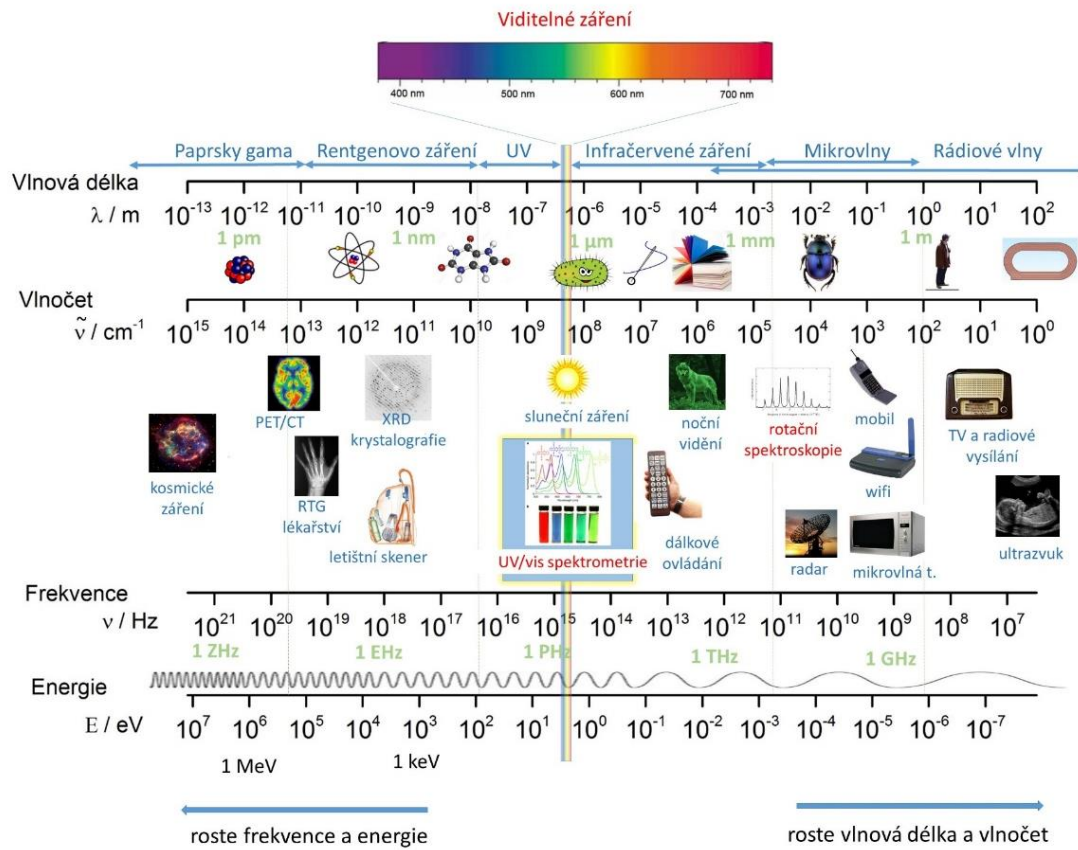
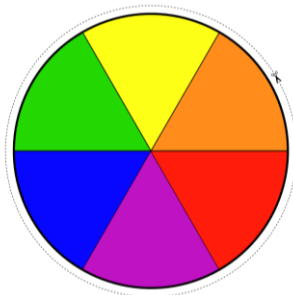


## 6. cvičení - Lambertův-Beerův zákon

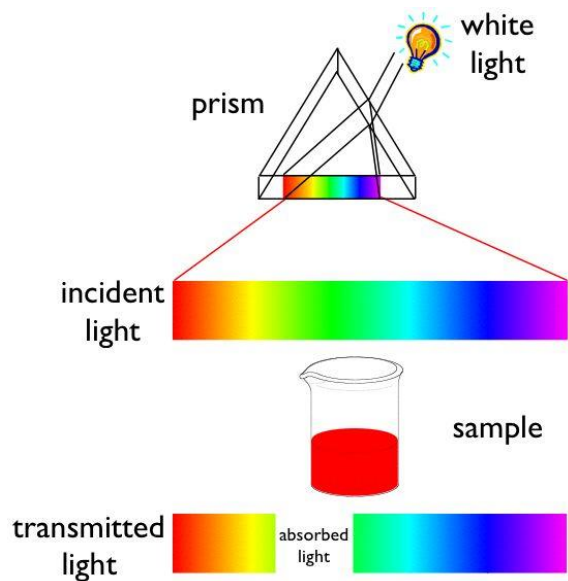
Doplňěk k teorii:



Komplementární barvy:



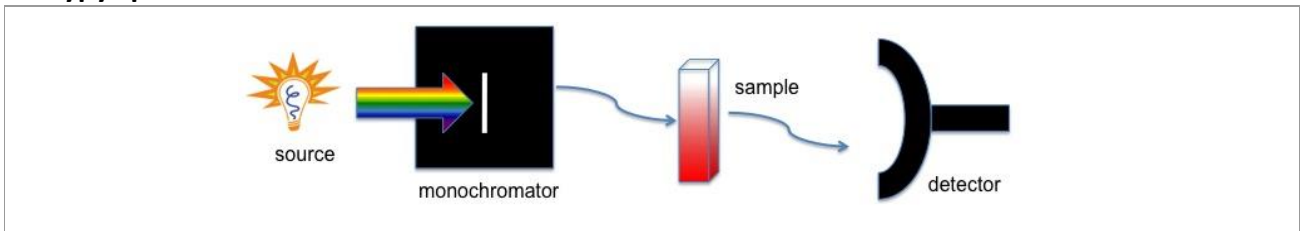
Absorbce záření barevným roztokem:



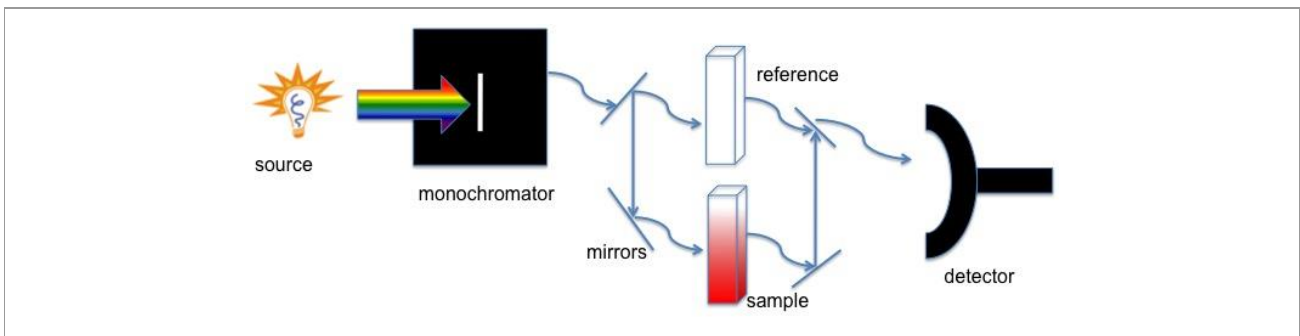
**Viditelné záření – barva a příslušná vlnová délka:**



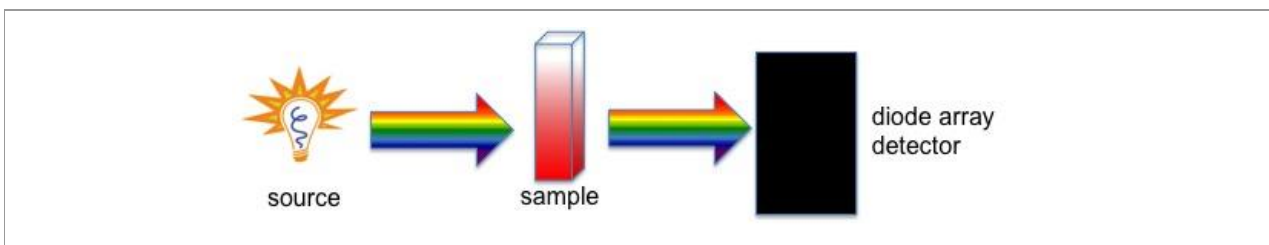
**Typy spektrofotometrů:**



**Jednopaprskový, jednokanálový UV-vis spektrofotometr – téměř se nepoužívá.**



**Dvoupaprskový, jednokanálový UV-vis spektrofotometr – časté použití, pomalejší měření, ale vysoká přesnost.**



**Jednopaprskový, mnohokanálový (CCD spektrofotometr) – časté použití, rychlé měření, horší kvalita při vysokých absorbancích.**

vztahy:

transmittance  $T$  .....  $T = \frac{I_t}{I_0}$  ,  $I_t$  intenzita záření, které prošlo vzorkem  
 $I_0$  intenzitu záření dopadající na vzorek

Lambert-Beerův zákon

$A$  ... absorbance, bez jednotek

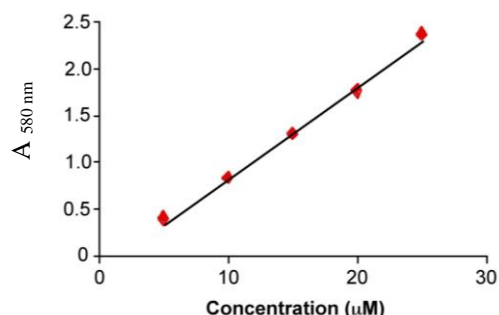
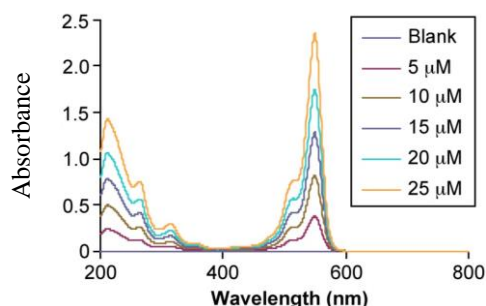
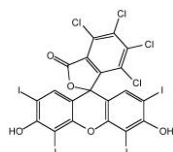
$$A = -\log_{10} \left( \frac{I_t}{I_0} \right) = -\log_{10} T = c \cdot l \cdot \varepsilon$$

$c$  ... molární koncentrace roztoku ( $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ )

$l$  ... tloušťka absorbující vrstvy, nebo-li optická šířka kyvety (cm)

$\varepsilon$  ... molární extinkční koeficient ( $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), i jiné jednotky

skripta kapitola 5



Kalibrační křivka:  $y = 0.0977x - 0.1492$

1. Na obrázku nahoře je UV-vis spektrum neznámé sloučeniny. Odhadněte, jakou bude mít barvu, jakou vlnovou délku byste použili pro sestavení kalibrační křivky, jaká je koncentrace vzorku o absorbanci 1 při 580 nm?
2. Jaká je hodnota molárního absorpčního koeficientu  $\varepsilon_{\lambda}$  pro látku, jejíž roztok o koncentraci  $3,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v kyvetě o tloušťce 5,0 cm propustil právě 50% dopadajícího světla? Uveďte v jednotkách  $\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^2$ .
3. Kolik gramů vitamínu  $D_2$  obsahuje 1 l jeho alkoholového roztoku, jestliže při spektrofotometrickém stanovení pohltil v kyvetě tloušťky 2 cm 60% při  $\lambda_{\text{max}} = 264 \text{ nm}$ . Molární absorpční koeficient vitamínu  $D_2$  je při dané vlnové délce  $1,84 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^2$  a molární hmotnost vitamínu  $D_2$  je 396 g  $\cdot \text{mol}^{-1}$ ?
4. Koncentrace vitamínu A byla zjišťována spektrofotometricky. Připravený roztok o hmotnostní koncentraci 6,0 g na 1 ml propouštěl za daných podmínek (vlnová délka, teplota, kyveta) 60% dopadajícího světla. Jaká je koncentrace vitamínu A v roztoku (v g/ml), který za stejných podmínek propustí jen 38% světla?
5. V odpadních vodách se stanovuje tzv. fenolový index, udávající množství (v ppm = mg/l) fenolických látek obsažených ve vzorku. Z uvedených dat analýzy vzorku odpadní vody vypočtete, kolik miligramů fenolu je v litru zkoumané vody: 250 ml vzorku bylo v destilační baňce okyseleno kyselinou sírovou. Uvolněný fenol byl destilací s vodní párou vypuzen a zachycen v předloze s 25 ml 0,050 M KOH. Roztok byl doplněn na 50 ml a fotometrické měření bylo prováděno při vlnové délce 287 nm ( $\lambda_{\text{max}}$  fenolátového aniontu) v kyvetě tloušťky 1 cm proti slepému pokusu. Vzorek absorboval 36,6% vstupního toku záření. Zcela stejným způsobem bylo zpracováno 10 ml standardního roztoku fenolu o koncentraci 0,001 mol  $\cdot \text{l}^{-1}$ . Absorbance tohoto roztoku byla 0,520.  $M(\text{fenol}) = 94 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

6. Molární absorpční koeficient komplexu dvojmocného železa s 1,10-fenantrolinem ( $\text{FeL}_3^{2+}$ ) při vlnové délce 508 nm je  $1,01 \cdot 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Kalibrační závislost  $A = f(c)$  je přímková a prochází počátkem. Vypočtete, kolik miligramů Fe je v 1 kg biologického materiálu, bylo-li zpopelněno 5,00 g vzorku a Fe z popelu převedeno na komplex a doplněno na objem 50 ml roztoku, který byl měřen fotometricky. V kyvetě tloušťky 2 cm byla zjištěna absorbance proti roztoku činidla 0,138.  $M(\text{Fe}) = 55,85 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- 
7. Roztok jisté barevné látky propustil za daných podmínek 70% dopadajícího světla. Jakou absorbanci naměříme, klesne-li koncentrace barevné látky v roztoku na  $\frac{1}{4}$  a použije-li se ke měření kyveta s trojnásobnou tloušťkou?
8. Naměřená hodnota transmitance standardního roztoku glukózy (1g/l) byla  $T = 0,49$ ; transmitance vzorku séra je 0,55. Jaká je koncentrace glukózy v séru (mg/l i mmol/l),  $M_r(\text{glukóza}) = 180$ .
9.  $5,00 \cdot 10^{-4} \text{ M}$  roztok komplexu niklu byl naplněn do kyvety s optickou dráhou 1,0 cm. Absorbance při 592 nm byla 0,446. Má-li roztok neznámé koncentrace tohoto komplexu niklu absorbanci 0,125 při stejné vlnové délce a ve stejné kyvetě, jaká je jeho koncentrace?
10. Naplníme-li kyvetu roztokem látky A, propustí 50% dopadajícího světla o určité vlnové délce. Naplníme-li kyvetu roztokem látky B, propustí 25% světla téže vlnové délky. Kolik světla (téže vlnové délky) propustí tato kyveta, naplníme-li ji roztokem připraveným smíšením stejných objemů obou roztoků?(Látky A a B spolu nereagují, k objemovým změnám při míšení roztoků nedochází.)