

PŘÍLOHA 1: PŘÍKLADY DIDAKTICKÝCH ÚLOH PRO PRÁCI S VYVINUTÝMI SPEKTROFOTOMETRY

Úloha 1: Kvantitativní analýza spektrofotometrií

Teorie

Spektrofotometrie je velmi užitečnou metodou, pokud potřebujete zjistit koncentraci roztoku a nechcete využívat žádné složitější chemické procesy, abyste ji zjistili. Lambert–Beerův zákon nám říká, že absorbance roztoku je přímo úměrná koncentraci roztoku c , tloušťce prostředí l skrze, které musí záření projít a molárnímu absorpčnímu koeficientu ϵ_λ (viz rovnice dole). Molární absorpční koeficient je vždy stejný pro danou vlnovou délku a tloušťka květy se také nemění, takže pokud budeme brát l a ϵ_λ jako konstanty, pak by vyjádření tohoto vztahu měla být lineární funkce, kde koncentrace je na ose x a absorbance na ose y . Tuto skutečnost můžeme využít tím, že si sestavíme tzv. **kalibrační křivku**, ta funguje na principu naměření alespoň 4 roztoků o známé koncentraci a následně naměřené absorbance jednotlivých roztoků nanese do grafu závislosti absorbance na koncentraci. Všechny hodnoty by měly vycházet okolo jedné přímky. V excelu si uděláme graf se spojnicí trendu a na ní následně hledáme bod, který koresponduje s naměřenou absorbancí.

Lambert–Beerův zákon: $A = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot c$

Příklad výpočtu koncentrace neznámého roztoku: (Spektrofotometrie, 2024)

Výchozí rovnice: $A = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot c_A$

tloušťka květy l : konstantní (většinou 1 cm)

Absorbance A : naměřená

molární absorpční koeficient ϵ_λ : směrnice kalibrační křivky (lze vypočítat zprůměrováním dosazováním do vzorce $\epsilon_\lambda = A / (l \cdot c_A)$ u známých koncentrací).

Koncentrace c_A : neznámá

Po spočítání molárního absorpčního koeficientu se vyjádří z výchozí rovnice molární koncentrace, jejíž finální podoba bude $c_A = A / (l \cdot \epsilon_\lambda)$.

Zadání

Změřte přibližnou koncentraci roztoku modré skalice za pomoci techniky kalibrační křivky.

Pomůcky

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
- Destilovaná voda
- Kádinky na zásobní roztoky
- Plastová pipeta – kapátko
- 6x kyveta
- spektrofotometr

Postup

- Připravte 4 roztoky o molární koncentraci postupující od 0,04 do 0,16 mol/l s mezerami 0,04 mol/l ($M_{\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}} = 249,7 \text{ g/mol}$)
- odeberte z každého roztoku kapátkem 2–3 ml a vlijte do kyvety
- připravte si kyvetu s destilovanou vodou, kterou změřte na spektrofotometru jako slepý vzorek
- po zkalibrování spektrometru postupně vkládejte kyvety do spektrofotometru a zaznamenejte si hodnoty absorbance na jedné vlnové délce u daných koncentracích
- udělejte z naměřených hodnot v excelu graf závislosti absorbance na koncentraci a vypočítejte průměrný molární absorpční koeficient
- změřte absorbanci roztoku o neznámé koncentraci a vypočítejte kolik je jeho přibližná koncentrace dosazením do rovnice Lambert–Beerova zákona

Tabulka s výsledky

Koncentrace [mol/l]	Absorbance
0,04	
0,08	
0,12	
0,16	

Závěr

Díky kalibrační křivce jsme zjistili, že neznámý roztok má přibližnou koncentraci