

Stanovení koncentrace látky v roztoku

Co takhle vzít si na pomoc světlo?

Obsah

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

 **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 experimentu směřující ke stanovení koncentrace určité látky obsažené např. v zelině, 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** $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 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 koncentraci 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 neznámé 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. absorpenci světla prostředím jako logaritmus transmitance. Dále zjistil, že hodnota absorpance 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 absorpance světla, E_{λ} absorpční 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).

Absorpční 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 absorpance 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 (absorpance).

Slovníček pojmů

TRANSMITANCE

LAMBERTŮV-BEERŮV ZÁKON

ABSORBANCE

Viz pracovní list (učitel).



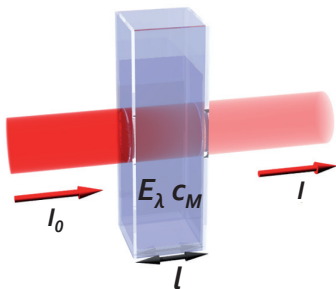
Přehled pomůcek

- 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 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, 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

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 $100\times$ 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:

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

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.

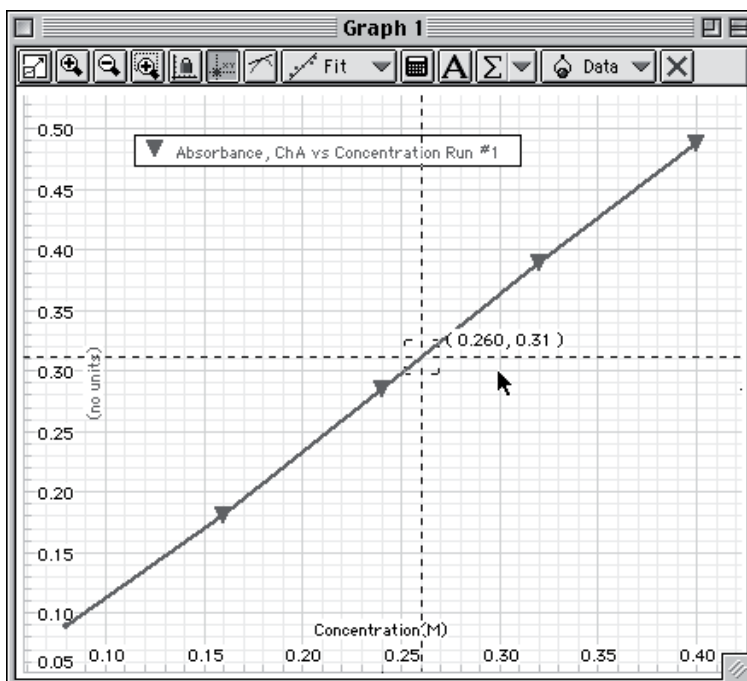
Praktické provedení

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 sestavené 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 **DataStudio**. Souřadnice 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 absorpčního 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 specifický 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 naleznete na:
<http://www.pasco.com/featured-products/ocean-optics/index.cfm>

Seznámení s úlohou

Studentům je třeba zdůraznit, aby si před započítím 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 grafu v rámci pracovního listu. Vytisknutý 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 proudem studené vody. Při zasažení očí provedeme vypláchnutí proudem vody a vyhledáme lékařskou pomoc.

Další vlastnosti **$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$**

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 započítáním měření je třeba úloze opravdu porozumět.

Analýza dat

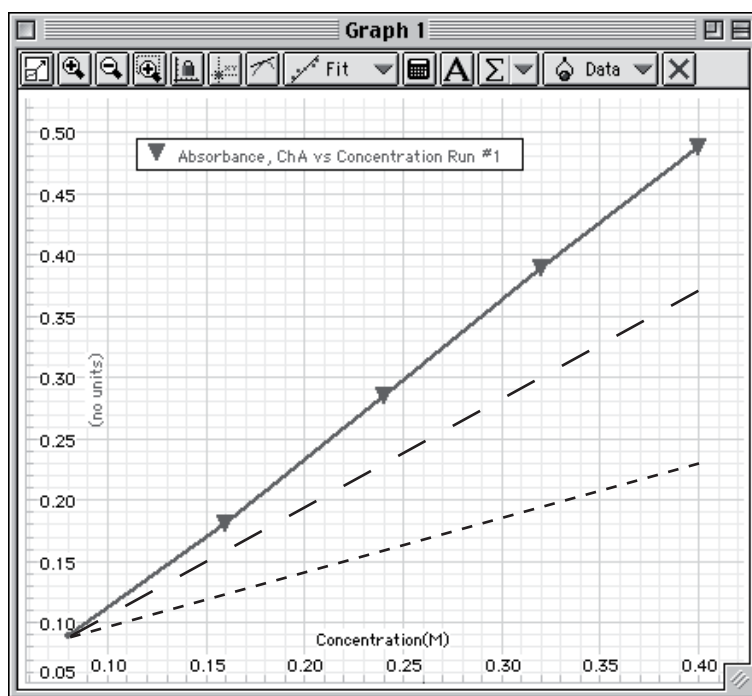
Naměřená data použijí studenti ke zodpovězení otázek v pracovním listu.

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 započítím 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

Transmittance

<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>



CHEMIE

laboratorní cvičení č. 4

4

• CHEMIE

Stanovení koncentrace látky v roztoku (návod)

Zadání úlohy

Prozkoumejte vztah mezi absorbcí 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 absorpcí (pohlčením) 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:

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

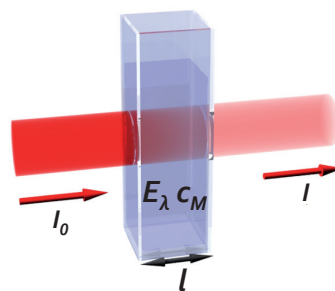
kde A_{λ} je absorbance světla, E_{λ} (čti *epsilon lambda*) je molární absorpční koeficient dané látky, l je dráha světla uražená v roztoku (délka dráhy), c_M je molární koncentrace látky v roztoku. Pro další potřeby si tento vztah označíme jako (1.0).

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**



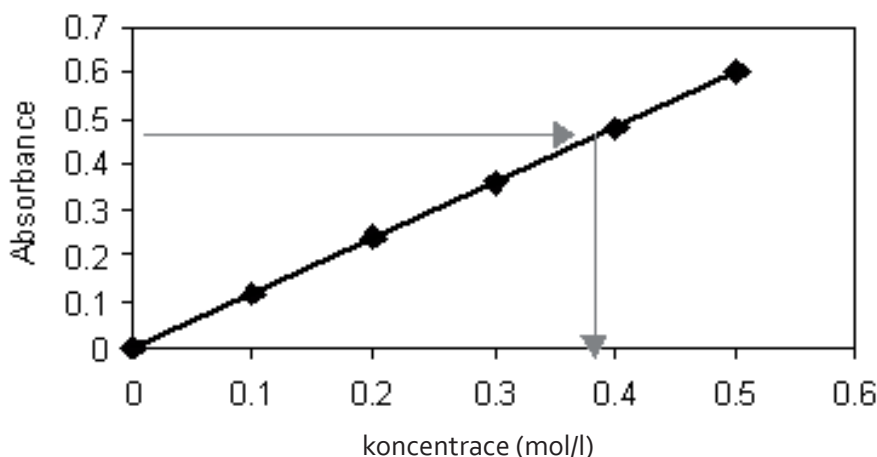
a **absorbance** při určité vlnové délce λ je definován jako:

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

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** (standarty). Znamé koncentrace a změřené absorbance roztoků zaznamenáme do tabulky a následně z nich sestrojíme graf závislosti absorbance na koncentraci – **kalibrační křivku**. Potom změříme absorbanci roztoku o neznámé koncentraci stejné látky. Po vynesení změřené absorbance do grafu můžeme pomocí sestrojené 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 sestrojíme 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 Cu(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.

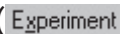

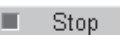
- Kyvetu pečlivě otřete buničinou (popř. měkkým papírovým ubrouskem), abyste odstranili všechny otisky prstů. Vložte kyvetu do spektrofotometru a víko dobře zavřete (až zacvakne).

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 zbývajícimi 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 číslicovém 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 uklidte své pracovní místo.

CHEMIE

laboratorní cvičení č. 4

4

• CHEMIE

Stanovení koncentrace látky v roztoku pracovní list (učitel)

Slovníček pojmů

S využitím dostupných zdrojů vysvětlete následující pojmy:



Absorbance:

veličina vyjadřující množství světla, pohlceného roztokem určité látky. Značí se velkým A a je definována v Lambertově-Beerově zákonu.

Lambertův-Beerův zákon:

definuje vztah mezi absorbcí světla a vlastnostmi určité látky, kterou světlo prochází. Hodnota absorbance závisí, mimo jiné, na koncentraci látky v roztoku. Tuto závislost můžeme popsat následujícím vztahem: $A_{\lambda} = E_{\lambda} \cdot l \cdot c_M$

kde A_{λ} je absorbance světla, E_{λ} absorpční koeficient dané látky, l je dráha světla uražená v roztoku (délka dráhy), c_M je koncentrace látky v roztoku.

Absorpční koeficient E_{λ} nabývá různých hodnot a je specifický pro danou látku. Jeho stanovení je většinou provedeno experimentálně.

Z tohoto zákona je patrná lineární závislost absorbance světla látkou na její koncentraci v roztoku.

Transmittance:

je dána podílem intenzity světla prošlého určitou látkou k intenzitě světla původního. Záporný dekadický logaritmus této hodnoty je absorbance.

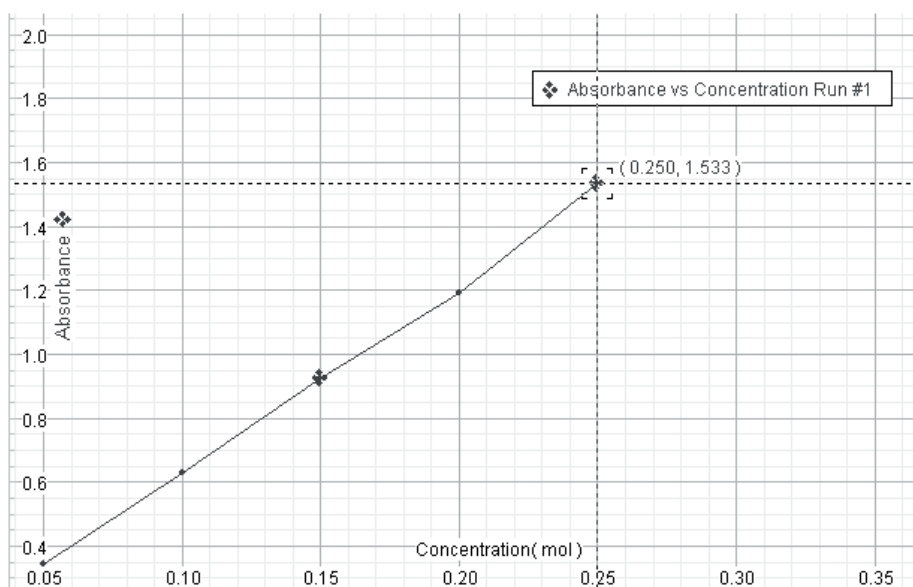
Teoretická příprava úlohy

Jakým způsobem můžeme využít k určení neznámé koncentrace vztah mezi absorbancí a koncentrací látky v roztoku?

Jedna z možných odpovědí: Neznámou koncentraci látky v roztoku můžeme zjistit pomocí kalibrační křivky, ve které máme vynesenu absorbanci proti známé koncentraci. Jednoduše tak můžeme odečíst hodnotu koncentrace pro naměřenou hodnotu absorbance vzorku o neznámé koncentraci.

Vizualizace naměřených dat

Zkonstruujte graf závislosti absorbance na koncentraci. Zaznamenejte všechny potřebné údaje a graf správně popište (osy, jednotky, ...).



Vyhodnocení naměřených dat

- Do připravené tabulky zaznamenejte naměřené hodnoty absorbancí jednotlivých roztoků a absorbanci roztoku o neznámé koncentraci.

Zkumavka	Koncentrace [mol/l]	Absorbance
1	0,05	0,343
2	0,10	0,632
3	0,15	0,921
4	0,20	1,192
zásobní	0,25	1,533
neznámý	0,13	0,747

- Určete koncentraci stanovované látky v neznámém roztoku.

*Koncentrace látky v neznámém roztoku je **0,13 mol/l**.*

Závěr

1. Která část dusičnanu měďnatého zodpovídá za modré zbarvení roztoku, je to aniont nebo kationt? (Využijte informací o různém zbarvení různých dusičnanů a různých měďnatých solí.)

*Za modré zbarvení roztoku odpovídá **kationt měďnatý**.*

2. Jaká je koncentrace dusičnanu měďnatého v neznámém roztoku?

*Zjištěná koncentrace neznámého vzorku se může pohybovat ve velkém rozpětí v závislosti na dodržení experimentálního postupu a přesnosti práce. Na základě naměřené absorbance 0,747 je koncentrace stanovované látky v roztoku asi **0,13 mol/l**.*

3. Je vaše stanovená hodnota ve shodě s hodnotou uvedenou vyučujícím?

*Vzhledem k přesnosti spektrofotometru můžeme považovat za dobrou shodu koncentrace rozmezí **od 0,12 mol/l do 0,14 mol/l***

4. Jak vysvětlíte případné odchylky stanovené koncentrace od hodnoty uvedené vyučujícím?

Některé z možností zanesení chyb:

- *nečistoty/bublínky v roztoku*
- *nečistoty na kyvetě (otisky mastných prstů)*
- *malé množství roztoku v kyvetě (kyveta musí být téměř plná)*
- *nedostatečně zasunutá kyveta při měření*
- *otevřené víko spektrofotometru při měření*
- *špatně připravené kalibrační roztoky (chyby při pipetování, špatné promíchání, ...)*
- *špatně připravený „neznámý roztok“ (chybu zanesl pedagog :-))*
- *dosažení detekčního limitu spektrofotometru (příliš velká/malá koncentrace) (Příliš velká koncentrace látky v neznámém roztoku je při stanovení problematická z toho důvodu, že použitá závislost absorbance na koncentraci je lineární pouze u zředěných roztoků)*

Pracovní list studenta

skupina:

jméno: třída: datum:

Slovníček pojmů

S využitím dostupných zdrojů vysvětlete následující pojmy:

Absorbance:

Lambertův-Beerův zákon:

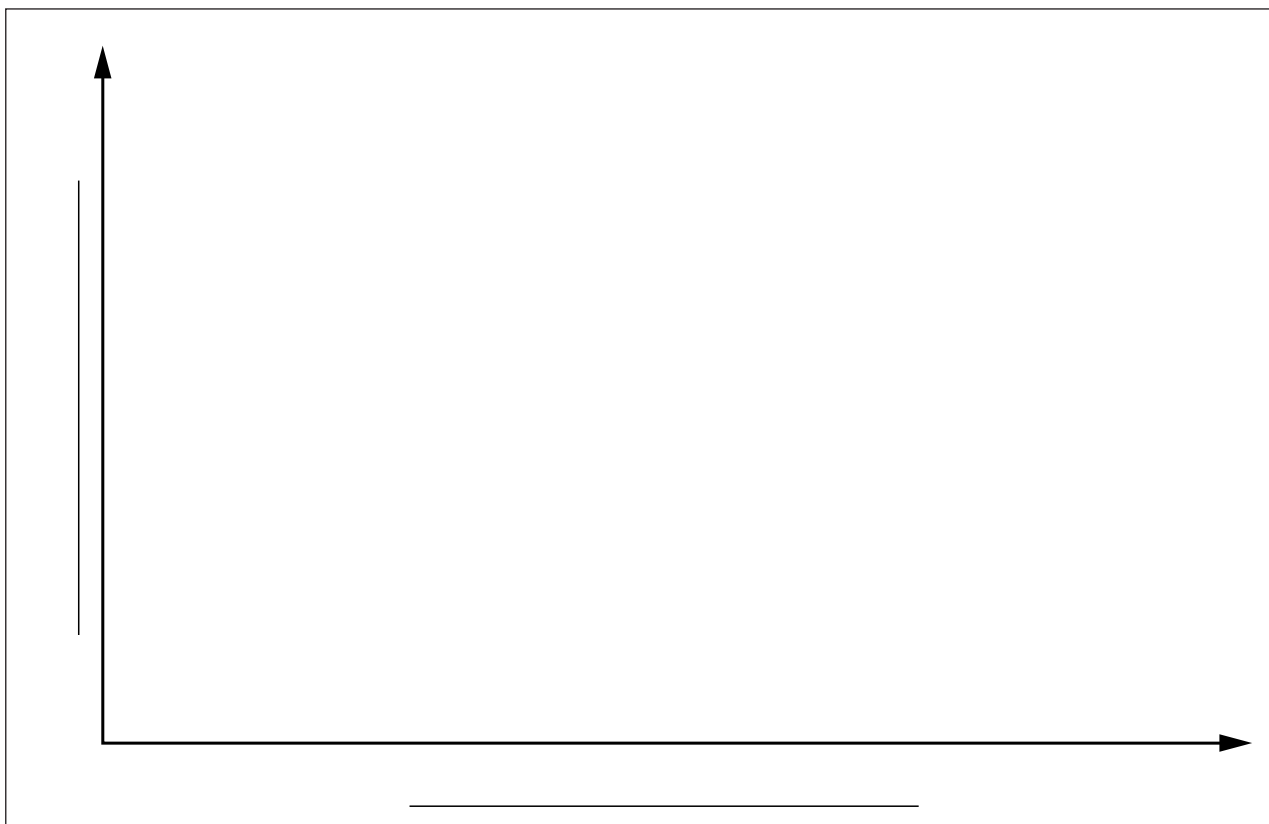
Transmittance:

Teoretická příprava úlohy

Jakým způsobem můžeme využít k určení neznámé koncentrace vztah mezi absorbancí a koncentrací látky v roztoku?

Vizualizace naměřených dat

Zkonstruuje graf závislosti absorpance na koncentraci. Zaznamenejte všechny potřebné údaje a graf správně popište (osy, jednotky, ...).



Vyhodnocení naměřených dat

1. Do připravené tabulky zaznamenejte naměřené hodnoty absorpance jednotlivých roztoků a absorpance roztoku o neznámé koncentraci.

Zkumavka	Koncentrace [mol/l]	Absorbance	poznámky
1	0,05		
2	0,10		
3	0,15		
4	0,20		
zásobní	0,25		
neznámý			

2. Určete koncentraci stanovované látky v neznámém roztoku.

Koncentrace látky v neznámém roztoku je:

Závěr a hodnocení

1. Která část dusičnanu měďnatého zodpovídá za modré zbarvení roztoku, je to aniont nebo kationt? (Využijte informací o různém zbarvení různých dusičnanů a různých měďnatých solí.)

2. Jaká je koncentrace dusičnanu měďnatého v neznámém roztoku?

3. Je vaše stanovená hodnota ve shodě s hodnotou uvedenou vyučujícím a ostatními skupinami?

4. Jak vysvětlíte případné odchylky stanovené koncentrace od hodnoty uvedené vyučujícím?