

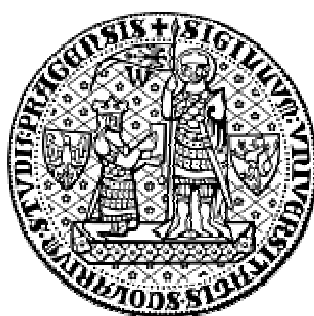
POKUSY Z OBECNÉ A FYZIKÁLNÍ CHEMIE

PRAKTIKUM

Petr Šmejkal

Eva Stratilová Urválková

Ivona Trejbalová



Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

2007

Optické metody

Analytická chemie je vědní obor, jehož cílem je využívat metody uplatňující se při chemické analýze látek či směsí. Pokud chemickou analýzou získáme informace o přítomnosti prvků nebo látek ve vzorku, jedná se o kvalitativní rozbor. V případě, že se dozvíme o množství jednotlivých prvků či látek ve směsi, hovoříme o kvantitativním rozboru. Dle způsobu provedení chemické analýzy můžeme metody dělit do několika skupin (chemické, elektrometrické, separační, optické a další).¹ My se budeme zabývat pouze metodami optickými.

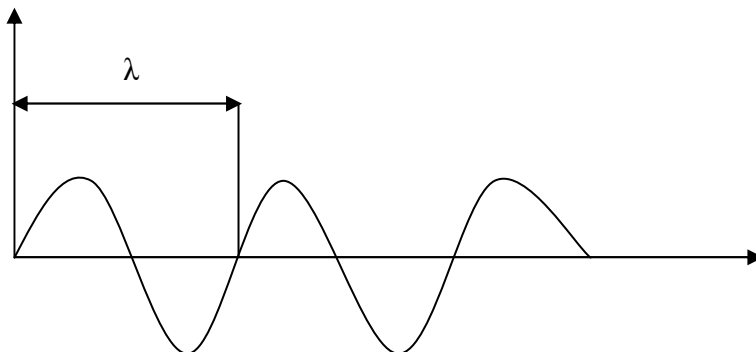
Optické metody jsou založené na interakci elektromagnetického záření se zkoumanou látkou. Můžeme je rozdělit do dvou hlavních skupin. První skupinu tvoří metody, při kterých dochází k výměně energie mezi zářením a zkoumanou látkou. Souhrnně je nazýváme jako spektroskopické nebo spektrometrické, pro UV–VIS oblast též spektrofotometrické.² Do druhé skupiny patří metody, při kterých se energie nevyměňuje a záření mění pouze své vlastnosti při prostupu látkou, jako je například stáčení roviny polarizovaného světla (polarimetrie) nebo změna rychlosti světla (refraktometrie).^{2,3}

Spektroskopie

Elektromagnetické záření je pojem používaný v optice a označuje elektromagnetické vlnění. Z výsledků studií interakce mezi hmotou a zářením byla vytvořena teorie, dle které má záření duální charakter, to znamená, že má povahu vlnovou (odráží se, láme se, ohýbá se), ale i korpuskulární (chová se jako nespojitý proud částic – fotonů).⁴ Dále se budeme zabývat pouze vlnovým charakterem záření.

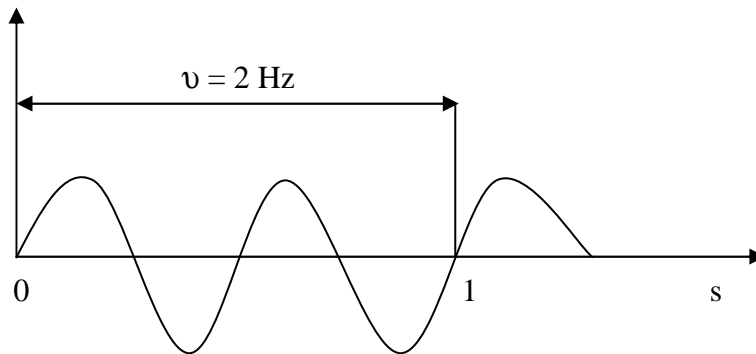
Vlnové vlastnosti tohoto záření můžeme popsat pomocí několika veličin:^{2,3}

- vlnová délka ($\lambda = 1 \text{ [m]}$) – je dráha, kterou urazí vlna během jednoho kmitu.



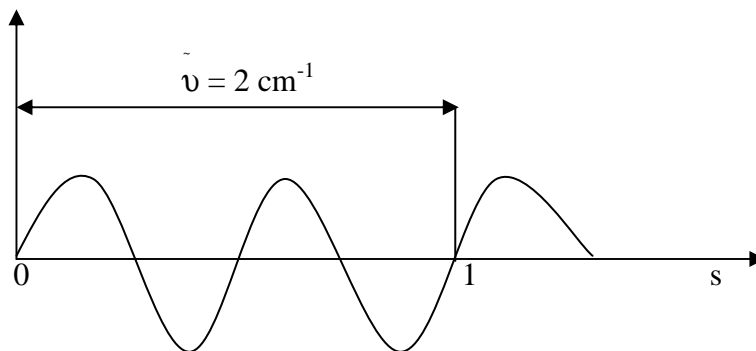
Obr. 1: Význam vlnové délky.

- frekvence = kmitočet ($\nu = 1 \text{ [Hz]}$) – udává počet kmitů elektromagnetické vlny za sekundu, na obr. 2 během 1 s došlo ke 2 kmitům, a proto frekvence je 2 Hz.



Obr. 2: Význam frekvence.

- vlnočet ($\tilde{\nu} = 1 \text{ [cm}^{-1}\text{]}$) – udává počet vln připadajících na dráhu 1 cm. Na obrázku níže připadají na 1 cm 2 vlny, vlnočet je 2 cm^{-1}



Obr. 3: Význam vlnočtu.

Energii přenášenou elektromagnetickým zářením posuzujeme dle fotometrických veličin např. dle zářivého toku. Ten je definována jako podíl zářivé energie a času procházející v určitém místě danou plochou.⁵ V literatuře je někdy tato veličina ztotožňována s intenzitou záření.

$$\phi = \frac{(\Delta E / \Delta t)}{\Delta S},$$

kde E je energie záření, t je čas a S je ozářená plocha.

Rozdělení spektrálních metod:³

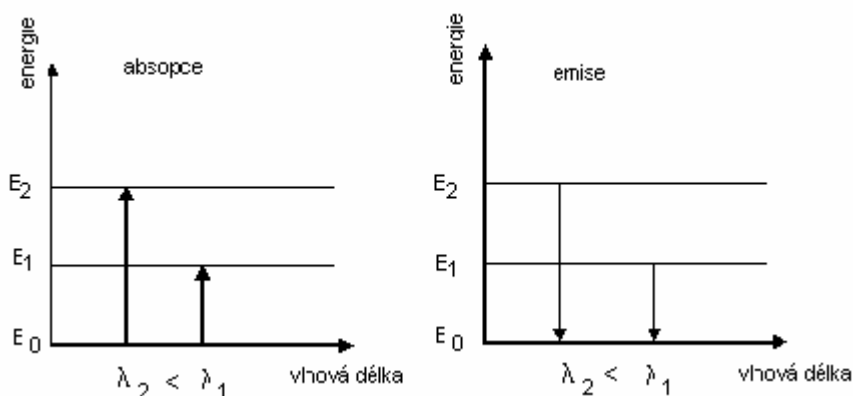
Spektrální metody je možno rozdělit podle následujících kritérií:

1) zkoumaná látka pohlcuje (absorbuje) či vyzařuje (emituje) záření

Pod pojmem **absorpce** rozumíme pohlcení určitého kvanta elektromagnetického záření látkou (atomem či molekulou). Atomy nebo molekuly přecházejí ze základního stavu (s nižší energií) do stavu excitovaného (s vyšší energií).

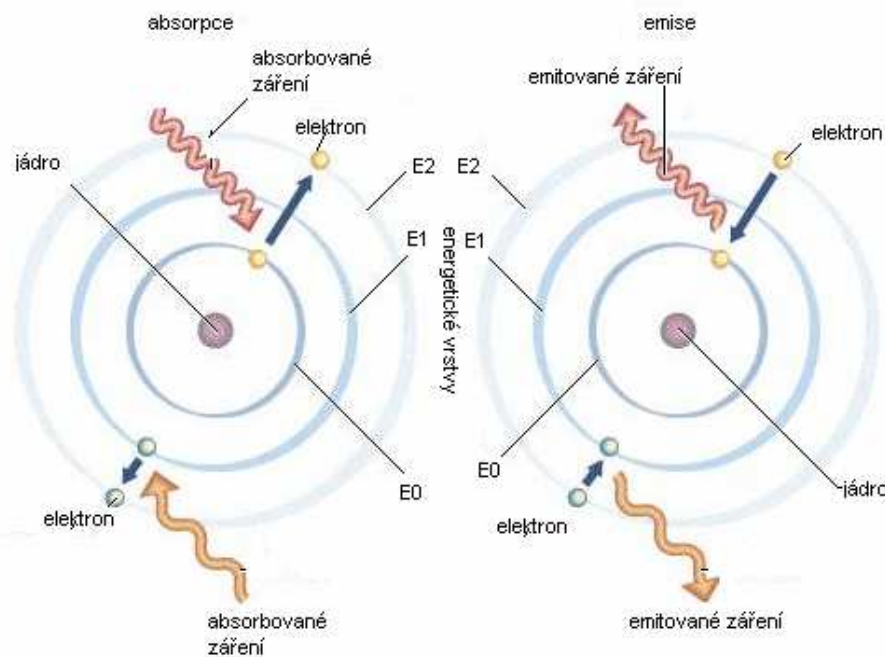
Emise je děj opačný než absorpce. Atomy nebo molekuly se nachází v excitovaném stavu (stavu s vyšší energií), při přechodu do stavu základního (s nižší energií) dochází k uvolnění energie ve formě elektromagnetického záření.

Na obr. 4 je znázorněna výměna energie při absorpci a emisi záření u atomu. Základní energetický stav je označen E_0 a vyšší energetické stavy E_1 a E_2 .



Obr. 4: Princip výměny energie mezi elektromagnetickým zářením a atomem při absorpci a emisi záření.

Molekuly, atomy či ionty jsou schopny absorbovat či emitovat elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek (frekvencí). Soubor těchto vlnových délek nebo frekvencí záření absorbovaných (emitovaných) látkou můžeme nazvat jako absorpční (emisní) spektrum. Tento jev je způsoben tím, že částice se nacházejí v určitých kvantových stavech, které se energeticky liší. Při přechodu ze základního stavu (stavu s nejnižší energií) do stavu excitovaného (stavu s vyšší energií) je zapotřebí energie odpovídající energetickému rozdílu mezi tímto přechodem. Stejně tak při přechodu z excitovaného stavu do stavu s nižší energií se vyzáří taková energie, která odpovídá rozdílu mezi dvěma či více energetickými hladinami. Částice tedy absorbují (emitují) záření takových vlnových délek, jejichž energie odpovídají přechodu mezi energetickými hladinami, jak je vidět z obr. 5. Základní energetický stav je opět označen E_0 a vyšší energetické stavy E_1 a E_2 .



Obr. 5: Přechod elektronů mezi energetickými hladinami atomu při absorpci a emisi záření; zdroj: [http://www .superphysics.tripod.com/clip_image008_0002.jpg](http://www.superphysics.tripod.com/clip_image008_0002.jpg).

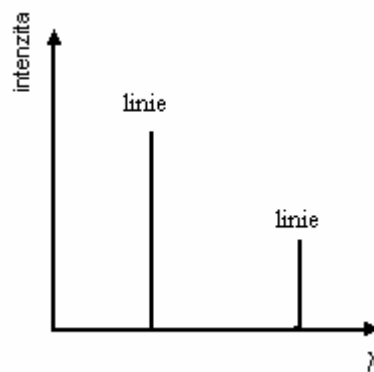
Dle Einsteinova – Planckova vztahu je energie záření definována následující rovnicí.

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} = h \cdot c \cdot \tilde{\nu},$$

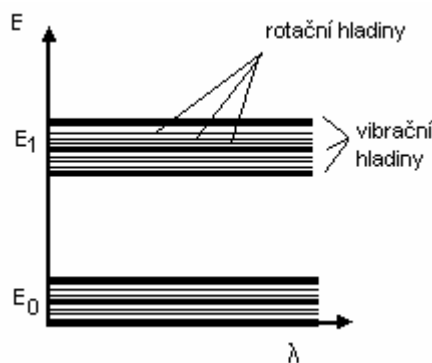
kde h je Planckova konstanta ($6,625 \cdot 10^{-34}$ J.s), c je rychlost elektromagnetického záření ve vakuu ($3 \cdot 10^8$ ms⁻¹), ostatní veličiny jsou popsány výše. Na základě tohoto vztahu můžeme říci, že frekvence a vlnočet jsou přímo úměrné energii záření a vlnová délka je energii nepřímo úměrná. Jak bylo patrné z obr. 4, při absorpci nebo emisi více energetického záření dochází k posunu ke kratším vlnovým délkám, což vyplývá z výše uvedeného vztahu.

2) absorbované či emitované záření pohlcují nebo vysílají atomy nebo molekuly

Z tohoto hlediska můžeme metody rozdělit na atomovou a molekulovou spektroskopii. Na obr. 6 vidíme příklad čárového spektra atomu. V porovnání se spektrem molekuly na obr. 8 je toto spektrum jednodušší. Je to dáno tím, že u atomů dochází pouze k elektronovým přechodům, které



Obr. 6: Čárové spektrum atomu.



Obr. 7: Energetické, vibrační a rotační hladiny v molekule.

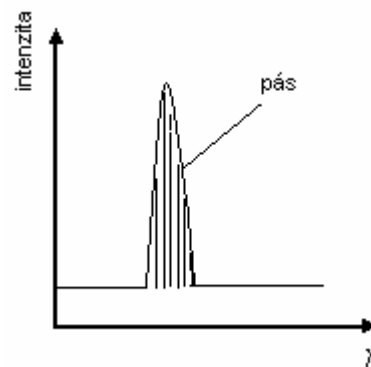
odpovídají charakteristickým liniím (čárám) ve spektru. U molekul je situace složitější. Atomy v molekulách navíc neustále vibrují kolem svých rovnovážných poloh a zároveň celá molekula vykonává rotační pohyby. Energie těchto pohybů (vibrační i rotační) je kvantována podobně jako energie elektronových přechodů. Na obr. 7 je schématicky znázorněn energetický diagram, ve kterém je každá elektronová hladina rozštěpena na určitý počet vibračních podhladin (odpovídají počtu možným

vibračním stavům molekuly na dané elektronové hladině), podobně jako je každá vibrační hladina rozdělena na několik rotačních podhladin (odpovídají počtu možným rotačním stavům molekuly na dané vibrační hladině). Celková energie molekuly se skládá z energie elektronů základního stavu (E_e), dále z energie vibračního (E_v) a rotačního stavu (E_r). Odstupňování těchto energií je uvedeno v následujícím vztahu:

$$E = E_e + E_v + E_r, \text{ přičemž}$$

$$E_e \gg E_v \gg E_r$$

Pokud energie záření absorbovaného molekulou je menší, než by odpovídalo rozdílu energií mezi dvěma elektronovými hladinami, může dojít k přechodu na úrovni vibračních či rotačních stavů. Toto je jeden z důsledků, proč jednotlivé linie (čáry) splývají a vzniklé absorpční spektrum molekuly je pásové.



Obr. 8: Pásové spektrum molekuly.

3) dle oblasti vlnových délek, které používáme při studiu látek

V tabulce jsou uvedeny přibližné rozsahy vlnových délek a názvy jednotlivých metod. U většiny z nich se projeví v názvu všechny tři možné způsoby dělení. Příkladem může být molekulová absorpční spektrofotometrie v UV-VIS oblasti (viz dále), které bude věnována následující kapitola.

oblast záření	vlnová délka (přibližný rozsah)	druh interakce
záření gama	0,01 – 10 nm	pochody v jádře atomu
rentgenové	10 – 18 nm	vnitřní elektronové orbitály atomu
ultrafialová oblast (UV)	20 – 400 nm	pochody ve valenčních orbitalech
viditelná oblast (VIS)	400 – 780 nm	pochody ve valenčních orbitalech
blízká a střední infračervená oblast (IR; IČ)	1 – 15 μm	vibrace atomů v molekule
daleká infračervená oblast (FIR; FIČ)	25 – 100 μm	převládající rotace molekul
mikrovlnné záření (MW; MV)	0,75 – 10 mm	rotace molekul v plynné fázi
elektronová spinová rezonance (ESR)	3 cm	spinové stavy některých elektronů v magnetickém poli
radiové vlny (RV; RW)	0,6 – 10 m	jaderný spin některých atomů
nukleární magnetická rezonance (NMR)	nad 10 m	v magnetickém poli

Tab. 1: Rozdělení elektromagnetického záření.⁶

Molekulová absorpční spektrofotometrie v UV-VIS oblasti

Díky experimentální nenáročnosti, automatizaci, přesnosti a citlivosti je spektrofotometrie jednou z nejvíce využívaných instrumentálních metod. Zabývá se měřením a vyhodnocením elektronových spekter látek, které absorbují elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek přibližně mezi 200 až 800 nm. Lze ji použít k analýze látek. Pokud látka absorbuje záření mezi 380 nm až 780 nm, jeví se nám barevně. Těmto vlnovým délkám odpovídá energie (okolo 1 – 100 eV), která postačuje k elektronovým přechodům mezi dvěma i více energetickými hladinami.⁷

U molekul rozlišujeme několik typů elektronových přechodů:^{2,8}

- intramolekulární přechody - látka obsahuje charakteristická funkční seskupení (**chromofor**), jehož elektrony jsou schopny excitace po absorpci záření, k přechodu může docházet mezi vazebnými molekulovými orbitaly σ a π , případně nevazebnými elektrony (n) do molekulových orbitalů antivazebných σ^* a π^*

Pro připomenutí uvádíme rozdíl mezi vazebným, protivazebným a nevazebným molekulovým orbitalem. Elektrony vazebných molekulových orbitalů se podílejí na vzniku chemické vazby. Jejich energie je nižší než energie původních atomových orbitalů, jejichž překryvem vznikly. Podle rozložení elektronové hustoty je můžeme rozdělit na σ , kde je největší hustota elektronů na spojnici atomových jader a na π , kde hustota elektronů je největší mimo tuto spojnici atomových jader. Elektrony umístěné v antivazebných orbitalech mají vyšší energii než původní atomové orbitály a přispívají tak k zeslabení chemické vazby. Nevazebné molekulové orbitály se nepodílí na chemické vazbě a jejich energie je podobná jako u výchozích atomových orbitalů.⁹

přechod	absorpce záření	typ látek
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	pod 180 nm	nasycené alifatické uhlovodíky (n-pentan, n-hexan,)
$n \rightarrow \sigma^*$	v UV oblasti	molekuly obsahující např. heteroatom s volným elektronovým párem (chloroform – $\lambda_{\max} = 173$ nm, jodoform - $\lambda_{\max} = 259$ nm)
$\pi \rightarrow \pi^*$	od UV oblastí až po VIS oblast	molekuly s vazbou - C = C -, čím větší počet vazeb v konjugaci, tím dochází k posunu k vyšším hodnotám vlnové délky
$n \rightarrow \pi^*$	od UV oblastí až po VIS oblast	molekuly mající na dvojně vazbě atom nesoucí volný elektronový pár (př. ketoskupina)

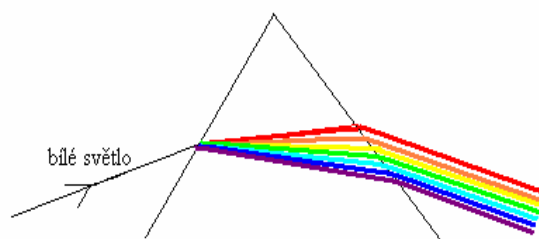
Tab. 2: Typy intramolekulárních přechodů.⁸

Pro stanovení látek ve VIS oblasti jsou vhodná rozpouštědla, která absorbují záření mimo tuto oblast (po absorpci záření dochází často k prvním dvěma přechodům), a tím neovlivňují měřené absorpční spektrum.

- přechody s přenosem náboje – u těchto přechodů dochází k přenosu elektronu z jedné části molekuly na druhou, v podstatě se jedná o komplex, v němž se jedna část molekuly chová jako donor (dárce) elektronu a druhá jako akceptor (příjemce) elektronu. Výrazné jsou absorpční pásy v UV-VIS oblasti, kdy donor předá elektron ze svého vazebného orbitalu π (nebo nevazebného n) do antivazebného orbitalu akceptoru. Tyto látky se chovají jako oxidačně – redukční systémy nebo jako Lewisovy kyseliny a zásady. Příkladem takového systému může být původně žluto-zelený roztok obsahující Fe^{2+} a bezbarvý roztok 1,10-fenantrolinu. Pokud oba dva roztoky smícháme, vznikne roztok sytě červený.

Barevnost látek^{7,10}

Barevnost látek souvisí s absorpcí elektromagnetického záření ve viditelné oblasti spektra. Pomocí hranolu je možné rozložit bílé světlo na jednotlivé vlnové délky tak, jak ukazuje obr. 7. K tomuto jevu dochází díky tzv. disperzi světla, což je závislost rychlosti světla



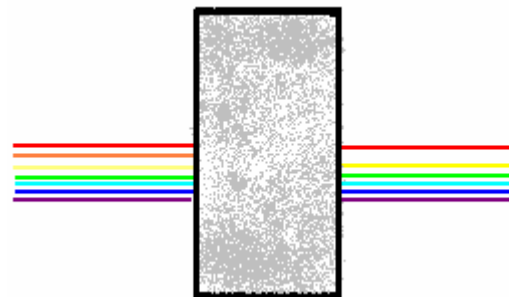
Obr. 9: Rozklad světla pomocí hranolu.

v daném prostředí na frekvenci záření, která rovněž ovlivňuje hodnotu indexu lomu.⁴ Fialovému světlu odpovídá ve vakuu (ve vzduchu je to přibližně stejně) vlnová délka 380 nm a červenému 780 nm. Nejvíce se láme světlo fialové a nejméně červené. Jak již bylo výše zmíněno, látka se nám jeví jako barevná, pokud absorbuje světlo ve viditelné oblasti. Barva zaznamenaná naším okem je barvou komplementární (doplňkovou) k pohlcenému záření. Látky, které absorbují světlo mimo viditelnou oblast, se nám jeví jako bezbarvé. Následující tab. 3 uvádí přibližné rozsahy vlnových délek a jim odpovídající barvu absorbovaného záření a barvu doplňkovou, která odpovídá barvě roztoku.

absorbované záření	pozorovaná barva	vlnová délka absorbovaného záření
fialová	žlutá	400 nm
modrá	oranžová	450 nm
zeleno-modrá	červená	500 nm
zelená	purpurová	530 nm
žlutá	fialová	550 nm
oranžová	modrá	600 nm
červená	zelená	700 nm

Tab. 3: Závislost barvy roztoku na vlnové délce absorbovaného záření.

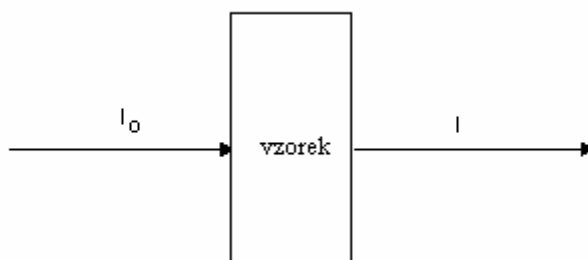
Na jednoduchém příkladu si můžeme objasnit ještě podrobněji význam tab. 3. Do kyvety umístíme barevný vzorek obsahující jednu látku a necháme jím procházet viditelné světlo. Po průchodu záření dojde k absorpci oranžové barvy ze spektra. Výsledná barva roztoku je tvořena zbylými spektrálními barvami, které vzorkem prošly. V tabulce si najdeme barvu absorbovaného záření (v tomto případě oranžovou). Této barvě odpovídá barva roztoku modrá a absorpční maximum okolo 600 nm. Absorpční spektrum může obsahovat jeden i více absorpčních pásů. Pokud nalezneme ve spektru dva výrazné pásy, může to znamenat, že jedna barevná látka absorbovala záření ve dvou oblastech, a nebo se jedná o směs dvou barevných látek. V obou případech je výsledná barva roztoku tvořena prošlým zářením. Uvedenou možnost dokresluje následující příklad. Při současné absorpci fialového záření (doplňková barva je žlutá) a oranžového záření (doplňková barva je modrá) je výsledná barva roztoku zelená.



Obr. 10: Absorpce a průchod záření látkou umístěnou v kyvetě.

Veličiny charakterizující velikost absorpce záření^{7,11,12}

V době, kdy nebyla ještě vyvinuta přístrojová technika, se barevnost látek posuzovala subjektivně – pouhým okem. Oko sloužilo jako spektrometr pro viditelnou oblast s největší citlivostí okolo 555 nm. Tohoto využívala a dnes ještě okrajově využívá metoda zvaná kolorimetrie. Podstatou této metody je porovnání intenzity barevných roztoků látky o známých koncentracích s roztokem, jehož koncentraci stanovujeme. Pro svou jednoduchost je někdy využívána ve školní praxi. Dnes sledujeme absorpci záření pomocí přístrojové techniky. Pokud daná látka absorbuje záření ve viditelné oblasti, dochází ke snížení jeho intenzity.



Obr. 11: Průchod záření vzorkem.

I_0 je původní intenzita záření, I je intenzita záření zeslabená o část absorbovaného podílu.

Podíl intenzit záření I a I_0 nazýváme jako transmitanci (T) nebo propustnost. Hodnota transmitance se pohybuje od 0 do 1. Po vynásobení 100 dostaneme procentickou transmitanci.

$$T = \frac{\phi}{\phi_0}$$

Další spektrofotometrickou veličinou je absorptance (α), která udává, kolik % záření daná látka absorbovala.

$$\alpha = 100 - T (\%)$$

Velikost absorpce můžeme vyjádřit také pomocí absorbance (A). Tato veličina udává logaritmický poměr intenzity záření původního k intenzitě záření prošlého.

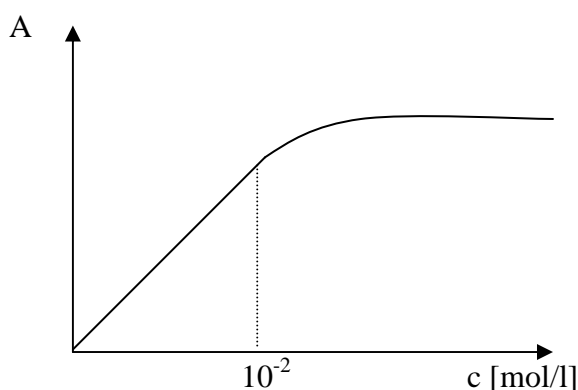
$$A = \log \frac{\phi_0}{\phi} = -\log T$$

Absorbance nabývá hodnot od 0 až do ∞ . Pokud má absorbance nulovou hodnotu, daná látka žádné záření neabsorbovala a propustnost je rovna jedné. V případě, že absorbance je ∞ , zkoumaná látka pohltila všechno záření a propustnost nabývá hodnoty nula. Je třeba si také uvědomit, že při absorbanci větší než 1 prochází už méně než 10% světla a malá chyba při měření procházejícího záření, může způsobit velkou chybu při určení absorbance. Většina stanovení se proto provádí tak, aby maximální hodnota absorbance ležela okolo hodnoty 1.

Absorpční spektrofotometrii ve viditelné a ultrafialové oblasti lze využít ke kvalitativnímu i kvantitativnímu stanovení látek. Při kvalitativním stanovení posuzujeme tvar, počet a polohu jednotlivých absorpčních pásů ve spektru. Větší počet extrémních bodů v absorpčním spektru může být důsledkem většího počtu elektronových přechodů, přítomností většího počtu strukturních forem molekuly nebo přítomností směsi absorbujících látek v roztoku. Při kvantitativním stanovení vycházíme z Lambert – Beerova zákona. Tento zákon vyjadřuje vztah mezi absorbancí a koncentrací zkoumané látky.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l,$$

kde A je absorbance, c molární koncentrace zkoumaného vzorku (mol/l), l tloušťka (šířka) kyvety (cm) a ε molární absorpční koeficient ($\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Molární absorpční koeficient je pro danou látku při určité vlnové délce konstantou. Při těchto stanoveních využíváme často metodu kalibrační přímky. Princip této metody spočívá v přípravě sady roztoků o známé koncentraci, jejichž absorbanci měříme proti slepému vzorku, což je roztok, který obsahuje všechna činidla mimo zkoumané látky. Z funkční závislosti absorbance na koncentraci, která vyplývá z výše uvedené formulace Lambert-Beerova zákona, můžeme poté určit koncentraci vzorku. Tento zákon má ovšem určitá omezení. Platí pro monochromatické záření (záření o dané vlnové délce) a je limitován koncentrací dané látky, a to v homogenních i heterogenních systémech. Přímková závislost platí obvykle při koncentracích řádově nižších než 10^{-2} mol/l, poté dochází k zakřivení této závislosti, jak ukazuje obr. 12.



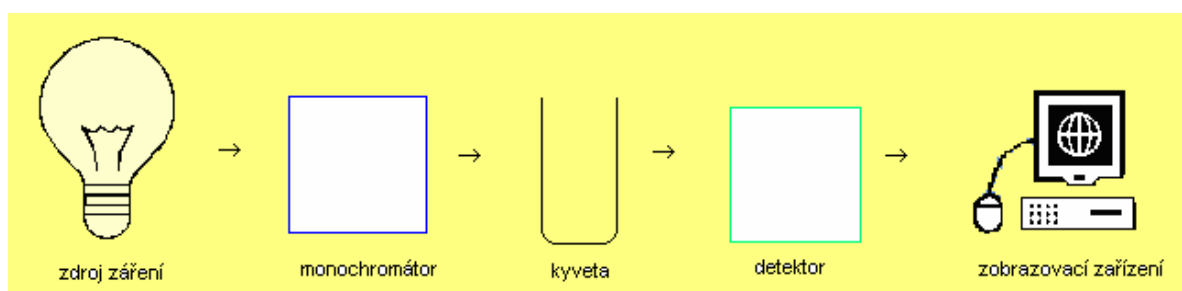
Obr. 12: Funkční závislost absorbance na koncentraci vyplývající z Lambert-Beerova zákona

V případě chemicky čisté látky směrnice této závislosti při tloušťce kyvety 1 cm udává molární absorpční koeficient. Odchytky od linearity mohou být způsobeny jinými druhy interakce záření s hmotou (fluorescence, fosforescence), vlivem použitého záření (nedostatečná monochromaticnost záření, rozptyl záření), vedlejšími chemickými reakcemi (dimerizace, tvorba konkurenčních komplexů, asociace apod.) nebo chybou obsluhy (nedostatečná čistota kyvet, heterogenní roztok – zakalený nebo s obsahem sraženiny či nečistot).⁶ Pokud daná látka neabsorbuje ve viditelné oblasti, můžeme ji pomocí vhodného činidla převést na barevný produkt a na základě intenzity zbarvení zjistit koncentraci původní látky v roztoku.

Přístrojové vybavení

K měření absorbance se používají různé typy přístrojů, které se liší druhem použitého základního prvku měřicí jednotky. Každý měřicí přístroj obsahuje následující základní součásti:

- zdroj záření
- disperzní systém – filtr nebo monochromátor
- kyvety se vzorkem
- čidlo záření - detektor
- zobrazovací zařízení



Obr. 13: Základní prvky měřících přístrojů.

Zdroj záření – poskytuje v určitém rozsahu vlnových délek spojitě záření o dostatečné intenzitě, které je absorbováno vzorkem v případě absorpčních metod. Jako zdroj záření v UV oblasti se používá vodíková nebo deuteriová výbojka a pro viditelnou oblast wolframová nebo halogenová žárovka.

Disperzní systém – zařízení, které umožňuje vymezit velmi úzký interval vlnových délek. Takto získané záření lze poté považovat za téměř monochromatické. Podle typu přístroje se používají různé druhy disperzních soustav. Jednodušší přístroje – fotometry mají místo monochromátoru barevné filtry, které jsou zhotoveny ze speciálních skel nebo je tvoří roztoky barevných kapalin uzavřené ve speciálních kyvetách. Vymezují ze spektra poměrně široké pásmo vlnových délek (okolo 100 nm). V modernějších přístrojích – spektrofotometrech nalezneme monochromátor v podobě hranolu nebo mřížky. K disperzi (rozkladu) záření hranolem dochází v důsledku různého indexu lomu záření o různých vlnových délkách v materiálu hranolu.³ U mřížky je disperze způsobena důsledkem odrazu, ohybu a následném skládání odražených nebo ohnutých paprsků.

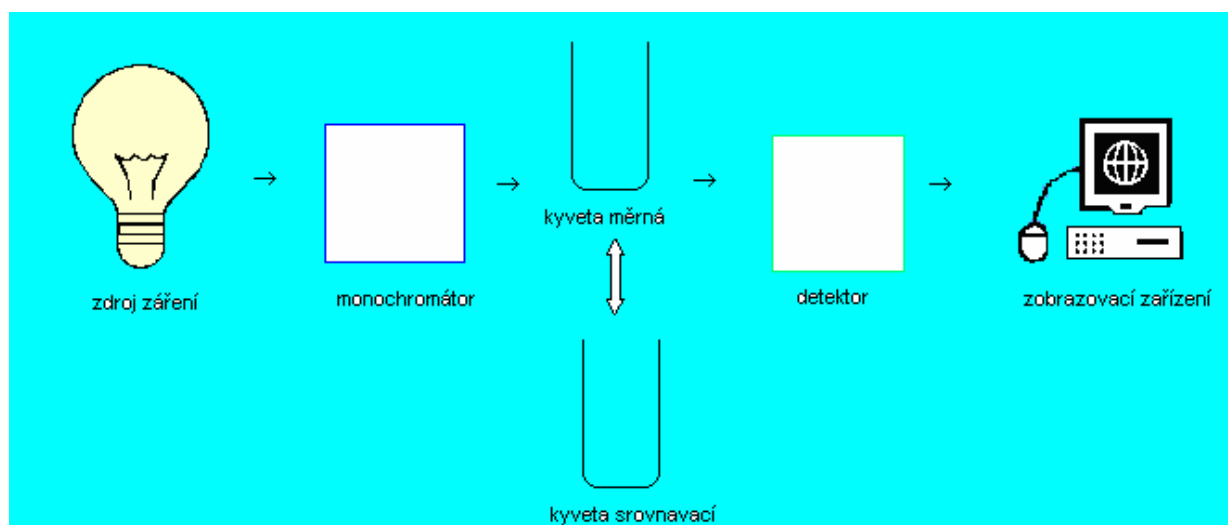
Kyvety – do těchto speciálních nádobek se umísťují vzorky. Pro viditelnou oblast se používají kyvety skleněné a pro UV oblast kyvety křemenné. Důležité je, aby materiál, ze kterého je kyveta zhotovena, neabsorboval ve sledované oblasti. Vnitřní tloušťka absorbující vrstvy a vzdálenost dvou planoparalelních stěn musí být konstantní, a proto je jejich cena vysoká. Obvykle používaná tloušťka kyvety je 1 cm.

Detektor – převádí energii záření v jinou formu energie (často elektrickou), kterou je možno měřit. Patří sem fotonky, fotonásobiče, fotoelektrické články, CCD (charge coupled device) detektory a další.

Zobrazovací zařízení – zařízení, na kterém je možno sledovat výstupní informace. Novější zařízení mají digitální výstup, kdy je možno celé spektrum sledovat na obrazovce počítače.

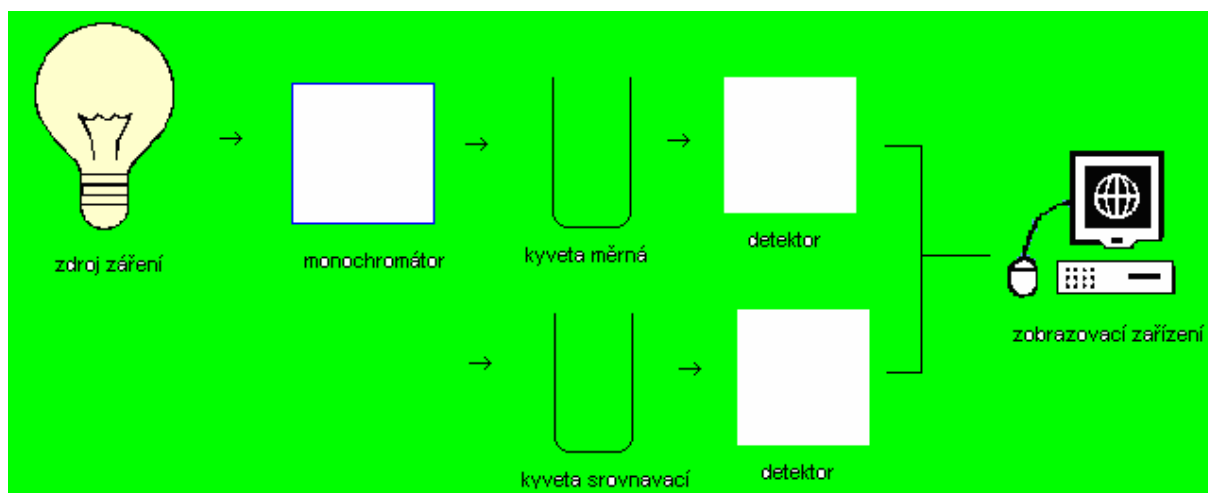
Součástí přístroje je dále pomocná optika usměrňující tok záření. U některých přístrojů se může lišit pořadí jednotlivých částí. Monochromátor může být umístěn za kyvetu se vzorkem.

Přístroje mohou být konstrukčně uspořádány jako jednopaprskové nebo výkonnější dvoupaprskové. Při jednopaprskovém uspořádání se do přístroje vloží nejprve kyveta obsahující referentní roztok, jehož absorbance se nastaví jako nulová. Po vysunutí referentní kyvety z dráhy paprsku se vloží kyveta se vzorkem.

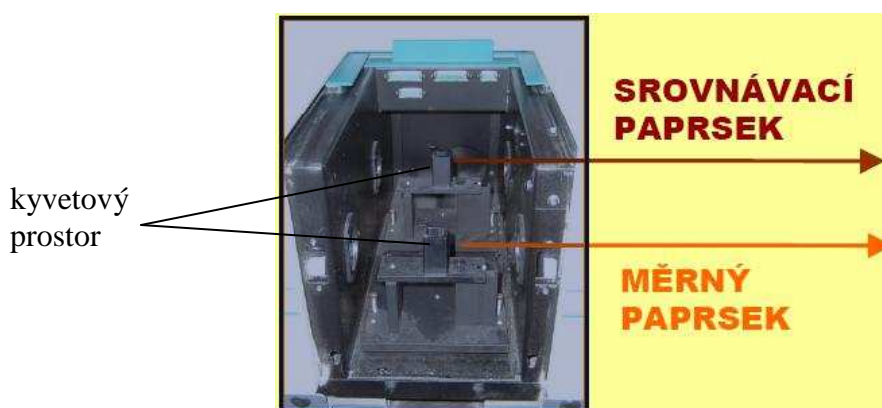


Obr. 14: Schéma jednopaprskového absorpčního přístroje.

V případě dvoupraskového uspořádání je paprsek světla ze zdroje rozdělen na paprsek procházející měrnou kyvetou a paprsek procházející srovnávací kyvetou. Takové uspořádání se používá tam, kde je nutno eliminovat vliv nestability přístroje a absorpci záření kyvetami a rozpouštědly; Bpřužel jsou tyto spektrofotometry podstatně dražší.



Obr. 15: Schéma dvoupraskového absorpčního přístroje.



Obr. 16: Dvoupraskový absorpční spektrofotometr; zdroj:<http://www.vscht.cz/anl/matejka/i/ACH-07molekul.pdf>.

Literatura:

1. BEKÁREK, V.: *Optické metody v chemické analýze*, Přírodovědná fakulta Univerzity Palackého, Olomouc 1992.
2. NĚMCOVÁ, A., ČERMÁKOVÁ, L., RYCHLOVSKÝ, P.: *Spektrometrické analytické metody I*, Karolinum, Praha 2004
3. OPEKAR, F., JELÍNEK, I., RYCHLOVSKÝ, P., PLZÁK, Z.: *Základní analytická chemie*, Karolinum, Praha 2002.
4. PIŠŮT, J. A KOL.: *Fyzika pro IV.ročník gymnázií*. Brno: SPN, 1987.

5. FIŠER, J., ZEMÁNEK F.: Chemická struktura pro posluchače učitelství chemie. Praha: SPN, 1990.
6. SOMMER, L. A KOL.: *Základy analytické chemie II*, VUTIUM, Brno 2000.
7. HUMLOVÁ, A., BALVÍN, M.: *Praktická cvičení z lékařské chemie II.*, Karolinum, Praha 2001.
8. ÚSTAV ANALYTICKÉ CHEMIE VŠCHT PRAHA.: *Přednášky z analytické chemie pro bakaláře*. [online].[cit. 2006 - 09 - 15]. Dostupné <http://www.vscht.cz/anl/matejka/index.html#pachbak>.
9. MIČKA, Z., HAVLÍČEK, D., LUKEŠ, I., MOSINGER, J., VOJTÍŠEK, P.: *Základní pojmy, příklady a otázky z anorganické chemie*. Praha: Karolinum, 1995.
10. ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK VŠCHT PRAHA.: *Natural colouring agents*. [online].[cit. 2006 - 03 - 15]. Dostupné z <http://www.vscht.cz/lam/new/banc.pdf>.
11. BERKA, A., FELTL, L., NĚMEC, I.: *Příručka k praktiku z kvantitativné analytické chemie*, SNTL/ALFA, Praha 1985.
12. ŠKÁRKA, M., MIKO, M., LUKÁČOVÁ, V.: *Laboratórne cvičenie z biochémie*, SVŠT, Bratislava 1989.

Úloha č.1: Jaké barvivo se nachází v barevné cukrovince?

Materiál: želatinové bonbóny (medvídci) některé barvy (např. červené), seznam E – kódů

Laboratorní pomůcky: 50 ml kádinky (4 ks), varná konvice, stojánek se 8 zkumavkami, spektrofotometr, kyveta

Princip: východiskem měření je skutečnost, že spektra různých čistých látek se od sebe navzájem liší. Pokud tedy naměříme spektra sady standardů různých látek, jejichž identitu známe, změřením spektra látky neznámé a porovnáním se spektry standardů můžeme zjistit, o jakou látku se jedná.

Pracovní postup: Připravíme si tolik zkumavek, kolik máme k dispozici standardů. Rozpuštěním malého množství (na špičku nože či kapku) standardu ve vodě si připravíme sadu standardů. Změříme jejich spektra, přičemž dbáme na to, aby absorbance (odečítáme na ose y) ležela v rozmezí 0,3 – 1,5. Spektra si vytiskneme nebo uložíme. Zpracování cukrovinky (medvídka) provedeme následovně. Cukrovinku vložíme do kádinky a zalijeme malým množstvím horké vody (20 ml). Alternativně lze cukrovinku ve vodě povařit. Než se příslušná barviva z cukrovinek vyextrahují, sestavíme filtrační aparaturu. Filtraci provádíme pomocí filtračního papíru. Připravený vzorek přefiltrujeme. Filtrát nalijeme do kyvety a změříme spektrum proti vodě. Nezapomeňte po měření každého vzorku vždy kyvetu vypláchnout. Také si nezapomeňte všechna spektra popsat druhem barviva (vzorku) a odečíst hodnoty absorpčních maxim zkoumaného barviva. Hodnoty zaznamenejte do tabulky uvedené ve vypracování v bodě 1.

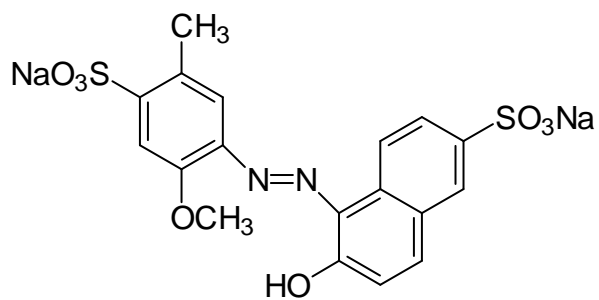
Vypracování:

- 1) Doplňte do tabulky absorpční maxima jednotlivých barevných vzorků. Vyhledejte název barviva obsaženého v cukrovinkách v seznamu evidenčních kódů dle jejich uvedení na obalu výrobku. Poté přiřaďte název a kód barviva k barvě želé. Nezapomeňte, že na zbarvení jedné cukrovinky se může podílet i více barviv.

barva želé	absorpční maxima ve VIS oblasti [nm]	název barviva	kód barviva

- 1) Jaké barvivo se nachází v námi studované cukrovince?

2) Allura červen (E129) má následující chemický vzorec.



Pro toto barvivo je charakteristická funkční skupina, která řadí tuto látku mezi

Vyznačte tuto funkční skupinu ve vzorci.

Jak se označuje seskupení atomů zodpovědné za barevnost látek?

Závěr:

Úloha č.2: Čím je způsobeno, že gumoví medvídci jsou tak pestře zbarveni?

Materiál: želatinové bonbóny různých barevných odstínů (obvykle 4), spektra žlutých potravinářských barviv (E102 tartrazin, E104 chinolinová žlutá), seznam E – kódů

Laboratorní pomůcky: 50 ml kádinky (4 ks), varná konvice, filtrační aparatura, filtrační papír, stojánek se 4 zkumavkami nebo 4 malé kádinky, spektrofotometr, kyveta

Princip: Z obalu cukrovinek zjistíme jejich složení včetně potravinářských barviv, která byla použita. Tyto látky jsou uváděny pod písmenem E a číslicí určující konkrétní druh barviva. Díky své rozpustnosti ve vodě je lze z bonbónů vyluhovat. Barva cukrovinky může být způsobena jedním barvivem nebo směsí barviv.

Pracovní postup: Připravíme si tolik kádinek, kolik máme barevných odstínů želatinových bonbónů. Poté do každé kádinky vložíme jedno želé různé barvy a zalijeme malým množstvím horké vody. Než se příslušná barviva z cukrovinek vyextrahují, sestavíme filtrační aparaturu. Filtraci provádíme pomocí filtračního papíru. Jednotlivé barevné vzorky filtrujeme do zkumavek nebo do malých kádinek. Čistou kyvetu naplníme zkoumaným barevným roztokem a proměříme jeho spektrum proti vodě. Po každém vzorku kyvetu vypláchneme. Ze spektra odečteme hodnoty absorpčních maxim zkoumaného barviva a zaznamenejme je do tabulky uvedené ve vypracování v bodě 1.

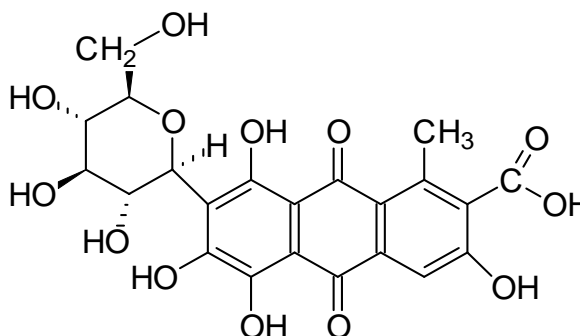
Vypracování:

2) Doplněte do tabulky absorpční maxima jednotlivých barevných vzorků. Vyhledejte název barviva obsaženého v cukrovinkách v seznamu evidenčních kódů dle jejich uvedení na obalu výrobku. Poté přiřaďte název a kód barviva k barvě želé. Nezapomeňte, že na zbarvení jedné cukrovinky se může podílet i více barviv.

barva želé	absorpční maxima ve VIS oblasti [nm]	název barviva	kód barviva

3) Porovnejte absorpční maxima žlutého a oranžového medvídku. Zdůvodněte barevnou odlišnost.

4) Červeň košenila (E120) má následující chemický vzorec.



Do které skupiny barviv tato látka náleží?

Vyznačte tuto funkční skupinu ve vzorci.

Jak se označuje seskupení atomů zodpovědné za barevnost látek?

Závěr:

Úloha č.3: Pokuste se odhadnout, jaká barviva se podílela na zbarvení lentilek.

Materiál: lentilky, absorpční spektra jednotlivých barviv přítomných v lentilkách, seznam E-kódů

Laboratorní pomůcky:

8 malých kádinek, spektrofotometr, kyveta, stříčka

Princip: Povrch lentilek je obarven barvivy, která jsou dobře rozpustná ve vodě, čehož lze využít při jejich extrakci. Zbarvení některých lentilek je dáno kombinací dvou či více barviv. Pod tímto barevným povrchem nalezneme ještě bílý pigment (titanovou bělobu), která je vodě odolná. Pomocí polohy a tvaru pásů absorpčních maxim v absorpčním spektru můžeme identifikovat jednotlivé druhy barevných látek.

Pracovní postup s vypracováním:

- 1) Do tabulky zaznamenáme dle obalu výrobku E-kódy použitých barviv. V dostupné literatuře nebo na internetu vyhledáme názvy barviv a zapíšeme je rovněž do tabulky.

E kód	název barviva nebo pigmentu

- 2) Připravíme si tolik kádinek, kolik máme barevných odstínů lentilek. Růžové a fialové zbarvení je málo intenzivní, proto vložíme do kádinky dvě až tři lentilky, u ostatních stačí po jedné. Zalijeme malým množstvím studené vody a necháme chvíli barvivo vyluhovat. Poté proměříme spektra jednotlivých barevných roztoků proti vodě a odečteme absorpční maxima, která zaznamenáme do tabulky.

barva lentilky	poloha pásů absorpčních maxim v UV – VIS oblasti [nm]

Vypracování:

- 1) Zjištěné polohy pásů absorpčních maxim daných barviv porovnejte s absorpčními spektry standardů. Poté se pokuste přiřadit názvy barviv.

barva lentilky	název barviva

- 2) Zhodnoťte pomocí získaných spekter rozdíl mezi světle a tmavě zbarvenou zelenou lentilkou.

- 3) Pokuste se vysvětlit rozdíl mezi barvivem a pigmentem:

4) Pro doplnění následujícího textu použijte dostupnou literaturu nebo internet. Výše zmíněný bílý pigment se jmenuje Tato sloučenina má chemický název o chemickém vzorci Vzhledem k její ji můžeme použít v potravinářství i kosmetice. Výroba vychází ze dvou přírodních nerostů: dražšího (o chemickém vzorci TiO_2) a (o chemickém vzorci $\text{FeO} \cdot \text{TiO}_2$). Z druhého nerostu se získává sulfátovým způsobem za použití kyseliny sírové.

Otázky k výše uvedenému textu:

a) Vypočítejte obsah bílého pigmentu v $\text{FeO} \cdot \text{TiO}_2$.
 $M(\text{Fe}) = 56 \text{ g/mol}$, $M(\text{O}) = 16 \text{ g/mol}$, $M(\text{Ti}) = 48 \text{ g/mol}$

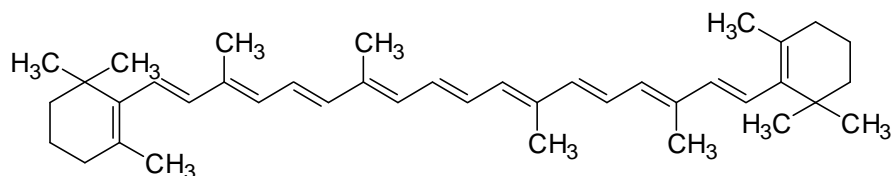
- b) Zapište pomocí chemické rovnice způsob chemické výroby této látky.

Závěr:

Úloha č.4: Analýza karotenoidních barviv v ovoci a zelenině.

Princip: Přírodní barviva podílející se na barevnosti ovoce a zeleniny lze rozdělit do tří základních skupin.

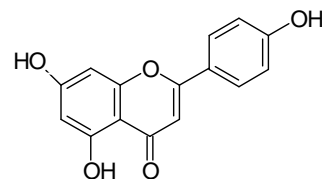
První skupinu tvoří karotenoidní barviva. Tyto látky obsahují uhlovodíkový řetězec s konjugovaným systémem dvojných vazeb. Lze je snadno extrahovat do nepolárních rozpouštědel jako je petrolether. Příkladem může být β - karoten, který se podílí na žlutém,



Obr. 1: Chemický vzorec β - karotenu.

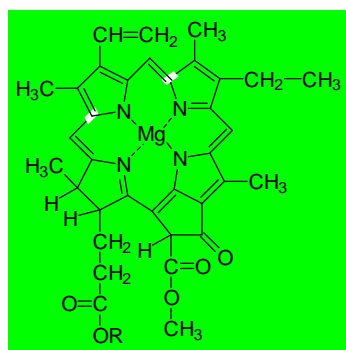
oranžovém, červeném a fialovém zbarvení rostlin.

Druhá skupina látek patří do polyfenolů. K nejznámějším patří žluté flavonoidy obsažené například v čaji a modré, červené a fialové anthokyany vyskytující se například v jahodách, třešních a červeném rybíz. Na obr. 2 je příklad flavonu apigeninu, který lze nalézt v petrželi, celeru nebo heřmánku.

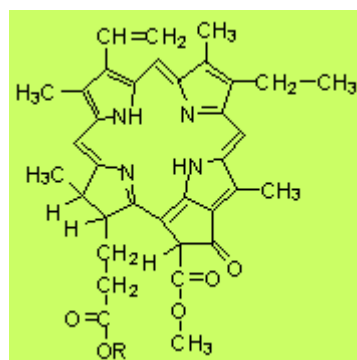


Obr. 2: Chemický vzorec flavonu apigeninu.

Třetí skupinu tvoří oligopyrrolová barviva, kam řadíme chlorofyly. Chlorofyl je citlivý na teplotu především v kyselém prostředí, kdy dochází v jeho molekule k náhradě hořčíku za vodík. Vznikají tzv. feofytiny, které jsou olivově zelené až žluté. Následující rovnice ukazuje přeměnu chlorofylu na feofytin, kterou známe z domácnosti při přípravě hlávkového salátu v kyselém nálevu.



chlorofyl a



feofytin a



Obr. 3: Přeměna chlorofylu a na feofytin a.

Materiál: vzorky ovoce a zeleniny - mrkev, pomeranč, rajče, kečup, rajský protlak, koření – safrán

Chemikálie: petrolether, ethanol

Laboratorní pomůcky: třecí miska s tloučkem, stojánek se 7 zkumavkami a zátkami, spektrofotometr, kyveta, filtrační nálevka, vata, nůž, odměrný válec

Pracovní postup:

Mrkev nakrájíme na malé kousky do třecí misky a přidáme 5 ml petroletheru. Intenzivním třením dochází k uvolnění karotenoidních barviv do rozpouštědla. Rozpouštědlo slijeme do zkumavky, zazátkujeme a ponecháme k měření. Tento postup opakujeme i s rajčetem.

V případě, že roztoky nejsou dostatečně čiré (zbytky slupky nebo zrníčka z rajčete), je nutné provést filtraci přes vatku. Šťávu z pomeranče (asi 2 ml) vymačkáme do zkumavky. Poté přidáme 2 ml petroletheru a intenzivně protřepeme. Po chvíli dochází k oddělení vodné a petroletherové vrstvy, ve které jsou vyluhovaná karotenoidní barviva.

U jednotlivých vzorků postupně naměříme absorpční spektra proti petroletheru a odečtené hodnoty absorpčních maxim zaznamenáme do prvního sloupce tabulky.

surovina	absorpční maxima [nm]	identifikované látky dle níže uvedené tabulky
šťáva z pomeranče		
rajče		
mrkev		

Poté se snažíme identifikovat jednotlivá karotenoidní barviva přítomná ve vzorcích. Pomoci Vám může níže uvedená tabulka.

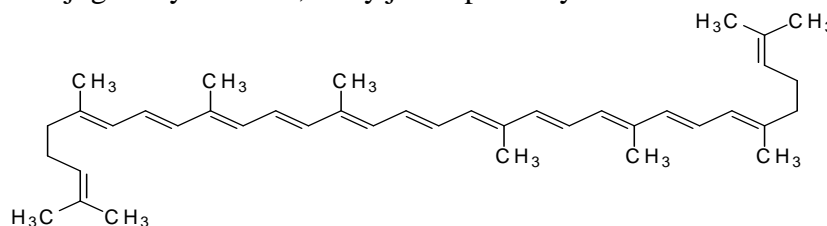
karotenoid	polohy pásů absorpčních maxim v petroletheru [nm]
α - karoten	422, 444, 474
β - karoten	425, 453, 479
γ - karoten	437, 462, 494
β - kryptoxanthin	425, 452, 479
zeaxanthin	426, 452, 479
lykopen	444, 472, 502
β - apo-8'-karotenal	457
violaxanthin	416, 440, 465
kapsanthin	450, 475, 505
kapsorubin	455, 479, 510

Vypracování:

1) Doplňte následující text s pomocí internetu nebo odborné literatury.

Karotenoidy patří do skupiny přírodních látek zvaných V jejich struktuře je obsaženo monomerních jednotek, které obsahují uhlíkových atomů. Řadíme je proto mezi Jedním ze zástupců karotenoidů je β - karoten, který je provitamínem vitamínu

2) Barvivo obsažené v rajčeti má následující chemický vzorec. Vyznačte v tomto vzorci systém konjugovaných vazeb, který je zodpovědný za barevnost této látky.



Obr.4: Chemický vzorec barviva analyzovaného z rajčete.

Doplňující úloha 1: Porovnání obsahu barviv obsažených v čerstvém rajčeti s rajčatovým protlakem a kečupem.

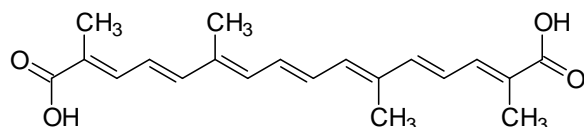
Porovnejte barvivo obsažené v čerstvém rajčeti s barvivem v kečupu a rajském protlaku. Asi 1 ml kečupu nalijeme do zkumavky a přidáme 5 ml petroletheru. Intenzivně protřepeme a necháme oddělit vodnou fázi od horní vrstvy petroletheru s vyluhovanými barvivy. Tuto vrstvu použijeme k měření. Stejný postup opakujeme i s rajčatovým protlakem.

Výsledek doplňující úlohy:

Doplňující úloha 2: Karotenoidy lze nalézt i v koření.

Jako koření se používají červené pestíky šafránu, které obsahují karotenoidní barviva. Kromě základních karotenoidů se v těchto částech rostliny nachází estery krocetinu. Příkladem může být ve vodě rozpustný krocin. Tuto látku lze rovněž získat z rostliny Gardénie jasmínové. Do třecí misky nasypeme 2 - 3 pestíky z této rostliny a zalijeme je vodou. Intenzivním třením dochází k uvolnění barviva. Získaný extrakt v případě potřeby zfiltrujeme. Poté naměříme absorpční spektrum tohoto extraktu a zaznamenáme hodnoty absorpčních maxim do protokolu.

Obr. 5: Šafrán setý.



Obr. 6: Chemický vzorec krocetinu, základ krocinu.



Obr. 7: Pestíky šafránu.



Obr. 8: Gardénie jasmínová.

Výsledek doplňující úlohy:

Závěr:

Úloha č.5: Stanovte spektrofotometricky obsah chininu v toniku.

Princip: Chinin je často obsažen v nápoji toniku. Tato látka má své absorpční maximum při 347 nm, což je v UV oblasti, a proto nemá vliv na zbarvení nápoje.

Chemikálie: vzorek – tonik s obsahem chininu, 1M kyselina chlorovodíková, 25% kyselina fosforečná, destilovaná voda

Laboratorní pomůcky: kádinky, navažovací lodička, váhy, lžička, tři 100 ml odměrné baňky, stojánek s 10 zkumavkami, pipety, pipetovací nástavec, spektrofotometr, kyveta, kahan, trojnožka, keramická síťka,

Pracovní postup:

1) Příprava základního roztoku:

Do kádinky si připravíme 100 ml směsi dvou kyselin v poměru 1:1 (1 M HCl a 25% H₃PO₄). Odvážíme přibližně přesně 50 mg chininu a kvantitativně jej převedeme pomocí 20 ml směsi kyselin do 100 ml odměrné baňky a doplníme po rysku destilovanou vodou. Do další 100 ml odměrné baňky pipetujeme 10 ml tohoto roztoku, 18 ml směsi kyselin a doplníme po značku destilovanou vodou.

➤ Tím jsme získali základní roztok, ve kterém je obsah chininu 5 mg/100 ml. (doplňte)

2) Sestrojení závislosti absorbance na koncentraci jednotlivých kalibračních roztoků:

Do kádinky odpipetujte 10 ml směsi kyselin a přidáme 40 ml destilované vody. Připravíme si sadu 10 zkumavek, do kterých pipetujeme množství látek, jak uvádí níže uvedená tabulka.

číslo zkumavky	objem základního roztoku [ml]	objem směsi kyselin a vody v poměru 1:4 [ml]	koncentrace roztoku [mg/100ml]	hodnota absorbance
1	1	9	0,5	0,08
2	2	8	1	0,18
3	3	7	1,5	0,26
4	4	6	2	0,31
5	5	5	2,5	0,39
6	6	4	3	0,50
7	7	3	3,5	0,58
8	8	2	4	0,64
9	9	1	4,5	0,75
10	10	0	5	0,83

Roztoky v jednotlivých zkumavkách zamícháme. Kyvetu naplníme směsí kyselin a vody v poměru 1:4 a naměřené spektrum uložíme jako referenční. Poté do kyvety nalijeme roztok o nejmenší koncentraci a ze spektra odečteme absorbanci při vlnové délce 347 nm a hodnotu zaznamenáme do výše uvedené tabulky. Tímto způsobem postupujeme i u dalších roztoků. Kyvetu není nutné během jednotlivých měření vymývat. Z naměřených hodnot sestojíme kalibrační závislost absorbance na koncentraci jednotlivých roztoků.

3) Stanovení obsahu chininu v toniku:

Do kádinky odlijeme přes 50 ml toniku a zahříváme jej na mírném ohni, abychom vytěsnili oxid uhličitý. Po ochlazení odpipetujeme 50 ml tohoto nápoje do 100 ml odměrné baňky, přidáme 20 ml směsi kyselin v poměru 1:1 (1 M HCl a 25% H₃PO₄) a doplníme po značku destilovanou vodou. Z naměřeného spektra odečteme hodnotu absorpance při vlnové délce 347 nm. Z kalibrační závislosti vypočítáme obsah chininu v nápoji a doplníme tabulku.

vzorek nápoje	hodnota absorbance	koncentrace chininu z kalibrační křivky [mg/100ml]
tonik	0,57	3,5

Vzhledem k ředění vzorku v poměru je koncentrace **mg /100 ml** nápoje.

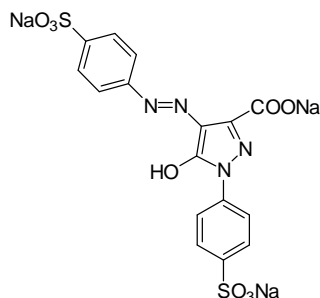
Závěr: Vzhledem k ředění vzorku v poměru**1:1**... je koncentrace chininu..**7**..mg /100 ml nápoje.

Úloha č. 6: Jak moc jsou přibarvované nápoje?

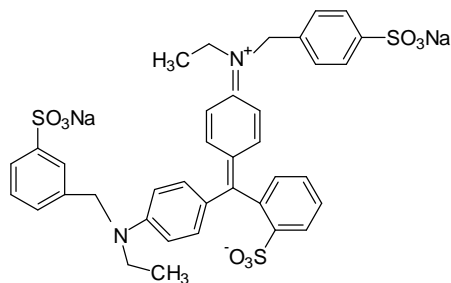
Materiál: vzorek nápoje obsahující kombinaci dvou potravinářských barviv – peprmintový alkoholický nápoj (E133 + E102), potravinářská barviva – brilantní modř (E133) a tartrazin (E102) sloužící jako standard, destilovaná voda

Laboratorní pomůcky: laboratorní váhy, navažovací lodička, laboratorní lžička, 100 ml kádinka (2 krát), tyčinka, stříčka, 100 ml odměrná baňka nebo 100 ml odměrný válec (4 krát), stojánek se zkumavkami, lihový fix, 2 ml a 10 ml pipeta, pipetovací nástavec, spektrofotometr, kyveta

Princip: Barevnost nápojů je často způsobena přidáváním syntetických barviv rozpustných ve vodě. V této úloze jsou použita dvě potravinářská barviva. Tartrazin (obr. 1), žluté barvivo, které z hlediska chemické struktury řadíme mezi azobarviva a brilantní modř (obr. 2), modré barvivo, které patří k barvivům odvozených od trifenylmethanu. Absorpční maximum tartrazinu je 427 nm a brilantní modři 629 nm.



Obr. 1: Chemický vzorec tartrazinu.



Obr. 2: Chemický vzorec brilantní modři.

Pracovní postup:

1A1) Příprava 100 ml základního roztoku s obsahem brilantní modři přibližně přesně 50 mg: Na obalu daného potravinářského barviva (E133) zjistíme, jaký je jeho obsah ve směsi. Poté vypočítáme, kolik mg této směsi bude třeba navážít pro přípravu základního roztoku barviva. Odvážené množství kvantitativně převedeme do kádinky. Roztok zamícháme a opět kvantitativně přelijeme do odměrné baňky a doplníme destilovanou vodou na objem 100 ml.

Vypracování k pracovnímu postupu:

- Vypočítejte, kolik mg směsi je třeba navážít, abychom získali roztok, který bude obsahovat 50 mg barviva v objemu 100 ml. K výpočtu Vám pomůže zjištění procentuálního obsahu dané barevné látky ve směsi na obalu.

Dle poznámky výrobce obsahuje toto potravinářské barvivo 87,37% brilantní modři (E133).

$$87,37 \% \dots\dots\dots 50 \text{ mg}$$

$$100 \% \dots\dots\dots x \text{ mg}$$

$$x = 57,23 \text{ mg}$$

Naváženo přibližně přesně 58,8 mg.

$$87,37 \% \dots\dots\dots y \text{ mg}$$

$$100 \% \dots\dots\dots 58,8 \text{ mg}$$

$$y = 51,37 \text{ mg}$$

Koncentrace roztoku je ...51,37... mg/ ...100... ml. (doplňte)

1B1) Ředění základního roztoku na měřitelnou absorbanci:

Jelikož při této koncentraci základního roztoku by nebylo možné změřit absorbanci, je nutné tento roztok 100 krát zředit.

Vypracování k pracovnímu postupu:

- Vypočítejte, kolik ml základního roztoku je třeba odebrat, abychom získali 100 ml roztoku, který bude 100 krát zředěný oproti původnímu. **1 ml**

Koncentrace roztoku je ...0,5137... mg/ ...100... ml. (doplňte)

1A2) Příprava 100 ml základního roztoku s obsahem tartrazinu přibližně přesně 45 mg:

Na obalu daného potravinářského barviva (E102) zjistíme, jaký je jeho obsah ve směsi. Poté vypočítáme, kolik mg této směsi bude třeba navážít pro přípravu základního roztoku barviva. Odvážené množství kvantitativně převedeme do kádinky. Roztok zamícháme a opět kvantitativně přelijeme do odměrné baňky a doplníme destilovanou vodou na objem 100 ml.

Vypracování k pracovnímu postupu:

- Vypočítejte, kolik mg směsi je třeba navážít, abychom získali roztok, který bude obsahovat 45 mg barviva v objemu 100 ml. K výpočtu Vám pomůže zjištění procentuálního obsahu dané barevné látky ve směsi na obalu.

Dle poznámky výrobce obsahuje toto potravinářské barvivo 86,33% tartrazinu (E102).

86,33 %45 mg

100 %x mg

$x = 52,13$ mg – orientační hodnota pro navážení směsi barviva

Naváženo 52,9 mg.

86,33 % y mg

100 %52,9 mg

$y = 45,67$ mg

Koncentrace barviva v roztoku je ...45,67... mg/ ...100... ml. (doplňte)

1B2) Ředění základního roztoku na měřitelnou absorbanci:

Jelikož při této koncentraci základního roztoku by nebylo možné změřit absorbanci, je nutné tento roztok 25 krát zředit.

Vypracování k pracovnímu postupu:

- Vypočítejte, kolik ml je třeba odebrat, abychom získali 100 ml roztoku, který bude 25 krát zředěný oproti původnímu. **4 ml**

Koncentrace barviva v roztoku po zředění je ...1,83... mg/ ...100... ml. (doplňte)

2A) Příprava kalibračních roztoků pro modré barvivo:

Do stojánku si připravíme 5 čistých zkumavek, které označíme lihovým fixem 1A až 5A. Kalibrační roztoky získáme ředěním základního roztoku dle níže uvedené tabulky. Dopočítáme a do tabulky zaznamenáme chybějící údaje o koncentracích jednotlivých kalibračních roztoků. Obsah jednotlivých zkumavek nezapomeneme promíchat.

zkumavka	základní roztok [ml]	destilovaná voda [ml]	koncentrace barviva [mg/100 ml]
1A	1	4	0,10
2A	2	3	0,20
3A	3	2	0,31
4A	4	1	0,41
5A	5	0	0,51

2B) Příprava kalibračních roztoků pro žluté barvivo:

Do stojánku si připravíme 5 čistých zkumavek, které označíme lihovým fixem 1B až 5B. Kalibrační roztoky získáme ředěním základního roztoku dle níže uvedené tabulky. Dopočítáme a do tabulky zaznamenáme chybějící údaje o koncentracích zbylých kalibračních roztoků. Obsah jednotlivých zkumavek nezapomeneme promíchat.

zkumavka	základní roztok [ml]	destilovaná voda [ml]	koncentrace barviva [mg/100 ml]
1B	1	4	0,37
2B	2	3	0,73
3B	3	2	1,10
4B	4	1	1,46
5B	5	0	1,83

3) Naměření spekter kalibračních roztoků obou barviv a odečtení absorbance při vlnové délce absorpčního maxima:

Nyní proměříme absorpční spektra jednotlivých kalibračních roztoků obou barviv proti vodě. Postupujeme od roztoku s nejmenší koncentrací a jako poslední měříme nejvíce koncentrovaný roztok. Výhodou tohoto postupu je, že nemusíme vymývat po každém měření kyvetu. V místě absorpčního maxima 629 nm pro modré barvivo a 427 nm pro žluté barvivo odečteme hodnotu absorbance. Tu pak zaznamenáme do tabulky.

číslo zkumavky	absorbance roztoku modrého barviva	absorbance roztoku žlutého barviva
1	0,16	0,17
2	0,35	0,38
3	0,52	0,58
4	0,70	0,79
5	0,88	0,99

Ze získaných hodnot absorbancí sestrojíme kalibrační grafy závislosti absorbance na koncentraci jednotlivých roztoků pro modré a žluté barvivo.

2) Příprava roztoku vzorku:

Kyvetu naplníme vzorkem a proměříme jeho absorpční spektrum. V místě absorpčního maxima pro modré barvivo (629 nm) odečteme hodnotu absorbance a zapíšeme ji do tabulky. Poté odpipetujeme 2 ml vzorku do zkumavky a přidáme 2 ml vody. Obsah důkladně zamícháme. Opět nalijeme do vymyté kyvetu a změříme spektrum. Odečteme hodnotu absorbance pro žluté barvivo v jeho absorpčním maximu (427 nm).

vzorek	absorbance při 629 nm	absorbance při 427 nm
pepermintový alkoholický nápoj	0,75	0,54

3) Výpočet koncentrace barviv v nápoji:

Z kalibrační křivky vypočítáme koncentraci barviv. Nezapomeňte vypočítanou koncentraci u žlutého barviva násobit příslušnou hodnotou ředění.

Výpočet koncentrace brilantní modři z regresní rovnice kalibrace:

$$y = 1,7371x - 0,0095$$

$$0,75 = 1,7371x - 0,0095$$

$$x = 0,44 \text{ mg/100 ml} = 4,4 \text{ mg/1000 ml}$$

Výpočet koncentrace tartrazínu z regresní rovnice kalibrace:

$$y = 0,5616x - 0,0346$$

$$0,54 = 0,5616x - 0,0346$$

$$x = 1,02 \text{ mg/100 ml} \rightarrow 2 \cdot 1,02 \text{ mg/100 ml (ředění)} = 2,04 \text{ mg/100 ml} = 20,4 \text{ mg/1000 ml}$$

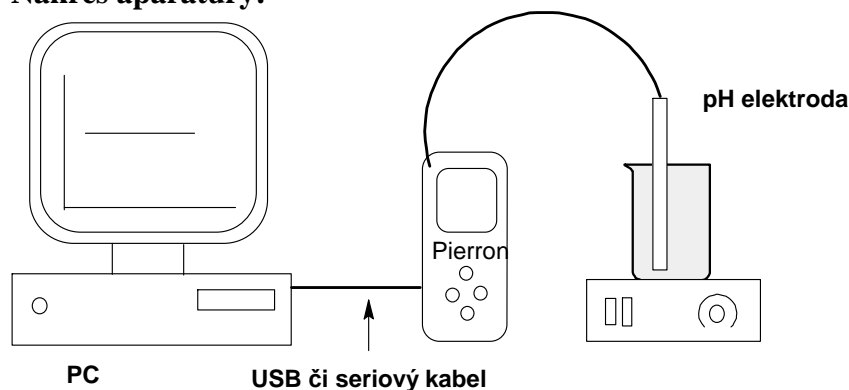
Závěr: Tento alkoholický nápoj obsahuje modré a žluté barvivo, které společně ve směsi dávají výsledné zelené zbarvení. Koncentrace modrého barviva je 4,4 mg/l a žlutého barviva 20,4 mg/l.

Název: Měření pH

Zadání: Zjistěte, jaké pH mají různé chemické látky: kyselina, zásada; citron, ocet

Chemikálie a pomůcky: HCl (0,1 mol/l), NaOH (0,1 mol/l), ocet, citron, jedlá soda NaHCO₃, minerální voda; 6x kádinky (libovolného objemu); Infraline Graphic, pH elektroda

Nákres aparatury:



Princip:

zásada je látka, která je *akceptorem* (příjemcem) protonu

kyselina je látka, která je *donorem* (dárce) protonu

Kyseliny i zásady dělíme podle míry disociace (rozštěpení na ionty) na silné (úplná disociace) a slabé (jen částečná disociace). Například jednosytná kyselina *HA* (tzn. Odštěpující jeden vodíkový kation) disociuje ve vodě následovně: $HA + H_2O \rightarrow H_3O^+ + A^-$

K vyjadřování koncentrace H_3O^+ byla z praktických důvodů zavedena **stupnice pH**, která charakterizuje kyselost nebo zásaditost roztoků. pH může nabývat hodnot mezi 0 – 14, přičemž roztok o pH 7 je považován za neutrální, s pH < 7 za kyselý a s pH > 7 za zásaditý.

Nastavení měřicích parametrů: vzorek/s, měření 10 s

Postup: K Infraline Graphic připojte pH elektrodu. Vypočítejte pH 0,01 mol/l HCl a 0,01 mol/l NaOH. Změřte jejich pH, změřte pH octu, roztoku citronu, jedlé sody a minerální sycené vody. Hodnoty zapište do tabulky.

Do závěru napište výsledky měření.

Doplňte tabulku:

Vzorek	Univerzální indikátorový papírek		Naměřené pH
	přibližné pH	barva	
HCl 0,1 mol/l			
NaOH 0,1 mol/l			
Ocet			
Citron			
Jedlá soda (NaHCO ₃)			
Minerálka (HCO ₃ ⁻)			

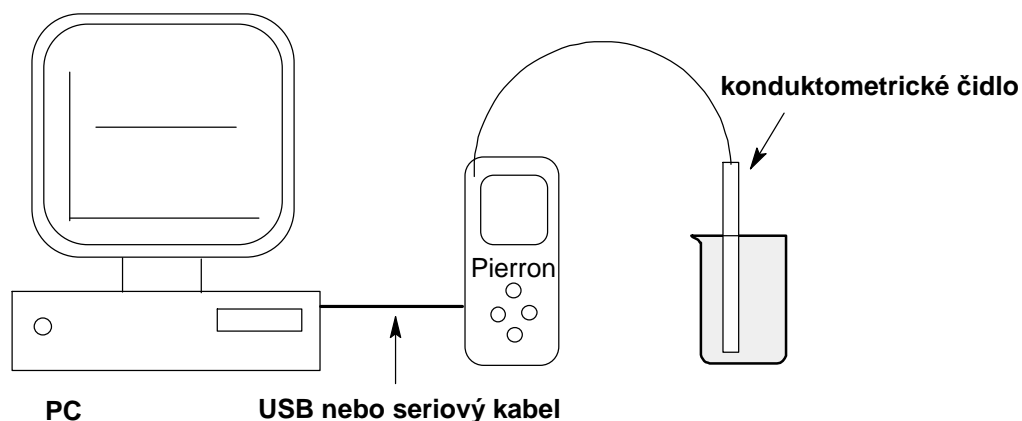
Závěr:

Název: Měření vodivosti

Zadání: Porovnejte vodivost destilované vody, vodovodní vody, minerální vody, citronové šťávy a roztoku kuchyňské soli

Chemikálie a pomůcky: destilovaná voda i vodovodní voda, minerální voda, citronová šťáva, kuchyňská sůl; kádinky (5x 150 ml); Infraline Graphic, konduktometrické čidlo

Nákres aparatury:



Princip: Roztoky různých látek mají různou vodivost. S rostoucím množstvím iontů v roztoku roste vodivost, neboť právě ionty zprostředkovávají vedení elektrického proudu v roztocích. Destilovaná voda jako taková žádné ionty rozpuštěných látek neobsahuje a proto není dobrým vodičem elektrického proudu.

Nastavení měřicích parametrů: vzorek/s, měření 10 s

Postup: Připravte si do kádinek 100 ml destilované, vodovodní, minerální vody, citronové šťávy a roztoku kuchyňské soli. V programu DidexPro nastavte měřicí parametry. Změřte vodivost jednotlivých roztoků a запиšte je do tabulky.

Do zhodnocení запиšte vaše poznatky z měření, zhodnoťte samotné měření.

Do závěru napište výsledky měření.

Úkoly:

1) Do následující tabulky vyplňte změřené hodnoty vodivosti:

Roztok	vodivost G [mS]
Destilovaná voda	
Vodovodní voda	
Minerální voda	
Citronová šťáva	
Kuchyňská sůl	

Zhodnocení:

Závěr:

Doba experimentu: cca 15 min

Znalosti studentů: chemická rovnováha, disociace kyselin a zásad, pojem pH

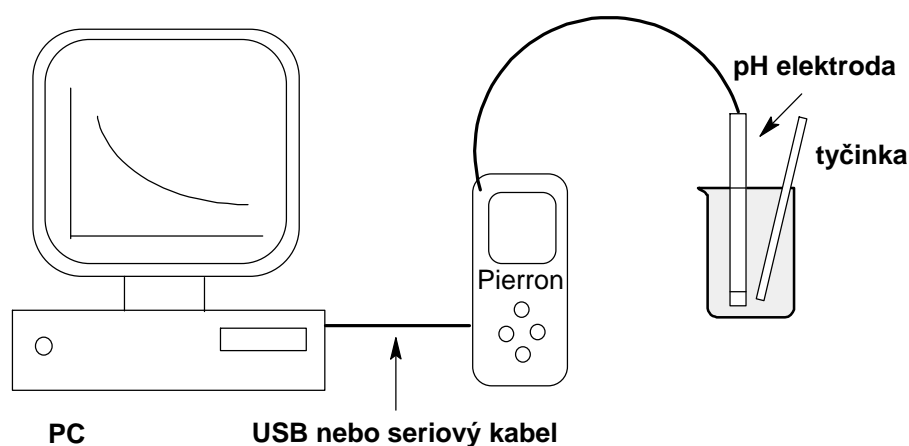
Experiment: laboratorní, demonstrační

Název: Změna pH v závislosti na přítomnosti CO₂

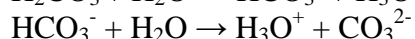
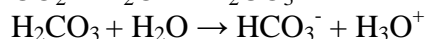
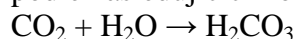
Zadání: Zjistěte, jak se mění pH se vzrůstajícím množstvím CO₂ ve vodě

Chemikálie a pomůcky: 250 ml kádinka, skleněná trubička; Infraline Graphic, pH elektroda

Nákres aparatury:



Princip: pH roztoku není konstanta, je závislé také na vnějších podmínkách. Jedním z důležitých faktorů ovlivňujících pH je přítomnost některých absorbovaných plynů jako je např. CO₂, který se ve vodě rozpouští za vzniku kyseliny uhličitě, která částečně disociuje podle následujících rovnic:



Vznikající ionty H₃O⁺ pak okyselují roztok, čímž se snižuje jeho pH.

Nastavení měřicích parametrů: vzorek/s, kontinuální měření

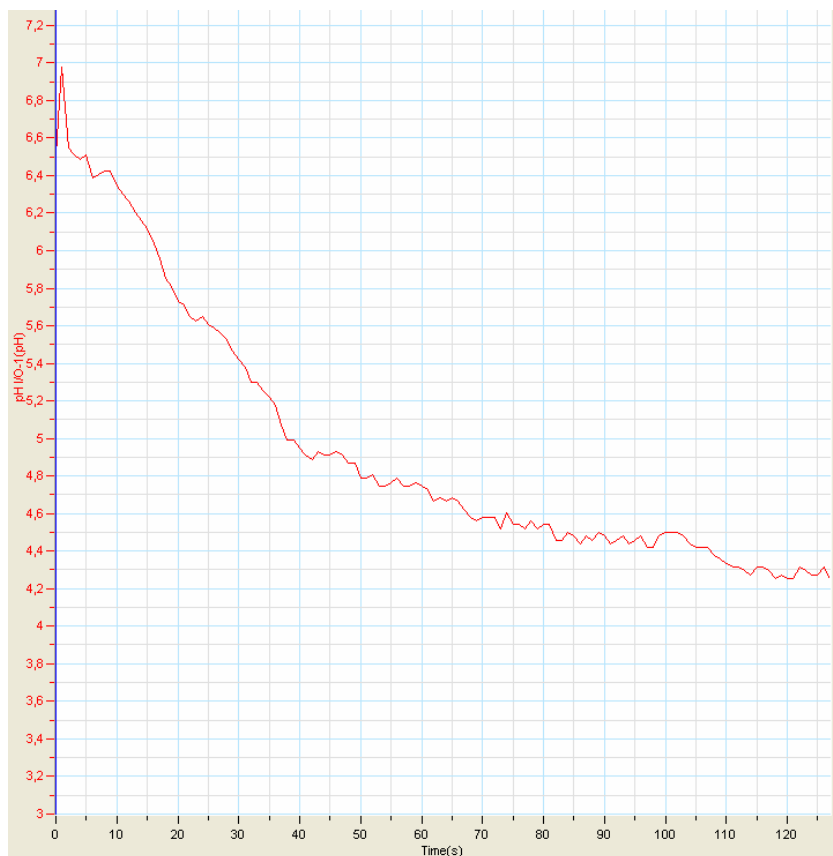
Postup: Sestavte aparaturu dle nákresu. Nastavte uvedené měřicí parametry. Do kádinky nalijte 200 ml převařené destilované vody o pokojové teplotě. Nachystejte si skleněnou trubičku. Spusťte měření a vyfukujte trubičkou do vody vzduch. Pozorujte změny pH v závislosti na množství vfouknutého vzduchu. Foukejte kontinuálně (či alespoň pravidelně) asi 5 minut.

Do zhodnocení zapište vaše poznatky z měření a zhodnoťte samotné měření.

Do závěru napište výsledky měření.

Úkoly:

1) Přiložte naměřenou křivku:



2) Vysvětlete závislost:

Ve vydechovaném vzduchu se nachází oxid uhličitý. Jeho vdechováním do vody dochází k jeho absorpci, rozpouštění, vzniku kyseliny uhličitě a její disociaci. Následkem vzniku oxoniových iontů H_3O^+ dochází ke snížení pH ve vodě. pH klesá nejprve razantně, ale postupně se pH ustaluje, protože dochází k nasycení vody CO_2 .

3) Zamyslete se a zkuste vysvětlit, proč při měření používáte převařenou vodu:

Převařená voda je použita z toho důvodu, že obsahuje jen minimální množství absorbovaného oxidu uhličitého, který byl převařením vypuzen. Přesto delším stáním přejde do vody CO_2 ze vzduchu, proto je experiment vhodné provádět ihned po převaření a ochlazení a nebo vodu uchovávat v dobře uzavřené nádobě s úzkým hrdlem.

Zhodnocení:

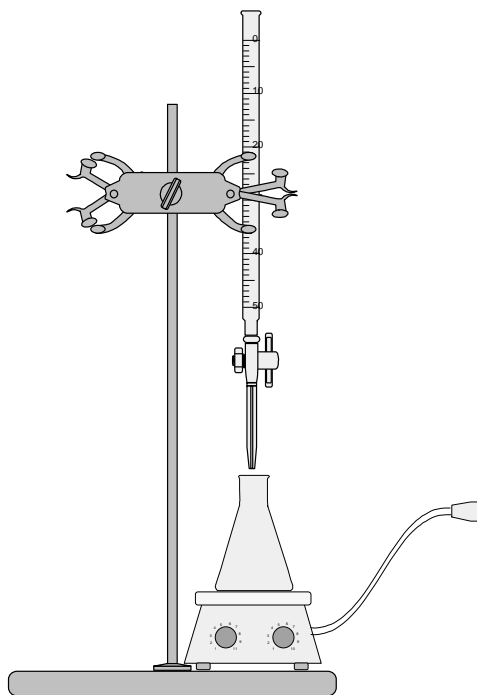
Závěr: pH roztoku se s níží s množstvím vdechnutého vzduchu až do určité hodnoty, kdy dochází k nasycení roztoku oxidem uhličitým. V našem případě došlo ke snížení pH z hodnoty cca 7 na hodnotu 4,3.

Název: Acidobazická titrace silné kyseliny silnou zásadou s indikací bodu ekvivalence za použití acidobazického indikátoru

Zadání: Určete neznámou koncentraci HCl

Chemikálie a pomůcky: destilovaná voda, HCl (vzorek), NaOH (přesná koncentrace), methylčerveně (přechod 4,2-6,3 pH); kádinky (250 ml, 2 x 50 ml); míchačka, míchadlo, byreta, titrační baňka, analytické váhy

Nákres aparatury:



Princip: Titrace je jedna z laboratorních metod kvantitativní analýzy. Nejčastěji se využívá k stanovení neznámé koncentrace látky ve vzorku o známém objemu. Titrace spočívá v přidávku známého objemu známé látky o známé koncentraci (tzv. odměrného činidla) až do tzv. bodu ekvivalence, kdy proběhne reakce analytu a odměrného činidla právě zcela přesně ve stechiometrických poměrech daných chemickou rovnicí. V praxi se používá ke zjištění bodu ekvivalence mnoha metod, nejčastěji však tzv. acidobazických indikátorů, které reagují na bod ekvivalence změnou barvy. Tato barevná změna ovšem nemusí být různými osobami identifikována stejně, protože vnímání barev je subjektivní. Správnost je také ovlivněna výběrem barevného indikátoru.

Postup: Sestavte aparaturu dle nákresu. Do titrační baňky dejte 10 ml HCl o neznámé koncentraci a doplňte vodou na cca 200 ml, dejte na míchačku a přikápněte asi deset kapek methylčerveně. Naplňte byretu titračním roztokem NaOH o známé koncentraci. Titrujte do změny zbarvení z červené na žlutou. Odečtěte spotřebovaný objem NaOH, dosad'te jej do vyjádřené rovnice a spočítejte koncentraci kyseliny.

Do zhodnocení zapište vaše poznatky z měření, zhodno'te experimentální chyby a samotné měření.

Do závěru napište výsledky měření.

Úkoly:

1) Zapište rovnici reakce; pokud bude třeba, vyčíslete ji.



Z poměru látkových množství a známých veličin vyjádřete hledanou koncentraci:

$$n(\text{HCl}) : n(\text{NaOH}) = 1 : 1$$

$$n(\text{HCl}) = n(\text{NaOH})$$

$$c(\text{HCl}) \cdot V(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

$$c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) / V(\text{HCl})$$

2) Zapište všechny známé veličiny i odečtený objem a z výše odvozeného vzorce spočítejte neznámou koncentraci:

$$c(\text{HCl}) = ? \text{ (vhodná je koncentrace okolo } 0,1 \text{ mol/l)}$$

$$V(\text{HCl}) = 10 \text{ ml} = 0,01 \text{ l}$$

$$c(\text{NaOH}) = 0,1687 \text{ M}$$

$$V(\text{NaOH}) = 6,5 \text{ ml} = 0,0065 \text{ l (odečtený objem)}$$

$$c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) / V(\text{HCl})$$

$$c(\text{HCl}) = 0,1687 \cdot 0,0065 / 0,01$$

$$c(\text{HCl}) = 0,1096 \text{ M}$$

Zhodnocení:

Závěr: Vzorek kyseliny chlorovodíkové měl koncentraci 0,1096 mol/l.

Doba experimentu: cca 40 min

Znalosti studentů: základy acidobazických rovnováh, pojmy pH, titrace, základy analytické chemie

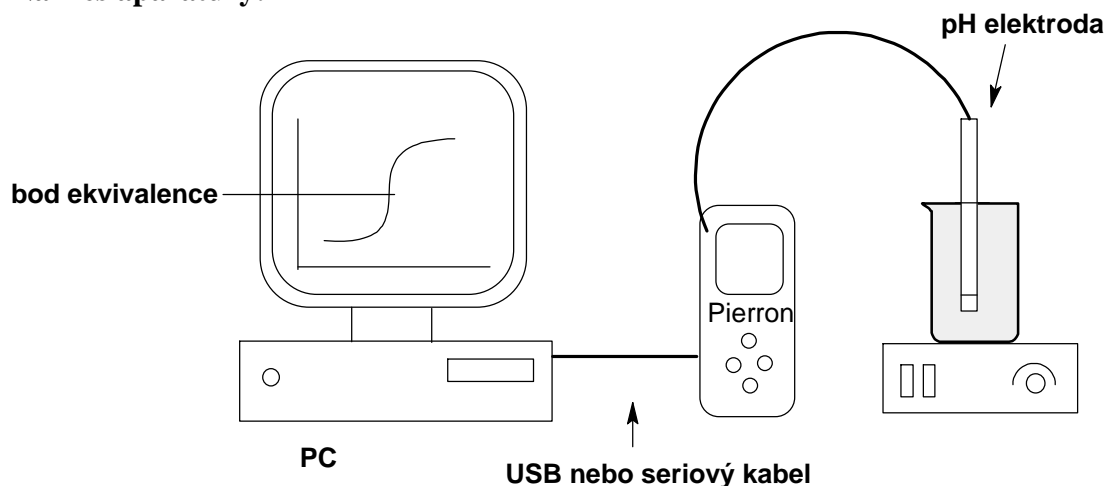
Typ experimentu: laboratorní, demonstrační

Název: Acidobazická titrace silné kyseliny silnou zásadou s indikací bodu ekvivalence pomocí pH elektrody

Zadání: Určete neznámou koncentraci HCl

Chemikálie a pomůcky: destilovaná voda, HCl (vzorek), NaOH (přesná koncentrace); kádinky (250 ml, 2 x 50 ml); míchačka, míchadlo, mikropipeta, analytické váhy, Infraline Graphic, pH elektroda..

Nákres aparatury:



Princip: Titrace je jedna z laboratorních metod kvantitativní analýzy. Nejčastěji se využívá k stanovení neznámé koncentrace látky ve vzorku o známém objemu. Titrace spočívá v přidávku známého objemu známé látky o známé koncentraci (tzv. odměrného činidla) až do tzv. bodu ekvivalence, kdy proběhne reakce analytu a odměrného činidla právě zcela přesně ve stechiometrických poměrech daných chemickou rovnicí. V praxi se používá ke zjištění bodu ekvivalence mnoha metod, nejčastěji však tzv. acidobazických indikátorů, které reagují na bod ekvivalence změnou barvy. Tato barevná změna ovšem nemusí být různými osobami identifikována stejně, protože vnímání barev je subjektivní. Správnost je také ovlivněna výběrem barevného indikátoru. Proto je výhodnější využít tzv. objektivních metod detekce, kdy je bod ekvivalence indikován pomocí fyzikálně-chemických metod a kdy k těmto chybám nedochází. Jednou z takových metod může být potenciometrie. V případě acidobazických reakcí je využít fakt, že v okolí bodu ekvivalence dochází k maximální změně pH* a inflexní bod je dán místem, kde se titrační křivka (závislost pH na přidaném objemu odměrného činidla) mění z konkávní na konvexní či naopak. V podstatě jde o bod přesně mezi pomyslnými oblouky na titrační křivce (viz nákres), proto se titrace provádí cca do dvojnásobku nutného objemu přidaného odměrného činidla, než je v bodě ekvivalence.

* ČERMÁKOVÁ, L. et al.: *Analytická chemie I*. Praha: SNTL, 1984, 320 s. ISBN 04-610-84.

Zjištění bodu ekvivalence lze i nadále zpřesnit využitím pokročilých matematických metod jako jsou 1. a 2. derivace křivky. Po provedení těchto derivací vzniká nová křivka a bodem ekvivalence je v případě 1. derivace její maximum a v případě druhé derivace průsečík s osou x. Neznámá koncentrace vzorku se pak vypočítá ze známé koncentrace a spotřebovaného objemu odměrného činidla v bodě ekvivalence.

Nastavení měřicích parametrů: vzorek/10 s, kontinuální měření; mikropipeta: 0,3 ml

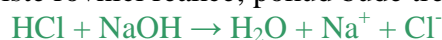
Postup: Sestavte aparaturu dle nákresu. 10 ml HCl o neznámé koncentraci doplňte vodou na cca 200 ml a dejte na míchačku. Odlijte si do malé kádinky roztok NaOH o známé koncentraci a několikrát zkuste techniku pipetování. V programu DidexPro nastavte měřicí parametry. Spusťte měření, ale první přírůstek odměrného činidla přidejte až po naměřené první hodnotě. Titrujte pomocí mikropipety až do naměření celé titrační křivky, průběh sledujte na obrazovce. Po změření odečtete čas v bodě ekvivalence (možnost využít spočítání první nebo druhé derivace v programu DidexPro) a s pomocí známých rychlostí přidavku odměrného činidla a velikosti objemu jednotlivých přírůstků spočítejte přidaný objem odměrného činidla v bodě ekvivalence.

Do zhodnocení запиšte vaše poznatky z měření, zhodnoťte experimentální chyby a samotné měření.

Do závěru napište výsledky měření.

Úkoly:

1) Zapište rovnici reakce; pokud bude třeba, vyčíslíte ji.



Z poměru látkových množství a známých veličin vyjádřete hledanou koncentraci:

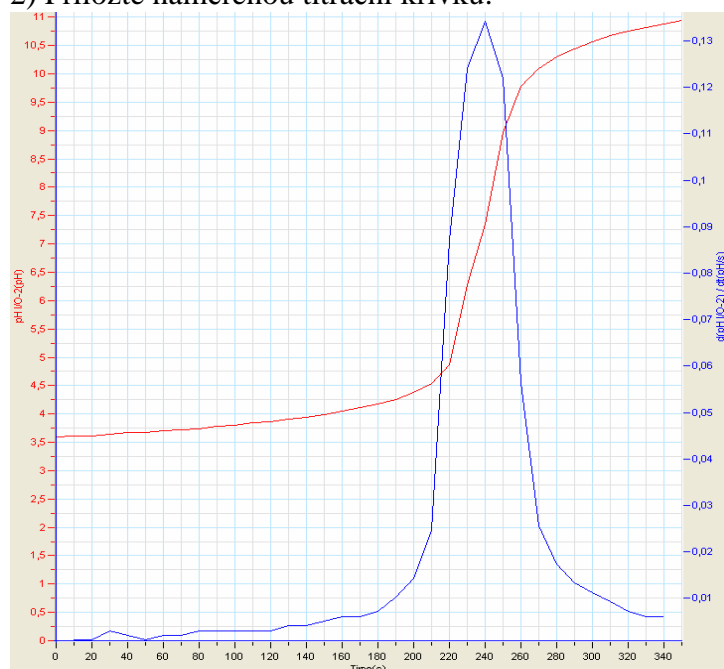
$$n(\text{HCl}) : n(\text{NaOH}) = 1 : 1$$

$$n(\text{HCl}) = n(\text{NaOH})$$

$$c(\text{HCl}) \cdot V(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

$$c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) / V(\text{HCl})$$

2) Přiložte naměřenou titrační křivku:



Titrační křivka (červená) a její 1. derivace (modrá), jejíž maximum určuje čas bodu ekvivalence.

3) Zapište všechny známé veličiny i odečtený objem a z výše odvozeného vzorce spočítejte neznámou koncentraci:

$c(\text{HCl}) = ?$ (vhodná je koncentrace okolo 0,1 mol/l)

$V(\text{HCl}) = 10 \text{ ml} = 0,01 \text{ l}$

$c(\text{NaOH}) = 0,1687 \text{ M}$

rychlost přidavku činidla: 1x/10 sec.

Velikost přidavku: 0,3 ml

$V(\text{NaOH})$: bod ekv. 240 s, tzn. přidavek činidla byl 24x – 1x (první přidavek byl vynechán) = 23x.

$V(\text{NaOH}) = 23 \cdot 0,3 \text{ ml} = 6,9 \text{ ml} = 0,0069 \text{ l}$

$c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) / V(\text{HCl})$

$c(\text{HCl}) = 0,1687 \cdot 0,0069 / 0,01$

$c(\text{HCl}) = 0,1164 \text{ M}$

Zhodnocení:

Závěr: Vzorek kyseliny chlorovodíkové měl koncentraci 0,1164 mol/l.

Pozn.:

- Úloha může být kombinována s úlohou, kdy žáci připraví odměrný roztok NaOH o přesné koncentraci, kterou zjistí titrací na základní látku kyselinou šťavelovou
- pozor, aby si studenti uvědomili dosazovaný objem kyseliny. Sice ředí 10 ml vzorku na 200 ml, ale do výpočtu se dosadí 10 ml, protože stanovují koncentraci tohoto vzorku.
- Přídavek odměrného činidla je možné volit dle potřeb, stejně jako koncentraci vzorku a odměrného činidla. Uvedený návod je připraven s ohledem na únosnou délku a přesnost stanovení.

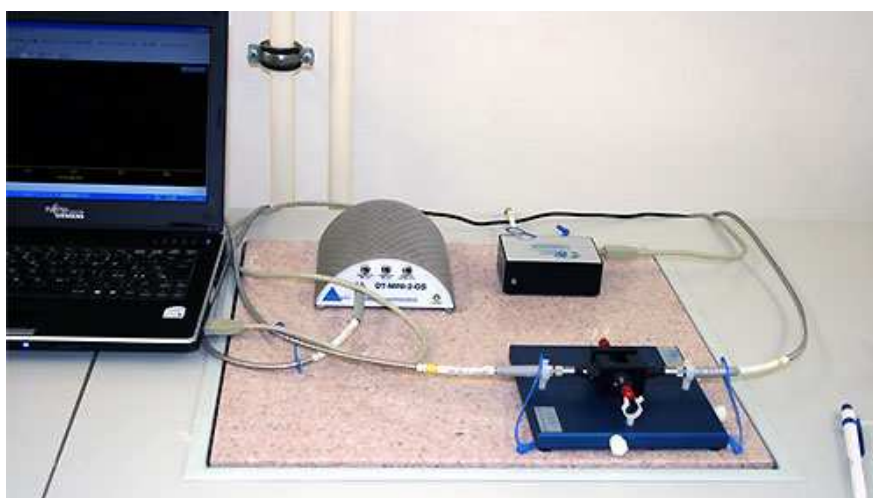
Fotografie:



stanovení barviva v cukrovinkách



stanovení barviva v nápojích



spektrofotometr



acidobazická titrace



závislost pH na přítomnosti oxidu uhličitého