



CHEMIE

laboratorní cvičení č. 4

4

• CHEMIE

Stanovení koncentrace látky v roztoku (návod)

Zadání úlohy

Prozkoumejte vztah mezi absorbancí světla procházejícího roztokem určité látky na koncentraci látky v tomto roztoku. Výsledný vztah použijte k určení neznámé koncentrace.

Pomůcky

- počítač s USB portem
- PASPORT USB Link (Interface) nebo Xplorer
- PASPORT spektrofotometr s kyvetami (v originále je použito označení „colorimeter“)
- software DataStudio
- kádinky (2 ks), 100 ml
- 0,25 M roztok $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, 30 ml
- roztok $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 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*

PRACOVNÍ NÁVOD



Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. S chemikáliemi zacházejte vždy dle instrukcí pedagoga. Nikdy nepipetujte ústy (vždy používejte balónek). V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí.

Teoretický úvod

Použitá spektrofotometrická metoda je založena na **Lambertově-Beerově zákonu**, který definuje vztah mezi absorbcí (pohlcením) 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:

$$A_{\lambda} = E_{\lambda} \cdot l \cdot c_M \quad (1.0)$$

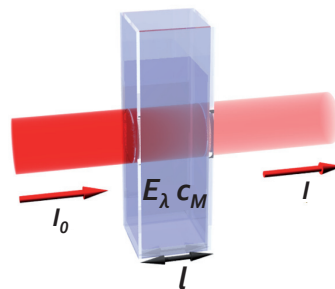
kde A_{λ} je absorbance světla, E_{λ} (čti *epsilon lambda*) je molární absorpční koeficient dané látky, l je dráha světla uražená v roztoku (délka dráhy), c_M je molární koncentrace látky v roztoku. Pro další potřeby si tento vztah označíme jako (1.0).

Absorpční koeficient E_{λ} nabývá různých hodnot a je specifický pro danou látku. Jeho stanovení je většinou provedeno experimentálně. Uvedená rovnice je známá jako **Lambertův-Beerův zákon**.

Jaký je vztah **absorbance** a **transmitance**? Transmitanci (T) můžeme vyjádřit jako:

$$T = I/I_0 \quad (1.1)$$

kde 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 použití absorbance. Vzájemný vztah **transmitance**



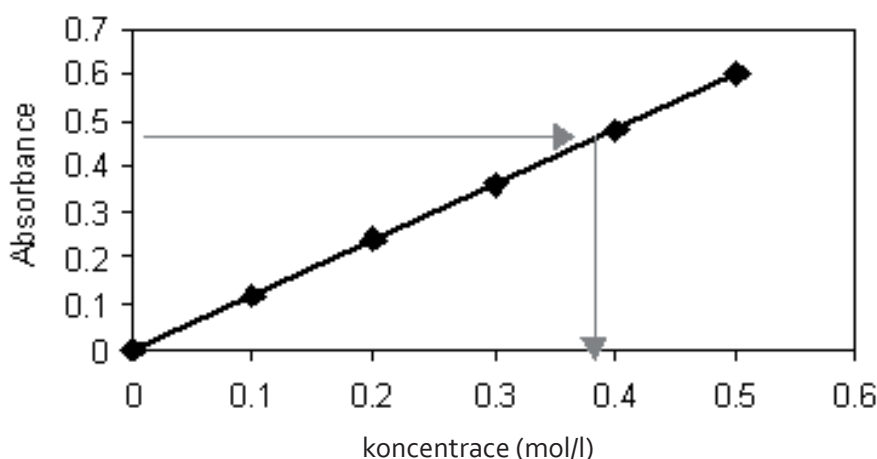
a **absorbance** při určité vlnové délce λ je definován jako:

$$A_{\lambda} = -\log(T) = E_{\lambda} \cdot l \cdot c_M \quad (1.2)$$

Z Lambertova-Beerova 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 vypočítat koncentraci látky v roztoku na základě množství absorbovaného světla (absorbance A_{λ}).

V praxi se provádí stanovení koncentrace na základě přímého výpočtu s využitím l a E_{λ} jen velmi zřídka. 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 tzv. **kalibrační křivky**, při kterém není třeba znát konstantu E_{λ} ani tloušťku prostředí l .



Ukázka kalibrační křivky a způsobu odečtu koncentrace na základě změřené hodnoty absorbance.

Při tomto způsobu stanovení koncentrace určité látky v roztoku nejprve změříme absorbance několika roztoků o známé koncentraci stanovované látky. Tyto roztoky nazýváme **kalibrační roztoky** (standards). Znamé koncentrace a změřené absorbance roztoků zaznamenejme do tabulky a následně z nich sestojíme graf závislosti absorbance na koncentraci – **kalibrační křivku**. Potom změříme absorbanci roztoku o neznámé koncentraci stejné látky. Po vynesení změřené absorbance do grafu můžeme pomocí sestojené kalibrační křivky velice jednoduše určit neznámou koncentraci (viz graf).

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

1. **V této úloze nejprve změříme absorbance několika roztoků dusičnanu měďnatého o známých koncentracích a sestojíme z nich kalibrační křivku.**
2. **Potom zjistíme absorbanci roztoku o neznámé koncentraci a pomocí získané kalibrační křivky určíme jeho koncentraci.**

Příprava úlohy (praktická příprava)

Nejprve zpracujte slovníček a teoretickou přípravu na „pracovním listě“ a teprve potom začněte pracovat v laboratoři.

Postup

Nastavení HW a SW

1. Připojte spektrofotometr přes USB rozhraní (PASSPORT USB interface nebo Xplorer) k počítači. Tím se automaticky otevře konfigurační dialog.



2. Vyberte a otevřete odpovídající konfigurační soubor DataStudia

04_spektrofotometrie.ds

Poznámka: Konfigurační soubory automaticky otevřou potřebná okna a nastaví výchozí parametry (rychlost snímání atd.). V této úloze budete měřit absorbanci červeného světla roztokem.

Kalibrace spektrofotometru

1. Naplňte kyvetu destilovanou vodou a pevně ji uzavřete víčkem. Kyvetu pečlivě otřete buničinou (popř. měkkým papírovým ubrouskem), abyste odstranili všechny nečistoty (otisky prstů, atd.).
2. Otevřete víko spektrofotometru, vložte kyvetu a víko dobře zavřete (až zacvakne).
3. Stiskněte kalibrační tlačítko na spektrofotometru. Probíhající kalibrace je signalizována rozsvícením LED (svítící dioda) v kalibračním tlačítku.
4. Počkejte, dokud LED nezhasne. Pak otevřete víko a vyjměte kyvetu. Úvodní nastavení spektrofotometru je hotovo.



Příprava roztoků a měření absorbance

1. Odměřte 30 ml 0,25 M zásobního roztoku dusičnanu měďnatého ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) do 100 ml kádinky. Do druhé 100 ml kádinky odměřte 30 ml destilované vody.
2. Označte čtyři suché čisté zkumavky čísly (1–4) a umístěte je do stojánku na zkumavky. Přidejte pátou zkumavku jako zásobní a šestou pro neznámý vzorek.

- Postupně napipetujte první pipetou 2, 4, 6 a 8 ml 0,25 M zásobního roztoku dusičnanu měďnatého do zkumavek označených čísly 1–4.
- Druhou pipetou přidejte do zkumavek 1–4 postupně 8, 6, 4 a 2 ml destilované vody.
- Každý roztok pečlivě protřepejte, případně promíchejte tyčinkou. Před vložením do dalšího roztoku tyčinku vždy pečlivě opláchněte a důkladně osušte.
- Do páté zkumavky (označené jako zásobní) napipetujte zbývajících 10 ml 0,25 M **zásobního roztoku** dusičnanu měďnatého.
- Do šesté zkumavky napipetujte 10 ml roztoku o **neznámé koncentraci**, který dostanete od vyučujícího.

Pipetované objemy a výsledné koncentrace roztoků jsou přehledně shrnuty v následující tabulce:



Zkumavka	Objem 0,25 M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$	Objem destilované vody	Koncentrace [mol/l]
1	2 ml	8 ml	0,05
2	4 ml	6 ml	0,10
3	6 ml	4 ml	0,15
4	8 ml	2 ml	0,20
zásobní	10 ml	0 ml	0,25


- Z kyvety, kterou jste používali při kalibraci spektrofotometru, vylijte vodu. Kyvetu dvakrát vypláchněte asi 1 ml 0,05 M roztoku ze zkumavky č. 1 a pak naplňte kyvetu asi 6 ml téhož roztoku. Kyvetu uzavřete.

Poznámka: S kyvetou prudce netřepte, aby se v ní neutvořily bublinky.

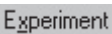

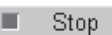
- Kyvetu pečlivě otřete buničinou (popř. měkkým papírovým ubrouskem), abyste odstranili všechny otisky prstů. Vložte kyvetu do spektrofotometru a víko dobře zavřete (až zacvakne).

Zaznamenávání dat

- Zaznamenávání dat zahajte kliknutím na tlačítko **Start** ( Start).
 - Tlačítko Start se změní na tlačítko **Keep** ( Keep). V prvním řádku tabulky absorbance a koncentrace se zobrazí první hodnota koncentrace (0,05 M) a odpovídající hodnota absorbance. Na číslicovém displeji se zobrazí změřená absorbance.
- Kliknutím na tlačítko **Keep** zaznamenejte hodnotu absorbance prvního vzorku.
- Otevřete víko spektrofotometru a vyjměte kyvetu. Vylijte roztok z kyvety (do nádoby na odpad podle instrukcí vašeho pedagoga). Kyvetu dvakrát vypláchněte asi 1 ml 0,10 M roztoku ze zkumavky č. 2 a pak naplňte kyvetu asi 6 ml téhož roztoku. Kyvetu uzavřete.



4. Kyvetu pečlivě otřete buničinou (popř. měkkým papírovým ubrouskem), abyste odstranili všechny otisky prstů. Vložte kyvetu do spektrofotometru a víko dobře zavřete.
5. Po ustálení měřené hodnoty absorbance ji opět zaznamenejte kliknutím na tlačítko **Keep**.
6. Kroky 3, 4 a 5 opakujte i se zbývajících roztoky dusičnanu měďnatého (koncentrace: 0,15 M, 0,20 M a 0,25 M).
7. Po ukončení měření absorbancí roztoků o známé koncentraci klikněte na tlačítko Stop (). Otevřete spektrofotometr, vyjměte kyvetu a roztok z kyvety vylijte.

Dalším krokem je změření absorbance roztoku o **neznámé koncentraci**.

1. Kyvetu dvakrát vypláchněte asi 1 ml roztoku o neznámé koncentraci a pak naplňte kyvetu asi 6 ml téhož roztoku. Kyvetu uzavřete.
2. Kyvetu pečlivě otřete buničinou (popř. měkkým papírovým ubrouskem), abyste odstranili všechny otisky prstů. Vložte kyvetu do spektrofotometru a víko dobře zavřete.
3. Klikněte na volbu **Experiment** () a zvolte možnost **Monitor Data** (). Sledujte hodnotu absorbance na číslcovém displeji. Jakmile se hodnota ustálí, zaznamenejte ji do „pracovního listu“. Zaznamenávání dat ukončete kliknutím na tlačítko Stop ().

Analýza výsledků

Naměřené hodnoty absorbancí si přepište do tabulky svého pracovního listu.

1. Pomocí kalibrační křivky určete koncentraci neznámého roztoku.
Tip: Klikněte na tlačítko funkce **Smart Tool** (). Ujistěte kurzor  do kalibračního grafu tak, aby hodnota na ose **y** odpovídala naměřené absorbanci neznámého vzorku a odečtěte neznámou koncentraci na ose **x**.
2. Zaznamenejte zjištěnou hodnotu koncentrace do „pracovního listu“.
3. Své výsledky v **DataStudios** uložte (nabídka **File** → **Save Activity As...**) na místo, které máte vyhrazeno k ukládání svých souborů.
4. Odpovězte na otázky v „pracovním listu“.
5. Dle instrukcí učitele ukliděte své pracovní místo.