud tekoucí indikačními elektrodami dosáhne předem nastavené hodnoty. Netitruje se tedy do bodu ekvivalence, ale do konstantního malého přebytku brómu v roztoku [5].

Výpočet obsahu ztitrovaného fenolu z prošlého elektrického náboje vychází ze stechiometrie substituce a oxidace fenolu brómem a stechiometrie generace brómu z bromidu:

$$2\ Br^- \rightarrow Br_2 + 2\ e^-$$

a z Faradayova zákona:

$$Q = z \cdot F \cdot n \tag{9}$$

kde:

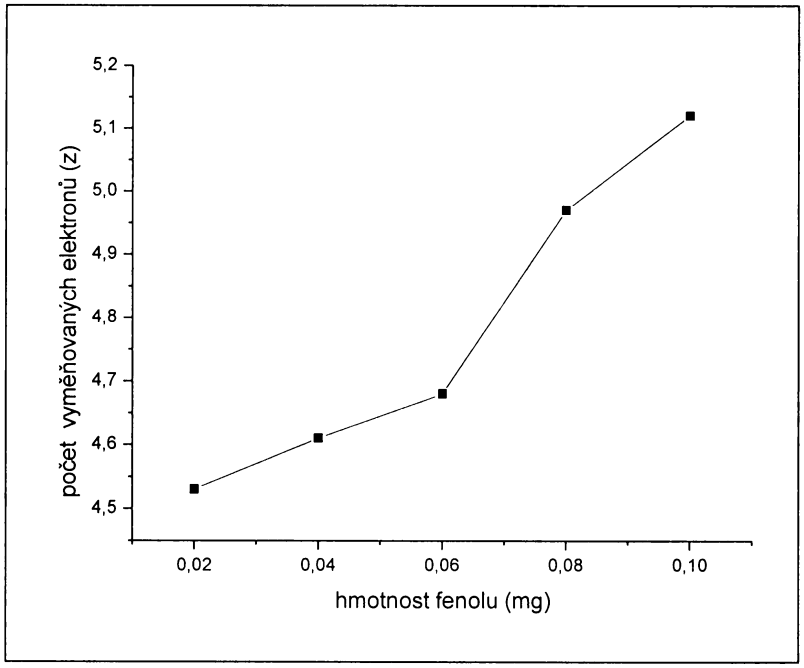
Q je náboj prošlý generační elektrodou; z je počet vyměňovaných elektronů; F je Faradayova konstanta (F = 96485 C/mol) a n je počet generovaných molů titračního činidla [5].

3.1.1. PŘÍPRAVA VZORKU FENOLU A JEHO COULOMETRICKÉ STANOVENÍ

Do 1000 mL odměrné baňky bylo naváženo 100 mg fenolu a doplněno destilovanou vodou po rysku. Vznikl roztok o hmotnostní koncentraci 100 mg/ L a molární koncentraci 1,063 mmol/L.

Do elektrolytické nádobky s magnetickým míchadélkem bylo odměřeno 50 mL 0,2 M KBr a 50 mL 1 M H_2SO_4 a do prostoru pomocné elektrody roztok H_2SO_4 o koncentraci 1 mol/L. Následně byly propojeny elektrody s interfacem a nádobka uzavřena plastikovou hlavou s elektrodami. Poté byl za pomoci programu Coulometry ztitrován nejprve čistý roztok a nakonec roztok fenolu, kterého se pipetovalo 200, 400, 600, 800 a 1000 μL. Generační proud byl nastaven na hodnotu 3 mA a konečný indikační proud na hodnotu 0,15 μA.

Z obrázku č. 1 je patrné, že se zvyšujícím se množství fenolu se zvyšuje počet vyměňovaných elektronů, z čehož vyplývá, že reakce není dostatečně reprodukovatelná za daných experimentálních podmínek. Na základě těchto experimentů, byla coulometrická titrace jako jedna z metod pro stanovení fenolu opuštěna.



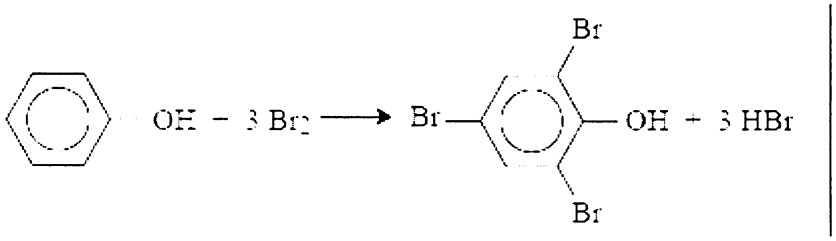
Obrázek č. 1 Graf závislosti počtu vyměňovaných elektronů (*z*) na množství coulometricky titrovaného fenolu

3.2. PRINCIP BROMOMETRICKÉ TITRACE

Stanovení fenolu je založené na substitučním působení bromu. Brom se přitom přímo v reakční směsi produkuje reakcí bromičnanu s bromidem po okyselení:

$$BrO_3^- + 5\ Br^- + 6\ H^+ \rightarrow 3\ Br_2 + 3\ H_2O$$

Vzhledem k tomu, že substituční reakce jsou relativně pomalé, působí se přebytkem bromu po předepsanou dobu podle schématu:



Přebytek bromu se určí jodometricky titrací thiosíranem sodným. Výhodou je možnost citlivé a velmi selektivní indikace konce titrace na škrob jako indikátor [8]:

$$Br_2 + 2\,I^- \rightarrow 2\,Br^- + I_2$$

$$I_2 + 2\,S_2O_3^{2-} \rightarrow 2\,I^- + S_4O_6^{2-}$$

3.2.1. PŘÍPRAVA ODMĚRNÉHO ROZTOKU $Na_2S_2O_3$ A JEHO STANDARDIZACE NA $KBrO_3$

Základní látkou pro standardizaci odměrného roztoku thiosíranu sodného je bromičnan draselný. $KBrO_3$ se nejprve převede přídavkem nadbytku jodidu na odpovídající množství jódu.

$$BrO_3^- + 6\,I^- + 6\,H_3O^+ \rightarrow 3\,I_2 + Br^- + 9\,H_2O$$

Vzniklý I_2 se poté titruje thiosíranem sodným na roztok škrobu:

$$I_2 + 2\,S_2O_3^{2-} \rightarrow 2\,I^- + S_4O_6^{2-}$$

K vypočítané navážce 12,4 g thiosíranu sodného bylo přidáno 0,5 g Na_2CO_3 jako stabilizátor rozkladu thiosíranu a doplněno destilovanou vodou do 2000 mL odměrné baňky po rysku [13]. Takto připravený odměrný roztok $Na_2S_2O_3$ byl standardizován pomocí $KBrO_3$.

Pro standardizaci odměrného roztoku thiosíranu sodného bylo odpipetováno 25 ml zásobního roztoku $KBrO_3$, připraveného z 20,91 mg $KBrO_3$ naváženého na analytických vahách s přesností na dvě desetiny mg a doplněno destilovanou vodou do 250 mL odměrné baňky. Dále byly do jodové baňky přidány 2 g pevného jodidu draselného, 10 mL H_2SO_4 (c = 2 mol/L) pro okyselení a zředěno cca 150 mL destilované vody. Roztok byl důkladně promíchán a po chvíli zhnědlý roztok titrován odměrným roztokem thiosíranu sodného do slabě oranžového odstínu. Poté bylo přidáno 10 mL škrobu jako indikátoru a roztok byl dotitrován do odbarvení.

Správná koncentrace odměrného roztoku thiosíranu sodného byla vypočtena z navážky zásobního roztoku bromičnanu draselného, spotřeby odměrného roztoku a titrační stechiometrie. Spotřeby standardizovaného roztoku $Na_2S_2O_3$, jeho přesná koncentrace a faktor jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2 Spotřeba standardizovaného roztoku $Na_2S_2O_3$, přesná koncentrace roztoku $Na_2S_2O_3$, jeho faktor a průměrné hodnoty

Číslo stanovení	Spotřeba $Na_2S_2O_3$ mL	Koncentrace $Na_2S_2O_3$ mol/L	Faktor odměrného roztoku
1	15,1	0,04975	0,9950
2	15,0	0,05008	1,0016
3	15,0	0,05008	1,0016
Průměrná hodnota	15,03	0,04997	0,9994

3.2.2. PŘÍPRAVA VZORKU FENOLU A JEHO BROMOMETRICKÉ STANOVENÍ

Pro potřebu bakalářské práce byl připraven vzorek fenolu tak, aby se spotřeba odměrného roztoku $Na_2S_2O_3$ na jeho titraci pohybovala okolo 17 mL. Do 1000 mL odměrné baňky bylo naváženo 100 mg fenolu a doplněno destilovanou vodou po rysku. Vznikl roztok o hmotnostní koncentraci 100 mg/L a molární koncentraci 1,063 mmol/L.

Z kapalného vzorku obsahujícího fenol bylo odpipetováno nedělenou pipetou 20 mL vzorku do jodové baňky, dále bylo přidáno 10 mL 0,1667 mol/L roztoku $KBrO_3$ a 0,084 mol/L KBr, (připraveného navážením 2,7836 g $KBrO_3$ a 10 g KBr a doplněného destilovanou vodou do 1000 mL odměrné baňky). Do jodové baňky bylo následně přidáno odměrným válcem 10 mL 2 mol/L H_2SO_4. Baňka byla ihned uzavřena zátkou a roztok ponechán stát 10 minut. Poté bylo přidáno 10 mL 10% KI a obsah baňky za občasného promíchávání ponechán stát dalších 10 minut. Poté byl uvolněný jód titrován standardním odměrným roztokem $Na_2S_2O_3$ o koncentraci 0,05 mol/L a faktoru f = 0,9994 na škrob do odbarvení, který byl do titrovaného roztoku přidán až těsně před bodem ekvivalence [14]. K výpočtu hmotnostní koncentrace fenolu byl použit vztah:

$$c_m = \left(c(KBrO_3) \cdot V(KBrO_3) - c(Na_2S_2O_3) \cdot f(Na_2S_2O_3) \cdot \frac{V(Na_2S_2O_3)}{6} \right) \cdot M_h(\text{fenol}) \cdot \frac{1000}{20}$$

kde:

$c(KBrO_3)$ je molární koncentrace odměrného roztoku bromičnanu draselného; $V(KBrO_3)$ je objem přidaného odměrného roztoku bromičnanu draselného; $V(Na_2S_2O_3)$ je objem titračního činidla thiosíranu sodného; $f(Na_2S_2O_3)$ je faktor odměrného roztoku thiosíranu sodného; $c(Na_2S_2O_3)$ je molární koncentrace thiosíranu sodného a M_h(fenol) je molární hmotnost fenolu.

3.2.3. STANOVENÍ VZORKU FENOLU O HMOTNOSTNÍ KONCENTRACI 100 mg/L

Po přípravě vzorku fenolu o této koncentraci byl obsah fenolu v tomto vzorku 10x po sobě stanoven bromátometricky. Spotřeba titračního činidla $Na_2S_2O_3$ $V(Na_2S_2O_3)$, stanovený obsah fenolu pro 10 paralelních stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 3. Ze statistického zpracování výsledků obsahu fenolu uvedených v této tabulce vyplývá, že vzorek obsahoval 98,05 ± 0,63 mg/L fenolu s relativní směrodatnou odchylkou RSD 0,9%, což je nízká odchylka a měření je opakovatelné.

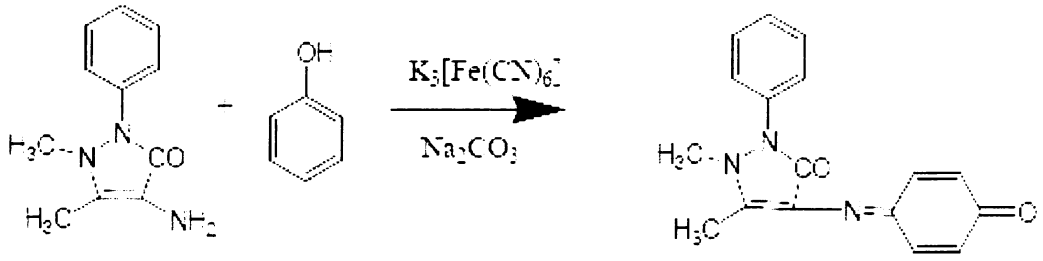
Tabulka č. 3 Spotřeby standardního roztoku $Na_2S_2O_3$ $V(Na_2S_2O_3)$ a obsah fenolu ve vzorku fenolu o hmotnostní koncentraci 100 mg/L

Číslo stanovení	V ($Na_2S_2O_3$) mL	Stanovený obsah mg/L
1	17,50	98,60
2	17,50	98,60
3	17,50	98,60
4	17,50	98,60
5	17,50	98,60
6	17,55	96,64
7	17,50	98,60
8	17,57	94,86
9	17,50	98,60
10	17,52	97,82

3.3. PRINCIP SPEKTROFOTOMETRICKÉHO STANOVENÍ

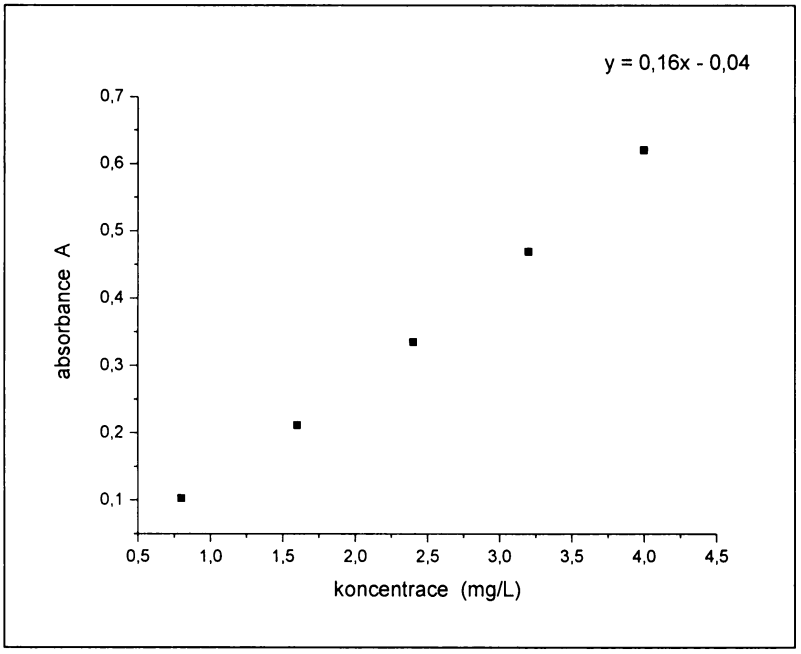
3.3.1. SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ FENOLU POMOCÍ 4-AMINOANTIPYRINU

Základem tohoto spektrofotometrického stanovení je reakce fenolu s 4-aminoantipyrinem (4-amino-2,3-dimethyl-1-fenyl-3-pyrazolin-5-on) v alkalickém prostředí v přítomnosti hexakynoželezitanu draselného za vzniku červeného barviva chinoidní struktury podle schématu [8]:

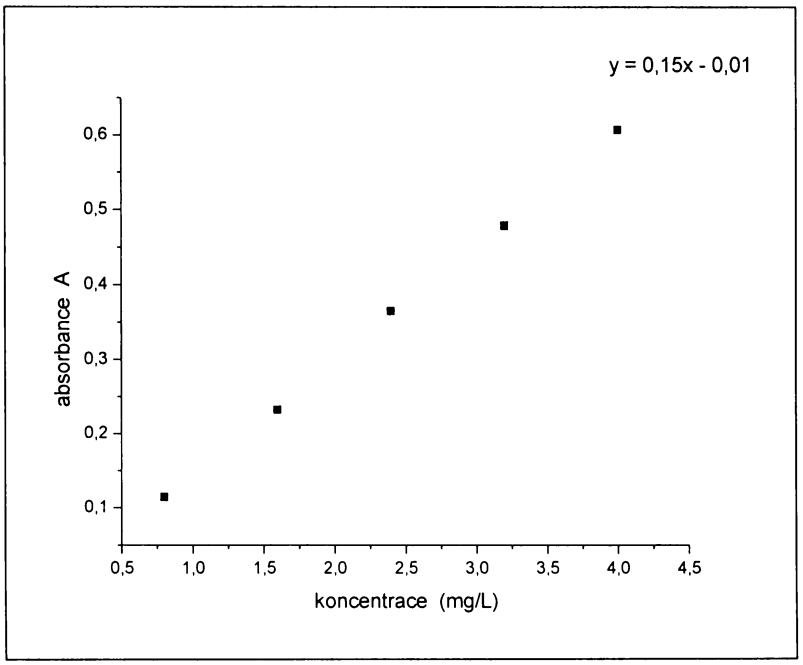


3.3.1.1. KALIBRAČNÍ KŘIVKY

Nejprve bylo odpipetováno do 25 ml odměrných baněk 2, 4, 6, 7 (pro spektrofotometr Marcel Miny), 8, 10 mL standardního roztoku fenolu o koncentraci 10 mg/L, dále bylo přidáno 0,5 ml 2%-ního roztoku 4-aminoantipyrinu a doplněno téměř po značku roztokem uhličitanu sodného. Poté bylo přidáno 0,25 ml 8%-ního $K_3[Fe(CN)_6]$ a doplněno po značku 0,05%-ním roztokem uhličitanu sodného. Roztok byl důkladně protřepán [8]. Po 5 minutách byla proměřena absorpční křivka červeně zbarveného roztoku od 400 nm do 700 nm proti slepému vzorku. Srovnávacím slepým vzorkem se myslí roztok obsahující všechny složky ve stejném množství s výjimkou stanovované látky fenolu. Byla zjištěna hodnota λ_{max} standardního roztoku fenolu a sestrojeny kalibrační křivky pro spektrofotometry Agilent Technologies a Marcel Miny uvedené na obrázcích č. 2 a 3.



Obrázek č. 2 Kalibrační křivka fenolu vybarveného 4-aminoantipyrinem měřená na spektrofotometru Marcel Miny při vlnové délce 507 nm



Obrázek č. 3 Kalibrační křivka fenolu vybarveného 4-aminoantipyrinem měřená na spektrofotometru Agilent Technologies při vlnové délce 505 nm

3.3.1.2. PŘÍPRAVA VZORKU FENOLU A JEHO SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ

Pro potřebu bakalářské práce byl připraven vzorek fenolu o koncentraci 10 mg/L. Z tohoto kapalného vzorku bylo odpipetováno nedělenou pipetou 5 ml do 25 mL odměrných baněk a přidána ostatní činidla. Po důkladném promíchání a po 5 minutovém stání byla změřena hodnota absorbance takto připravených 10 roztoků vzorků na spektrofotometru Marcel Miny a spektrofotometru Agilent Technologies. Hodnoty absorbance a obsah fenolu v hmotnostní koncentraci pro deset paralelních stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 4 a 5. Ze statistického zpracování výsledků obsahu fenolu uvedených v těchto tabulkách vyplývá, že vzorek obsahoval 9,92 ± 0,06 mg/L fenolu s relativní směrodatnou odchylkou RSD 0,8% pro spektrofotometr Marcel Miny a 9,58 ± 0,04 mg/L fenolu s relativní směrodatnou odchylkou RSD 0,7% pro spektrofotometr Agilent Technologies.

Tabulka č. 4 Absorbance vzorku fenolu a jeho stanovená koncentrace na spektrofotometru Marcel Miny po vybarvení 4-aminoantipyrinem

Číslo měření	Absorbance	Koncentrace mg/L
1	0,280	9,907
2	0,284	10,030
3	0,276	9,783
4	0,278	9,845
5	0,281	9,988
6	0,280	9,907
7	0,276	9,783
8	0,280	9,907
9	0,284	10,030
10	0,281	9,988

Tabulka č. 5 Absorbance vzorku fenolu a jeho stanovená koncentrace na spektrofotometru Agilent Technologies po vybarvení 4-aminoantipyrinem

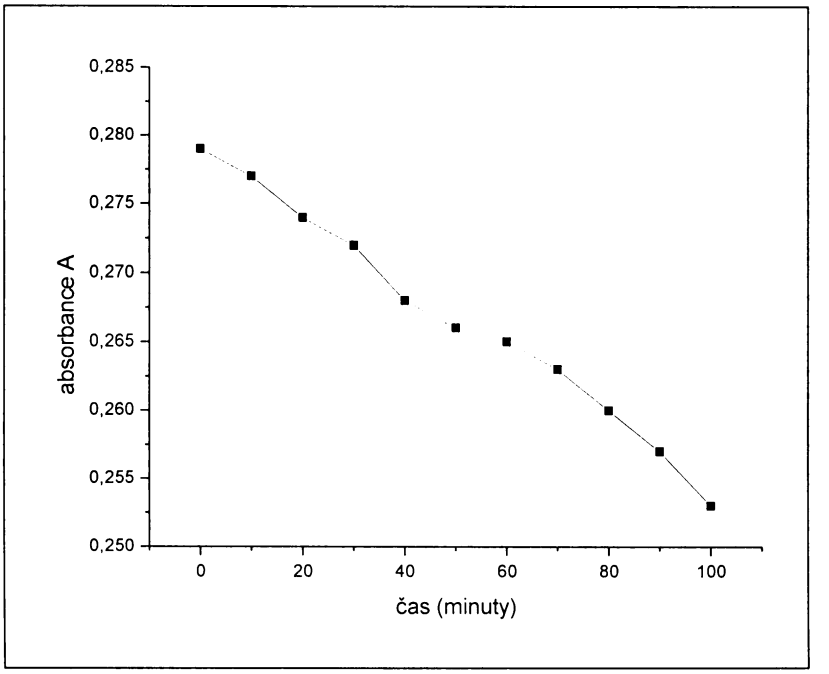
Číslo měření	Absorbance	Koncentrace mg/L
1	0,281	9,444
2	0,286	9,607
3	0,285	9,574
4	0,287	9,639
5	0,286	9,607
6	0,282	9,477
7	0,287	9,639
8	0,285	9,574
9	0,286	9,607
10	0,287	9,639

3.3.1.3. STANOVENÍ ČASOVÉ STÁLOSTI VZORKU

Z kapalného vzorku fenolu o koncentraci 10 mg/L bylo odpipetováno nedělenou pipetou 5 mL vzorku do 25 mL odměrné baňky a byla přidána ostatní činidla. Byla sledována časová závislost stálosti 4-aminoantipyrinu po reakci s fenolem v přítomnosti hexakyanoželezitanu draselného a uhličitanu sodného na čase, měřeného po 10 minutách, po celkovou dobu 100 minut na spektrofotometru Marcel Mini, jež je uvedená na obrázku č. 4. Z měření uvedených na obrázku č. 4 a v tabulce č. 6 vyplývá, že ve sledovaném čase dochází k postupnému snižování absorbance, a tím k rozkladu barevného produktu fenolu.

Tabulka č. 6 Čas v minutách a absorbance vzorku fenolu vybarveného 4-aminoantipyrinem měřená na spektrofotometru Marcel Miny

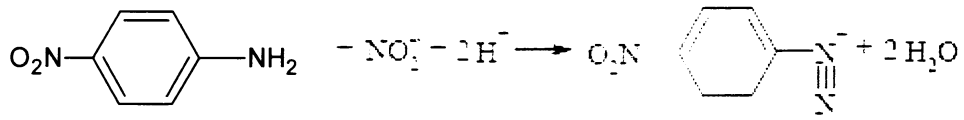
Čas minuty	Absorbance
0	0,279
10	0,277
20	0,274
30	0,272
40	0,268
50	0,266
60	0,265
70	0,263
80	0,260
90	0,257
100	0,253

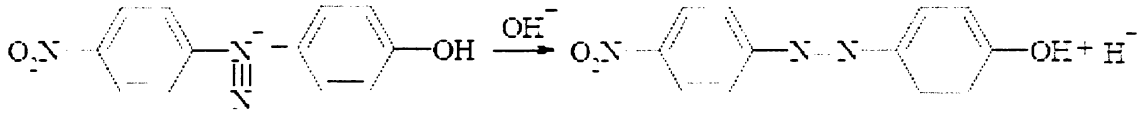


Obrázek č. 4 Graf závilosti absorbance vzorku fenolu vybarveného 4-aminoantipyrinem na čase pro spektrofotometr Marcel Miny při vlnové délce 507 nm

3.3.2. SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ FENOLU POMOCÍ P-NITROANILINU

Metoda využívá tvorby oranžových azobarviv kopulací fenolu v akalickém prostředí s diazoniovou solí p-nitroanilinu podle schématu [15]:





3.3.2.1. STANOVENÍ ČASOVÉ STÁLOSTI VZORKU

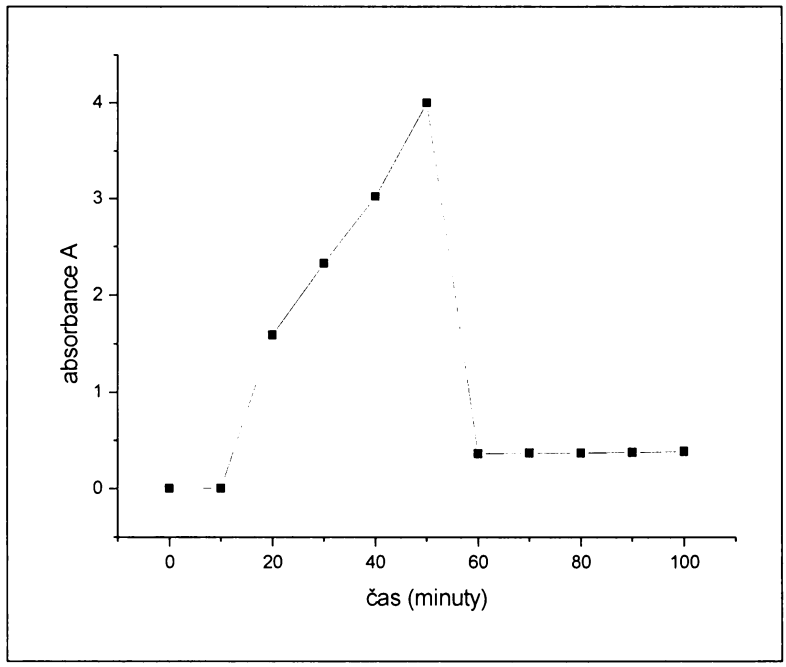
Byl připraven roztok p-nitroanilinu o koncentraci 0,005 mol/L rozpuštěním 1,38 g p-nitroanilinu ve 310 mL HCL p.a. a zředěn v objemovém poměru 1:9 a doplněn destilovanou vodou na celkový objem 2 L. Dále připraven diazotovaný roztok p-nitroanilinu, tak že do Erlenmeyerovy baňky byla přidána 1 kapka nasyceného roztoku dusitanu sodného (cca 42 g na 50 mL destilované vody) na každých 5 mL roztoku p-nitroanilinu. Vzniklý roztok byl bezbarvý.

Do do 25 ml odměrné banky bylo odpipetováno 5 mL standardního roztoku fenolu, byly přidány 2 mL 5%-ního roztoku uhličitanu sodného a směs se promíchala, dále byly přidány 4 mL diazotovaného roztoku p-nitroanilinu a doplněno po značku roztokem uhličitanu [15]. Roztok byl důkladně protřepán. Po 15 minutách byla proměřena absorpční křivka oranžově zbarveného roztoku od 400 nm do 700 nm proti slepému vzorku. Srovnávacím slepým vzorkem se rozumí roztok obsahující všechny složky ve stejném množství s výjimkou diazotovaného p-nitroanilinu (stanovení v nedestilovaném vzorku). Byla sledována časová stálost kopulovaného fenolu po 10 minutách po celkovou dobu 100 minut na spektrofotometru Agilent Technologies, jež je uvedená na obrázku č. 5 a v tabulce č. 7.

Z měření uvedeného na obrázku č. 5 vyplývá, že fenol kopulovaný s diazoniovou solí p-nitroanilinu je v čase velice nestálý, a proto není vhodný pro spektrofotometrické stanovení fenolu. Během několika minut vzniká v roztoku sraženina, která ruší stanovení a dochází k prudkému nárůstu absorbance s maximem okolo 50 minut.

Tabulka č. 7 Čas v minutách a absorbance vzorku fenolu vybarveného p-nitroanilinem, měřená na spektrofotometru Marcel Miny

Čas minuty	**Absorbance**
0	0,004
10	0,005
20	1,589
30	2,328
40	3,022
50	4,000
60	0,365
70	0,369
80	0,370
90	0,379
100	0,387



Obrázek č. 5 Graf závilosti absorbance vzorku fenolu vybarveného p-nitroanilinem na čase pro spektrofotometr Agilent Technologies

4. Závěr

Cílem bakalářské práce bylo porovnání metod stanovení fenolu ve vodě a to pomocí elektrochemické metody - coulometriké titrace, odměrné analýzy - bromometrické titrace a optické metody - molekulové absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti pomocí činidel p-nitroanilinu a 4-aminoantipyrinu na přístrojích Agilent Technologies a Marcel Mini.

Nejprve byla provedena coulometrická titrace vzorku fenolu. Bylo zjištěno, že s rostoucím množstvím fenolu dochází ke zvyšování počtu vyměňovaných elektronů, z čehož vyplývá, že reakce není dostatečně reprodukovatelná. Generované množství brómu nestačí na titraci fenolu, reakce neprobíhá stechiometricky podle rovnice, a proto z tohoto důvodu nelze tuto metodu doporučit pro stanovení fenolu ve vzorku.

Dále bylo provedeno desetkrát bromometrické stanovení obsahu fenolu ve vzorku o koncentraci 100 mg/L z odměrné baňky. Stanovený obsah fenolu ve vzorku pomocí této odměrné metody byl zjištěn 98,05 ± 0,63 mg/L s relativní směrodatnou odchylkou RSD 0,9%, měření je dobře opakovatelné.

Po dobu sta minut v desetiminutových intervalech byla sledována časová závislost stálosti 4-aminoantipyrinu po reakci s fenolem v přítomnosti hexakyanoželezitanu draselného a uhličitanu sodného na absorbanci a také časová závislost stálosti kopulovaného fenolu s p-nitroanilinem. Bylo zjištěno, že p-nitroanilin je pro spektrofotometrické stanovení fenolu nevhodným činidlem, neboť během několika minut dochází ke tvorbě sraženiny, která znemožňuje stanovení. V tomto krátkém časovém intervalu nelze dostatečně proměřit absorpční křivku, neboť dochází k prudkému nárůstu absorbance a z toho důvodu nelze proměřit ani případné vzorky fenolu. Použití 4-aminoantipyrinu pro spektrofotometrické stanovení fenolu je vhodnější. S časem klesá absorbance analyzovaného roztoku, a proto je nutné, aby spektrální analýza byla provedena v co nejkratším časovém intervalu.

Bylo provedeno desetkrát spektrofotometrické stanovení obsahu fenolu ve vzorku o koncentraci 10 mg/L. Obsah fenolu ve vzorku byl 9,92 ± 0,06 mg/L s relativní směrodatnou odchylkou RSD 0,8% pro spektrofotometr Marcel Miny a 9,58 ± 0,04 mg/L fenolu s relativní směrodatnou odchylkou RSD 0,7% pro spektrofotometr Agilent Technologies. Výše uvedené hodnoty intervalů spolehlivosti pro obě stanovení jsou

přibližně stejné a obě metody jsou dobře opakovatelné. Spektrofotometrické stanovení na spektrofotometru Marcel Miny vykazovalo výsledky bližší 100 % správnosti.

Na závěr bych chtěla dodat, že bromometrické a spektrofotometrické stanovení mají různá použití. Bromometrie je vhodná pro stanovení vyšších koncentrací fenolu ve vzorku a to nad 50 mg/L, a spektrofotometrie pro koncentrace nižší o několik řádů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Pacák J.: *Úvod do studia organické chemie*, SNTL, Praha 1982

[2] Pacák J.: *Stručné základy organické chemie*, SNTL, Praha 1978

[3] http://bezjedu.arnika.org/chemicka-latka.shtml?x=1919065 [15.5.2007]

[4] http://www.irz.cz/latky/fenoly [15.5.2007]

[5] Kolektiv katedry analytické chemie PřF: *Základní praktika z analytické chemie*, UK Praha 2004

[6] Garaj J., Bustin D., Hladký Z.: *Analytická chémia*, SNTL, Praha 1987

[7] Holzbecher Z., Churáček J. a kol.: *Analytická chemie*, SNTL/ALFA, Praha 1987

[8] http://www.geopolymer.cz/uiozp/studmat/200694132224/uloha8.doc [15.5.2007]

[9] Renger F., Kalous J.,: *Analytická chemie I.*, Univerzita Pardubice, 2004

[10] Němcová I., Čermáková L., Rychlovský P.: *Spektrometrické analytické metody I*, nakladatelstí Karolinum, Praha 2004
(ISBN 80-246-0776-X)

[11] Opekar F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z.: *Základní analytická chemie*, nakladatelství Karolinum, Praha 2003
(ISBN 80-246-0553-8)

[12] Červinka O., Dědek V., Ferles M.: *Organická chemie*, SNTL/SVTL, Praha 1969

[13] Šrámek V., Kosina L.: *Analytická chemie*, FIN, Olomouc 1996
(ISBN 80-7182-005-9)

[14] Šimek Z., Mašek I., Voznica P. a kol.: *Kvantitativní analýza, praktikum z analytické chemie I, II vybrané postupy gravimetrie, volumetrie, optických, elektrochemických a separačních metod*, Vysoké učení technické, Brno, 1996
(ISBN 80-214-1297-6)

[15] Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*, SNTL/ALFA, Praha 1986