

# Stanovení isosbestického bodu bromkresolové zeleně (BKZ)

## Cíle

Cílem této laboratorní úlohy je stanovení isosbestického bodu acidobazického indikátoru bromkresolová zeleň proměřením absorpčních spekter ve viditelné oblasti roztoku indikátoru v prostředí o různém pH.

### Podrobnější rozbor cílů

- Použít odpovídající instrumentální vybavení – spektrofotometr AMADEUS.
- Připravit roztoky kyseliny chlorovodíkové o různých hodnotách pH a roztok acidobazického indikátoru bromkresolová zeleň (BKZ).
- Připravit roztoky indikátoru BKZ v prostředí o různé hodnotě pH.
- Změřit absorpční spektra roztoků BKZ v prostředí o různé hodnotě pH.
- Na základě změřených spekter určit isosbestický bod.

## Zadání úlohy

Stanovte hodnotu isosbestického bodu acidobazického indikátoru bromkresolová zeleň (BKZ) proměřením absorpčních spekter ve viditelné oblasti roztoku indikátoru v prostředí o různém pH.

### Technická úskalí, tipy a triky

Pro urychlení úlohy je praktické mít dopředu připravený roztok bromkresolové zeleně, eventuelně i roztoky HCl, tj. roztoky o různé hodnotě pH.

## Pomůcky

počítač s USB portem; diode-array spektrofotometr AMADEUS; sada plastových kyvet (PS); software Data-Studio nebo zařízení SPARK; 0,001 M roztok HCl – 25 ml; 0,1% roztok bromkresolové zeleně (BKZ) – 100 ml; destilovaná voda – 100 ml; dělené pipety 10 ml, 5 ml a 1 ml – případně automatická pipeta; pipetovací nástavec; odměrné baňky 25 ml (5 ks); odpadní kádinka 250 ml (1 ks); popisovač odměrných baněk (lihový fix); pracovní návod; pracovní list; ochranné pracovní pomůcky

### Zařazení do výuky

Laboratorní úlohu je vhodné zařadit v rámci učiva středoškolské chemie, organická chemie (barevnost látek), v kapitole praktické využití chemie – barviva, případně při rozšířené výuce – analytická chemie.

### Časová náročnost

Dvě vyučovací hodiny, tj. 2 × 45 min.

### Návaznost experimentů

Experiment může být navazující na úlohu Měření spekter barviv (přírodních nebo syntetických). Na tuto úlohu může navazovat úloha – Stanovení disociační konstanty acidobazického indikátoru.

### Mezipředmětové vztahy

fyzika – optika

## Teoretický úvod

Při kontaktu látky s elektromagnetickým zářením, tedy světlem, může dojít k pohlcení (absorpci) části světla, tj. určitých energií resp. vlnových délek světla. Tato energie je v látce využita na excitaci elektronů na vyšší energetické hladiny. Energetický rozdíl těchto hladin odpovídá absorbované energii světla podle tzv. Planckova zákona.

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

$E$  – energie absorbovaného záření, resp. energetický rozdíl hladin

$h$  – Planckova konstanta,  $h = 6,625 \cdot 10^{-34}$  J·s

$\nu$  – frekvence světla

$c$  – rychlost světla (ve vakuu  $c = 3 \cdot 10^8$  m·s<sup>-1</sup>)

$\lambda$  – vlnová délka



Obr. 1: Průchod záření vzorkem

Ze vztahu (1) vyplývá, že čím je vyšší frekvence pohlceného záření, tím je jeho energie vyšší, tedy čím má světlo menší vlnovou délku, tím je energeticky bohatší. Při absorpci světla dochází k poklesu zářivého toku, jak naznačuje obrázek 1.

Podíl zářivého toku  $I$  (po průchodu látkou) vůči původnímu  $I_0$  (před průchodem látkou) nazýváme transmittance (propustnost) a dosahuje hodnot 0–1, resp. 0–100%.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2)$$

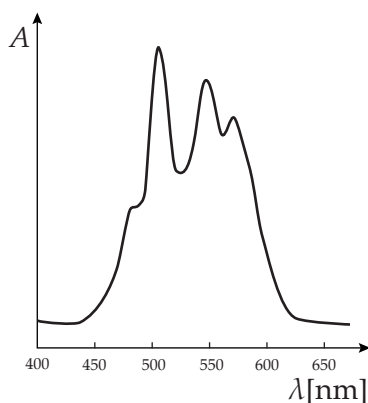
Pokud provedeme záporný logaritmus této veličiny, získáme veličinu absorbance, která charakterizuje velikost absorpce.

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I} \quad (3)$$

Tato veličina je závislá na koncentraci látky  $c$ , délce absorbující vrstvy  $l$  a na molárním absorpčním koeficientu  $\varepsilon$ , který je mj. závislý na vlnové délce. Frekvenci, resp. vlnovou délku záření, při níž nabývá  $\varepsilon$  maximálních hodnot, pak nazýváme absorpčním maximem.

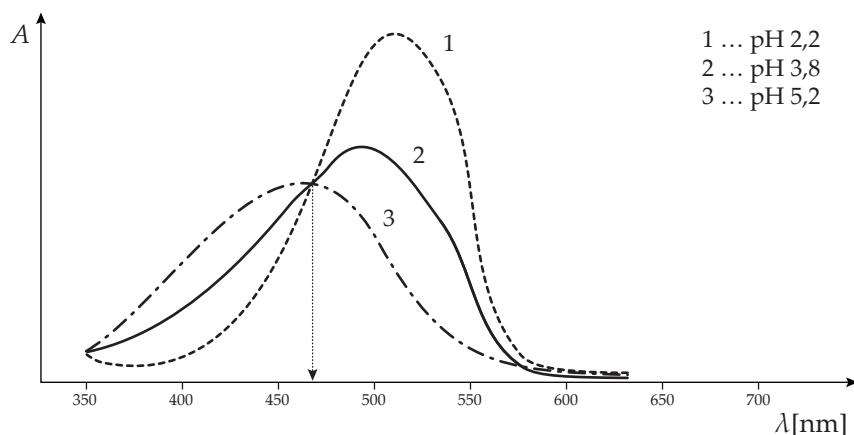
$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (4)$$

Závislost absorbance na vlnové délce potom nazýváme absorpční spektrum.



Obr. 2: Absorpční spektrum

Acidobazické indikátory jsou látky, které mění svou barvu v závislosti na pH prostředí, tato změna souvisí se změnou jejich struktury, a tedy se změnou jejich spektra. Jak můžeme vidět na obrázku 3. Jednotlivá spektra indikátoru methyloranž se mění v závislosti na pH prostředí. Absorpční maximum odpovídající vyšší vlnové délce má maximální hodnotu v silně kyselé oblasti, zatímco absorpční maximum odpovídající nižší vlnové délce odpovídá nejméně kyselému prostředí. Všechna spektra se protínají v bodě, který je charakteristický pro daný acidobazický indikátor. Tento bod se nazývá isosbestický.



Obr. 3: Absorpční spektra indikátoru methylovanž v závislosti na pH prostředí

## Motivace

Ptáme se studentů, co pozorují, když přidají do ovocného čaje nebo ovocné šťávy citrón (pozorují barevnou změnu – probarvení). Vedeme diskusi, čím je uvedená skutečnost způsobena a zda by se toho dalo nějakým způsobem využít. Můžeme volně navázat na syntetické acidobazické indikátory (methylovanž, fenolftalein) a nechat studenty uvažovat nad důvodem barevné změny všech uvedených látek (tj. změna struktury).

## Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí. K pipetování roztoku kyseliny chlorovodíkové používejte raději pipetovací nástavec.

## Příprava úlohy

Doporučujeme, aby si studenti nejprve prostudovali teoretickou část a doplnili slovníček pojmů (možno zadat i jako domácí úkol). Ověřte, že studenti přípravnou část úlohy opravdu vypracovali.

## Postup práce

### Nastavení HW a SW

Propojte řídicí jednotku AMADEUS s počítačem nebo se zařízením SPARK pomocí USB kabelu. Jeden konec světelného vodiče připojte k řídicí jednotce a druhý konec připojte ke spektrofotometru. Dále připojte ke spektrofotometru zdroj el. energie tak, jak je naznačeno na obrázku 4 na následující straně.

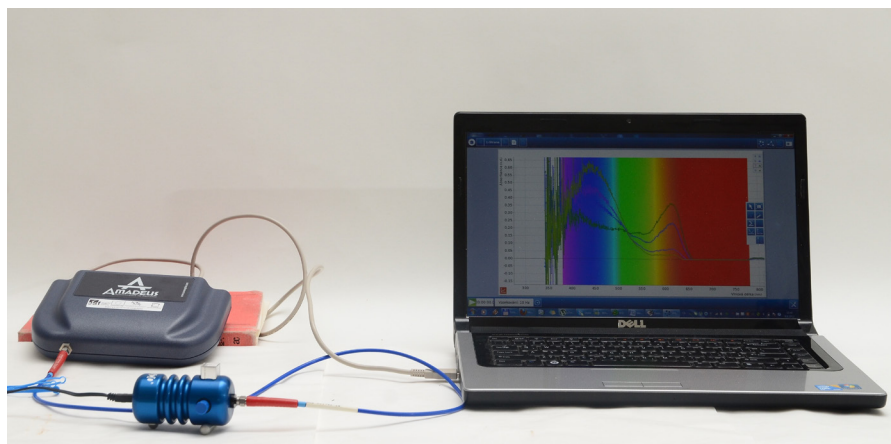
Spusťte program SPARKVUE nebo zařízení SPARK. Klikněte na tlačítko *SESTAVIT* a zvolte *VLNOVÁ DÉLKA* a *ABSORBANCE* (o. d.) a klikněte na ikonu grafu. Poté klikněte na ikonu *NÁSTROJE EXPERIMENTU* (vpravo dole), zvolte nabídku *KONFIGURACE SENZORŮ*. Do spektrofotometru vložte černý hranol s kovovou vymezovací podložkou a zvolte možnost *ULOŽIT TMAVOU*. Poté vložte do spektrofotometru prázdnou kyvetu, popř. kyvetu s destilovanou vodou a zvolte možnost *ULOŽIT REFERENCI*. Nyní máte spektrofotometr nastavený a připravený k měření.

### Technická úskalí, tipy a triky

**Kyselina chlorovodíková (HCl)** způsobuje poleptání. Dráždí dýchací orgány. Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodný ochranný oděv, ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít. V případě úrazu, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc.  
Třída nebezpečnosti C.  
R 34-37  
S 26-36/37/39-45

### Technická úskalí, tipy a triky

Pokud chcete sledovat okamžitou hodnotu absorbance, zvolte v části *SESTAVIT* volbu *ABSORBANCE* (o. d.) a klikněte na ikonu numerického formátu (čísla).

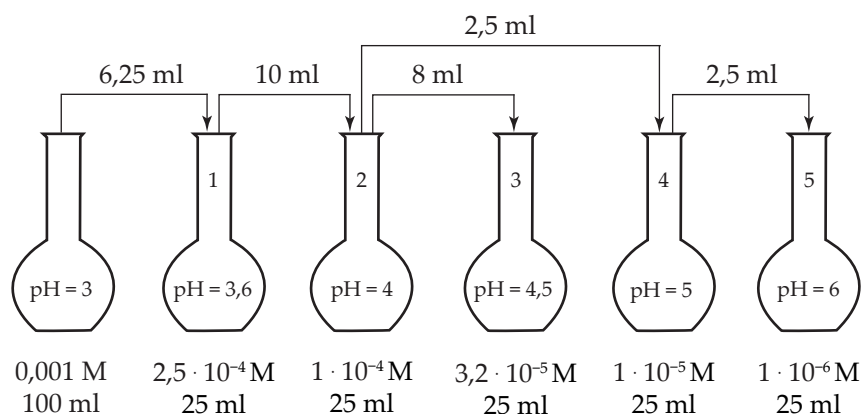


Obr. 4: Zapojení měřicí soustavy

## Příprava měření

### Příprava roztoků

- Do 25 ml odměrné baňky nalijte asi 10 ml destilované vody. Ze zásobního roztoku 0,001 M HCl odměřte 6,25 ml a toto množství převedte do baňky. Baňku mírně promíchejte, přidejte 1 ml 0,1% roztoku BKZ, doplňte destilovanou vodou po rysku a řádně promíchejte. Tímto způsobem jste připravili roztok o pH = 3,6. Tuto odměrnou baňku označte č. 1, resp. hodnotou pH.
- Další kalibrační roztoky připravte postupným ředěním tak, jak je naznačeno na obrázku 5. Roztok č. 2 o pH = 4 připravte odměřením 10 ml roztoku č. 1 do odměrné baňky č. 2, kterou doplníte po rysku a řádně promíchejte. Odměřování příslušných objemů provádějte vždy vhodnou pipetou.



Obr. 5: Schéma ředění roztoků o daném pH

### Technická úskalí, tipy a triky

Při přípravě zásobního roztoku 0,001 M HCl doporučujeme postupovat tak, že si nejprve připravíme 0,1 M HCl (0,88 ml 35% HCl na 100 ml), poté z tohoto roztoku odměříme 1 ml do 100 ml odměrné baňky. Doplněním po rysku získáme zásobní 0,001 M HCl.

Způsob postupného ředění je pro tuto úlohu výhodný. Pokud bychom vše ředili ze zásobního roztoku, byly by pipetované objemy příliš malé a dopouštěli bychom se značné chyby (experimentálně ověřeno).

Pokud např. při přípravě roztoku č. 1 budete pipetovat 6,3 ml místo 6,25 ml, nemá toto zaokrouhlení na hodnotu pH téměř vliv (3,59 místo 3,60).

Výjimku při přípravě roztoku č. 4 navrhuje proto, aby pipetovaný objem bylo „rozumné číslo“.

- Podobně si připravte roztok č. 3 o pH = 4,5, roztok č. 4 o pH = 5 (**POZOR VÝJIMKA PIPETOVÁNÍ**) a roztok č. 5 o pH = 6.

Pro přehlednost je způsob ředění uveden níže:

#### pH = 3,6 (roztok č. 1)

Odměřte 6,25 ml zásobního roztoku 0,001 M HCl, 1 ml 0,1% roztoku BKZ do 25 ml baňky a doplňte po rysku.

#### pH = 4,0 (roztok č. 2)

Odměřte 10 ml roztoku č. 1, tj.  $2,5 \cdot 10^{-4}$  M HCl, 1 ml 0,1% roztoku BKZ do 25 ml baňky a doplňte po rysku.

**pH = 4,5 (roztok č. 3)**

Odměříte 8 ml roztoku č. 2, tj.  $1,0 \cdot 10^{-4}$  M HCl, 1 ml 0,1% roztoku BKZ do 25 ml baňky a doplňte po rysku.

**pH = 5 (roztok č. 4) – POZOR VÝJIMKA**

Odměříte 2,5 ml roztoku č. 2, tj.  $1,0 \cdot 10^{-4}$  M HCl, 1 ml 0,1% roztoku BKZ do 25 ml baňky a doplňte po rysku.

**pH = 6 (roztok č. 5)**

Odměříte 2,5 ml roztoku č. 4, tj.  $1,0 \cdot 10^{-4}$  M HCl, 1 ml 0,1% roztoku BKZ do 25 ml baňky a doplňte po rysku.

- 4) Pro kontrolu je vhodné změřit hodnoty pH připravených roztoků. Postup měření pH vč. kalibrace je uveden v úloze *pH elektrolytu a hydrolyza soli*.



Obr. 6: Připravené roztoky BKZ o pH 3,6–6,0

**Vlastní měření a záznam dat**

- Do kyvety nalijte roztok č. 1, kyvetu umístěte společně s kovovou vymezovací podložkou do spektrofotometru tak, aby hladkými protilehlými stěnami procházel světelný paprsek. Klikněte na ikonu tlačítka *START* (zelená šipka vlevo dole). Okamžitě se objeví celé spektrum, po ustálení spektra klikněte na tlačítko *STOP* (stejně umístěné).
- Obsah kyvety vylijte do odpadní kádinky, kyvetu vypláchněte destilovanou vodou a poté následujícím měřeným roztokem.
- Stejný postup opakujte pro další roztoky.

**Analýza naměřených dat**

- V panelu nástrojů, v pravé části obrazovky, klikněte na ikonu šipky. Ta se zvýrazní.
- Poté klikněte do grafu na stanovený isosbestický bod, tj. na průsečík spekter.
- V horní části obrazovky se zobrazí souřadnice bodu. Vlnová délka určující isosbestický bod odpovídá souřadnici x.
- Své záznamy uložte pomocí kombinace kláves CTRL+S.

**Technická úskalí, tipy a triky**

Množství roztoku v kyvetě stačí tolik, aby paprsek světla procházel roztokem, tj. aby byla zcela zaplněna užší část kyvety.

Není nutné měřit spektra všech 5 roztoků. Postačí změřit spektra u 3–4 z připravených roztoků. Rozpětí pH od 3,6 do 6 (obrázek č. 6) je oblast barevného přechodu BKZ, což můžete studentům demonstrovat.

**Hodnocení výsledků**

- Sestavili a použili studenti měřicí aparaturu správně?
- Postupovali korektně podle pracovního postupu?
- Porozuměli studenti uvedené problematice?
- Výpracovali studenti správně své pracovní listy?
- Připravili studenti potřebné roztoky správně, tj. dosáhli barevné škály od žluté k modré?
- Stanovili studenti správně isosbestický bod a ten se shoduje s tabulkovou hodnotou?

**Syntéza a závěr**

Poté, co studenti vyplní své pracovní listy, společně shrneme získané poznatky o acidobazických indikátorech a jejich spektrech. Popíšeme souvislost mezi změnou barevnosti indikátoru a jejich strukturou prezentovanou VIS spektrem.

## Informační zdroje

- [http://www.pasco.com/prodcatalog/ps/ps-2008\\_spark-science-learning-system/index.cfm](http://www.pasco.com/prodcatalog/ps/ps-2008_spark-science-learning-system/index.cfm)
- [http://www.pasco.com/prodCatalog/SE/SE-7183\\_amadeus-spectrometer-system/](http://www.pasco.com/prodCatalog/SE/SE-7183_amadeus-spectrometer-system/)
- [http://www.pasco.com/prodCatalog/PS/PS-2102\\_pasport-ph-sensor/index.cfm](http://www.pasco.com/prodCatalog/PS/PS-2102_pasport-ph-sensor/index.cfm)
- <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/776-emise-a-absorpce-svetla>
- [http://en.wikipedia.org/wiki/Absorption\\_\(electromagnetic\\_radiation\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Absorption_(electromagnetic_radiation))
- <http://cs.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometrie>
- [http://projektalfa.ic.cz/a\\_krivka.htm](http://projektalfa.ic.cz/a_krivka.htm)