PASPort®

CHEMIE

4

• CHEMIE

laboratorní cvičení č. 4

rev. 1.1

Stanovení koncentrace látky v roztoku

Co takhle vzít si na pomoc světlo?

Obsah

Úvod 2
Cíle 2
Teoretický úvod 3
Praktické provedení 4
Motivace studentů 5
Doporučený postup 5
Teoretická příprava úlohy 6
Materiály pro studenty 6
Záznam dat 6
Analýza 6
Syntéza/závěr 7
Hodnocení 7
Internetové odkazy 8
Pracovní návod 9
Zadání úlohy 9
Pomůcky 9
Bezpečnost práce 10
Teoretický úvod 10
Příprava úlohy 12
Postup 12
Nastavení HW a SW 12
Kalibrace spektrofotometru 12
Příprava roztoků a měření absorbance 12
Zaznamenávání dat 13
Analýza výsledků 14
Pracovní list učitele 15
Slovníček pojmů 15
Teoretická příprava úlohy 16
Vizualizace naměřených dat 16
Vyhodnocení naměřených dat 16
Závěr 17
Pracovní list studenta 18
Slovníček pojmů 18
Teoretická příprava úlohy 18
Vizualizace naměřených dat 19
Vyhodnocení naměřených dat 19
Závěr 20

PASCO®

Zařazení do výuky

Experiment je vhodné zařadit v rámci učiva o ***vlastnostech látek*** (koncentrace), analytické chemii (***instrumentální metody***, ***analýza kvantitativní***), sledování ***koncentrace látek v životním prostředí*** a dalších.

Tip

Ve vyšších ročnících je vhodné zařadit variantu experimetu směřující ke stanovení koncentrace určité látky obsažené např. v zelenině, v půdě, v povrchové vodě, atd.

Časová náročnost

Dvě hodiny (**2 × 45 min**).

Čas včetně přípravy, úvodní diskuze a vyhodnocení výsledků skupin se závěrečnou diskuzí.

Chemikálie

• ***Dusičnan měďnatý*** $Cu(NO_3)_2$ *se skladuje v dobře uzavřených nepoškozených obalových jednotkách v krytých a větraných prostorách. Nedovoluje se společné skladování s lehce zápalnými a hořlavými látkami.*

R 20–34

S 26–27–36/37/39–45/61

Souhrn:

Zdraví škodlivý při požití

Dráždí oči a kůži

Zabraňte uvolnění do životního prostředí

Nebezpečnost: X_i

Úvod

V rámci následujícího laboratorního cvičení se studenti seznámí s jednou z metod stanovení koncentrace rozpuštěných látek. Ke stanovení využijeme spektrofotometr, pomocí kterého jsme schopni stanovit míru pohlcování (absorbci) světla o určité barvě (vlnové délce). S využitím roztoků o známe koncetraci sestavíme kalibrační křivku. Z experimentu odvodíme závislost mezi absorbancí a koncentrací stanovované látky. Následně využijeme zjištěné skutečnosti ke stanovení koncentrace látky v neznámém vzorku.

Cíle

Studenti by měli zvládnout:

- použít odpovídající instrumentální vybavení (spektrofotometr Pasco) k určení absorbance v roztocích o známé a neznámé koncentraci stanovované látky,
- (*zvolit adekvátní vlnovou délku (barvu) světla, při které budeme měření provádět*),
- analyzovat výsledky měření známých koncentrací z předloženého grafu (závislost absorbance na koncentraci),
- sestavit kalibrační křivku z naměřených hodnot absorbancí roztoků známých koncentrací,
- proměřit absorbance vzorků o nezmámé koncentraci,
- využít kalibrační křivku k určení koncentrace neznámého vzorku.

Teoretický úvod

Použitá spektrofotometrická metoda je založena na **Lambertově-Beerově zákonu**, který definuje vztah mezi absorbcí světla a vlastnostmi určité látky, kterou světlo prochází. Tato zákonitost byla, v různých podobách, nezávisle formulována *Pierrem Bouguerem* v roce 1729, *Johannem Heinrichem Lambertem* v roce 1760 a *Augustem Beerem* v roce 1852.

Piere Bouguer již v roce 1729 pozoroval a popsal různou míru zeslabení světla procházejícího přes sklo různé tloušťky.

Následně v roce 1760 *J. Lambert* vyjádřil Bouguerova pozorování matematickou rovnicí, která popisuje závislost transmitance světla procházejícího určitým materiálem na délce dráhy světla v daném materiálu. Intenzita prošlého světla klesá se vzrůstající tloušťkou materiálu, přes který světlo prochází.

V roce 1852 vyjádřil *A. Beer* tzv. absorbanci světla prostředím jako logaritmus transmitance. Dále zjistil, že hodnota absorbance závisí na koncentraci látky v roztoku. Tuto závislost formuloval matematicky následujícím vztahem:

$$A_\lambda = E_\lambda \cdot l \cdot c_M \qquad (1.0)$$

kde A_λ je absorbance světla, E_λ absorbční koeficient dané látky, l je dráha světla uražená v roztoku (délka dráhy), c_M je koncentrace látky v roztoku. Pro další potřeby si tento vztah označíme jako **(1.0)**.

Absorbční koeficient E_λ nabývá různých hodnot a je specifický pro danou látku. Jeho stanovení je většinou provedeno experimentálně. Uvedený matematický vztah (1.0) je znám jako Lambertův-Beerův zákon.

Z tohoto zákona je patrná přímá závislost absorbance světla látkou na její koncentraci v roztoku a na tloušťce prostředí, ve kterém je roztok látky umístěn (kyveta). Známe-li tedy l a E_λ, můžeme stanovit koncentraci látky v roztoku na základě množství absorbovaného světla (absorbance).

Slovníček pojmů

TRANSMITANCE

LAMBERTŮV–BEERŮV ZÁKON

ABSORBANCE

Viz pracovní list (učitel).

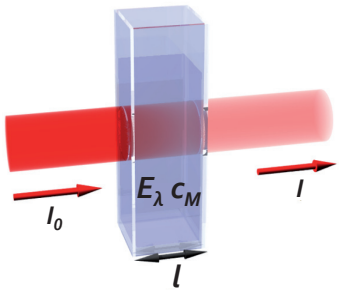
Přehled pomůcek

- počítač s USB portem
- PASPORT USB Link (Interface) nebo Xplorer
- PASPORT spektrofotometr s kyvetami (v originále nazývaný „colorimeter")
- software DataStudio
- kádinky (2 ks), 100 ml
- 0,25 M roztok $Cu(NO_3)_2$, 30 ml
- roztok $Cu(NO_3)_2$ o neznámé koncentraci, 10 ml
- skleněná tyčinka
- zkumavky (6 ks), střední
- pipety s balónkem (2 ks), 10 ml
- popisovač zkumavek (lihový fix)
- stojánek na zkumavky
- roztoky (6)
- destilovaná voda, 100 ml
- buničina
- *pracovní návod*
- *pracovní list*
- *ochranné pracovní pomůcky*

Technické pozadí

Spektrofotometr ve skutečnosti zjišťuje **transmitanci,** která je následně převedena na **absorbanci**.

Transmitanci (*T*) můžeme vyjádřit jako:



$$T = I/I_0$$

(*I* představuje množství světla, které látkou prošlo; I_0 je původní množství světla – intenzita světelného zdroje). *Jedná se tedy vlastně o způsob vyjádření zeslabení intenzity světla, které na látku dopadá. V praxi se tato hodnota často násobí 100× a vyjadřuje se v %. Ještě častější je ale její vyjádření formou absorbance.*

Vzájemný vztah **transmitance** a absorbance při určité vlnové délce **λ** je definován jako:

$$A_\lambda = -log\ (T) = E_\lambda \,.\, l \,.\, c_M$$

Hodnota E_λ *(čti epsilon lambda)* se nazývá **molární absorpční koeficient**.

Konstrukce spektrofotometru Pasco využívá jako zdroje světla LED (světelné diody), které poskytují světlo pouze určitých vlnových délek (dají se měřit současně).

Dostupné vlnové délky:
- 660 nm (červená)
- 610 nm (oranžová)
- 565 nm (zelená)
- 468 nm (modrá)

Při výběru rozšiřujících experimentů musíme mít na paměti, že nejsme schopni zvolit libovolnou vlnovou délku.

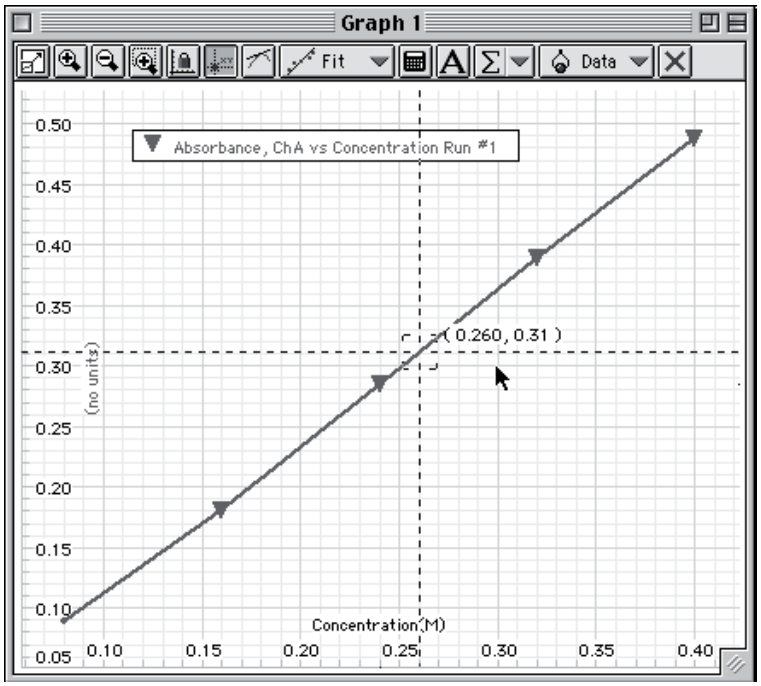
Praktické provedení

V praxi se jen velmi zřídka provádí stanovení koncentrace na základě přímého výpočtu s využitím ***l*** a E_λ. Pokud totiž použijeme ke stanovení koncentrace zařízení, které není naprosto shodné (stějně nakalibrované) jako zařízení použité k určení konstanty E_λ, vypočtená koncentrace může být zatížena značnou chybou.

Proto se v praxi častěji využívá určení koncentrace s využitím kalibrační křivky, při kterém není třeba znát konstantu E_λ ani s tloušťku ***l***.

Experimentální postup je v takovém případě následující:

- Experimentátor stanoví absorbance několika roztoků o známé koncentraci stanovované látky.
- Tyto absorbance jsou brány jako tzv. absorbance kalibračních roztoků (standardů) a jsou použity pro stanovení kalibrační křivky (graf závislosti absorbance na koncentraci).
- Pomocí sestrojené kalibrační křivky je následně možné určit neznámou koncentraci (viz následující graf).



Z naměřených absorbancí tak můžeme velice jednoduše určit neznámé koncentrace. K určení použijeme nástroj **Smart Tool** v **DataStudiu**. Souřdnice ***x*** v uvedeném případě představuje hodnotu koncentrace neznámého roz-

toku (absorbance 0,31 odpovídá koncentraci 0,26 mol/l).

Lambertův-Beerův zákon vyjadřující závislost koncentrace a absorbance je základem pro spektrofotometrická stanovení koncentrace látek v roztoku.

Motivace studentů

Zeptáme se studentů, jak můžeme zkoumat chemické látky. Jaké informace o nich můžeme zjišťovat? A k čemu můžeme získané poznatky prakticky využít?

Vysvětlíme jim Lambertův-Beerův zákon a poukážeme na vztah absorbance světla a koncentrace látky v roztoku. Z uvedeného zákona je zřejmé, že se jedná o lineární závislost absorbance na koncentraci stanovované látky v roztoku.

Zmíníme dva možné přístupy k výpočtu hodnoty koncentrace – využití absorbčního koeficientu k přímému výpočtu, nebo přístup využívající kalibrační křivku. Uvedeme výhody a nevýhody obou metod.

Pro náš experiment zvolíme postup využívající kalibrační křivku.

Doporučený postup

1. Každá pracovní skupina obdrží *„pracovní návod"* a každý student dostane *„pracovní list"*. Studenti si nejprve přečtou návod a teprve pak začnou s přípravou vlastního experimentu.
2. Dopoučujeme, aby každý člen pracovní skupiny dostal svůj spefický úkol. Pro čtyřčlennou skupinu například:
   - *student 1* – vedoucí týmu – ručí za to, že skupina bude při práci postupovat podle pracovního návodu,
   - *student 2* – koordinuje vyplňování pracovních listů a vyplněné pracovní listy vybírá (každý student si vyplní svůj pracovní list),
   - *student 3* – má na starosti sestavení/nastavení a obsluhu použitých přístrojů,

Spektrofotometrie

Pokud se chcete zabývat spektrofotometrickými metodami, nabízí Pasco pro školní potřeby výborný kompaktní diode array spektrofotometr **Red Tide** firmy **Ocean Optics**. Více informací nalezente na: *http://www.pasco.com/featured-products/ocean-optics/index.cfm*

Seznámení s úlohou

Studentům je třeba zdůraznit, aby si před započetím práce s spektrofotometrem důkladně prostudovali návod.

Konstrukce grafu

I když máte k dispozici tiskárnu a graf by bylo možné vytisknout, je vhodné požadovat vytvoření náčrtu garfu v rámci pracovního listu. Vytištěný graf je pak možné přiložit k části výsledků.

Návaznost dalších úloh

Jednotlivé laboratorní úlohy na sebe mohou navazovat. V takovém, případě je nezbytné vypracovat se studenty určitou úlohu a teprve na základě jejího zvládnutí přejít na úlohu další. Na tuto úlohu (vychází z Pasco lab. 9) navazuje úloha Pasco lab. 12. Při řešení úlohy č. 12 využijeme přímo data naměřená v této úloze. Proto není vhodné měnit podmínky, za kterých je zde stanovena kalibrační křivka.

Organizace práce

Větší efektivitu práce dosáhneme přidělením určitých rolí jednotlivým studentům (viz doporučení v rámci organizace týmové spolupráce).

První pomoc

V případě kontaktu kůže s roztokem dusičnanu měďnatého zasažené místo omyjeme prodem studené vody. Při zasažení očí provedeme vypláchnutí proudem vody a vyhledáme lékařskou pomoc.

Další vlastnosti $Cu(NO_3)_2$

Některé látky jsou schopny vázat ve své struktuře vodu. Takovým látkám říkáme, že jsou **hygroskopické**.

Dusičnan měďnatý má tyto vlastnosti také. Z tohoto důvodu je vhodné otevírat zásobní nádobu s dusičnanem měďnatým při navažování jen na nezbytně nutnou dobu a ihned poté zásobní nádobu uzavřít a vrátit do exsikátoru. Upozorněte studenty na tuto skutečnost!

Dostatečně ***hygroskopické*** látky se používají jako sušidla (např. silikagel, který můžeme najít v malém zataveném sáčku třeba v krabici s nově zakoupenou obuví).

- student 4 – obsluhuje PC (SW pro získání a zpracování dat z použitých přístrojů).

3. Připojte zařízení přes USB rozhraní k počítači (viz obrázek).

4. Vyberte odpovídající soubor DataStudia (**04_spektrofotometrie.ds**) a pokračujte podle postupu uvedeného v „pracovním návodu".

Teoretická příprava úlohy

Nechte studenty vyplnit (za domácí úkol nebo na začátku práce) slovníček a přípravnou část úlohy v „pracovním listě". Je nezbytné, aby studenti tyto části vypracovali před vlastní experimentální činností.

Zjistěte, jak studenti přípravnou část úlohy vypracovali.

Materiály pro studenty

„Pracovní návod" postupně provede studenty („krok za krokem") celou úlohou.

„Pracovní list" slouží studentům k zaznamenání získaných dat, jejich analýze a pochopení.

Záznam dat

Postup při zaznamenávání dat je popsán v „pracovním listě". Upozorněte studenty na to, že před vlastním započetím měření je třeba úloze opravdu porozumět.

Analýza dat

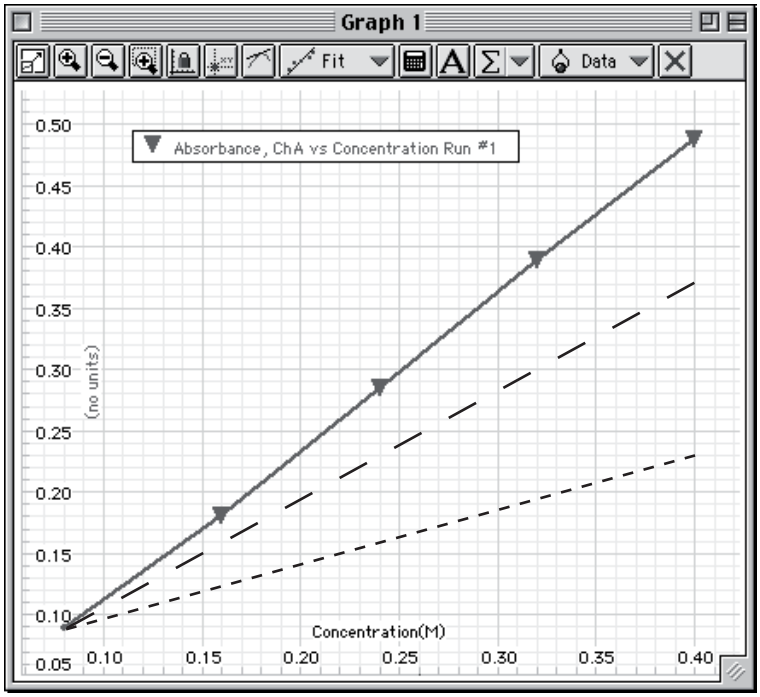
Naměřená data použijí studenti ke zodpovězení otázek v pracovním listu.

Upozorněte studenty na souhrnné otázky.

V učitelské verzi pracovního listu jsou uvedeny typické odpovědi studentů.

Syntéza a závěr

Poté, co studenti vyplní své pracovní listy, společně shrneme získané poznatky o spektrofotometrii a využití kalibrační křivky ke stanovení koncentrace neznámé látky. Můžeme také diskutovat o problematice volby správné vlnové délky světla pro konkrétní stanovovanou látku (viz graf a okrajová poznámka „*Více vlnových délek*").



Hodnocení

(Viz dříve uvedené cíle.)

- Sestavili a použili studenti laboratorní zařízení správně?
- Postupovali korektně podle pracovního postupu?
- Pochopili studenti závislost absorbance na koncentraci a její využití při stanovení koncentrace neznámé?
- Vypracovali studenti správně své pracovní listy?
- Stanovili koncentraci neznámého vzorku správně?
- Jsou studenti schopni zdůvodnit případné rozpory mezi stanovenou a skutečnou koncentrací látky?

Kalibrace detektoru

Pokud neprovedeme kalibraci detektoru spektrofotometru „na destilovanou vodu", budou se naše hodnoty dosažené absorbance lišit od ostatních skupin.

Kalibrace detektoru je první věcí, kterou je třeba před započetím měření udělat.

Příprava roztoků

Pro vyšší ročníky je vhodným rozšířením výpočet a příprava 0,25 M zásobního roztoku. Studenti si tak zopakují výpočet koncentrace a jeho praktickou přípravu (navážení pevné látky, rozpouštění, využití odměrné baňky).

Pro nižší ročníky víceletých gymnázií a ZŠ je vhodné alespoň základní 0,25 M roztok připravit. Tím průběh cvičení výrazně urychlíme.

Více vlnových délek

Zajímavou, rozšiřující, a přitom lehce proveditelnou variantou úlohy je sledování absorbance při více vlnových délkách. Jednoduchou úpravou souboru s úlohu (***04_spektrofotometrie.ds***) můžeme zobrazit (a měřit) absorbanci v rámci všech čtyř dostupných vlnových délek.

Následně můžeme se studenty odvodit, jakým způsobem souvisí barevnost látky s barvou světla, které tato látka nejvíce pohlcuje, a jak tento fakt souvisí s velikostí absorbance.

Studenti budou poté schopni odpovědět na otázku proč je v našem případě vhodné právě měření absorbance při 660 nm a ne při 468 nm.

Pasco zdroje

Na stránkách ***www.pasco.com*** a ***www.pasco.cz*** naleznete řadu dalších zdrojů.

Internetové odkazy

On-line informace o Pasco „kolorimetrickém" detektoru

http://store.pasco.com/pascostore/showdetl.cfm?&DID=9&Product_ID=53216&Detail=1

Transmitance

http://en.wikipedia.org/wiki/Transmittance

Absorbance

http://en.wikipedia.org/wiki/Absorbance

Základy „kolorimetrie"

http://en.wikipedia.org/wiki/Colorimetry

Základy spektrofotometrie

http://en.wikipedia.org/wiki/Spectrophotometry