|  |  |
| --- | --- |
| **jméno:** | |
| **obor:** | **datum provedení:** |

**Materiál a vybavení:**

10 mmol.l-1 hexakyanoželezitan draselný – zásobní roztok

*zkumavky, kádinka, pipety, odměrná baňka 50 ml, vortex, fotometr, kyvety*

Experimentální výsledky si zapisujte do **kontrolního listu** (poslední strana). Kontrolní list předkládejte ke kontrole a podpisu vyučujícímu po provedení každé praktické části úlohy (A, B, C, D). Vyhodnocení dat pak provedete do následujícího cvičení. Jako **protokol** odevzdáte vyplněný návod. Protokol musí být vyplněn ve všech šedých částech a nesmí být zpracován obyčejnou tužkou. **Neúplné protokoly budou bez kontroly vráceny k dopracování!**

**PRAKTICKÁ ČÁST A. Příprava zředěného roztoku**

**Postup:**

Do 50 ml odměrné baňky napipetujte 5 ml zásobního roztoku 10 mmol.l-1 hexakyanoželezitanu draselného, doplňte destilovanou vodou po značku a dobře promíchejte. Zředěný roztok hexakyanoželezitanu draselného přelijte do kádinky a označte. Do zkumavky odpipetujte 1 ml zředěného roztoku a 1 ml destilované vody. Změřte absorbanci tohoto roztoku na spektrofotometru při vlnové délce 420 nm. Před měřením přístroj vynulujte změřením slepého vzorku (nulová koncentrace měřené látky). Jako slepý vzorek použijte destilovanou vodu.

|  |  |
| --- | --- |
| A420 |  |

*Výsledek předložte ke kontrole vedoucímu cvičení. Teprve potom používejte zředěný roztok hexakyanoželezitanu draselného k další práci.*

**Vyhodnocení:**

Z Lambert-Beerova zákona

**A = ε . c . l**

kde **A** je absorbance roztoku, **ε** jemolární absorpční koeficient [l.mol-1.cm-1], **c** je koncentrace látky ve zředěném roztoku [mol.l-1] a **l** je délka optické dráhy v kyvetě, vypočítejte **ε** pro hexakyanoželezitan draselný**.**

Uveďte ředění roztoku (při fotometrii): krát

Výpočet:

U všech výsledků **VŽDY** uvádějte **fyzikální rozměr veličiny**! Pamatujte, že **vypočtený výsledek nelze uvádět s vyšší přesností (s vyšším počet platných číslic) než jsou experimentálně získaná data**. Zde měříte absorbanci na 3 platné číslice (např. 0,**123**), proto i vypočtený **ε** musíte uvést na stejný počet platných číslic(např. **12,3** l.mol-1.cm-1). Týká se všech výsledků, nejen v tomto cvičení!

**PRAKTICKÁ ČÁST B. Pipetování skleněnými pipetami**

**Postup:**

Do sady zkumavek pipetujte podle rozpisu v tabulce:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| zkumavka  č. | pipetovaný objem | | vypočtená c(K3[Fe(CN)6])  [mmol.l-1] | A420 | Ø A420 |
| **zředěný** roztok K3[Fe(CN)6] [ml] | destilovaná voda  [ml] |
| 1 | 0,5 | 4,5 |  |  |  |
| 2 | 0,5 | 4,5 |  |
| 3 | 1,0 | 4,0 |  |  |  |
| 4 | 1,0 | 4,0 |  |
| 5 | 1,5 | 3,5 |  |  |  |
| 6 | 1,5 | 3,5 |  |
| 7 | 2,0 | 3,0 |  |  |  |
| 8 | 2,0 | 3,0 |  |
| 9 | 2,5 | 2,5 |  |  |  |
| 10 | 2,5 | 2,5 |  |
| 11 | 3,0 | 2,0 |  |  |  |
| 12 | 3,0 | 2,0 |  |

Vzorky promíchejte na vortexu a změřte jejich absorbanci při vlnové délce 420 nm. Jako slepý vzorek použijte opět destilovanou vodu.

**Vyhodnocení:**

Sestrojte kalibrační graf (závislost A420na koncentraci K3[Fe(CN)6] ve zkumavce). Například v programu MS Excel použijte graf XY bodový; body proložte lineární spojnicí trendu. Vzhledem k tomu, že jste vynulováním na slepý vzorek přiřadili nulové koncentraci K3[Fe(CN)6] nulovou absorbanci, musí kalibrační přímka procházet počátkem grafu [0;0]. (V programu MS Excel: Formát spojnice trendu/Možnosti/Hodnota Y=0).

Z rovnice kalibrační přímky, kterou zobrazíte v grafu, pak odečtěte milimolární absorpční koeficient a přepočtěte jej na **molární absorpční koeficient ε** (přepočet uveďte níže, uveďte fyzikální rozměr!):

**PRAKTICKÁ ČÁST C. Použití pipety s nastavitelným objemem 0,1 – 1,0 ml (100-1000 μl)**

**Postup:**

Do sady zkumavek pipetujte 1 ml destilované vody a dále odměřujte pipetou podle rozpisu v tabulce:

**Návod k použití pipety:** Používají se jednorázové špičky, pro rozsah 100-1000 μl zpravidla **modré** (někdy bílé)**.** Na číselníku nastavte objem v μl. Pipeta má 2 polohy (vyzkoušejte stisknutím pístu). Při **nabírání** stiskneme píst **do 1. polohy**, ponoříme špičku do zásobního roztoku a píst opatrně pustíme. Tím máme ve špičce odměřený požadovaný objem roztoku. Pro **vytlačení** roztoku ze špičky vložíme špičku do zkumavky a stiskneme píst do **2. polohy**.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| zkumavka  č. | pipetovaný objem | | vypočtená c(K3[Fe(CN)6])  [mmol.l-1] | A420 | Ø A420 |
| **zředěný** roztok K3[Fe(CN)6] [ml] | destilovaná voda  [ml] |
| 1 | 0,2 | 0,8 |  |  |  |
| 2 | 0,2 | 0,8 |  |
| 3 | 0,4 | 0,6 |  |  |  |
| 4 | 0,4 | 0,6 |  |
| 5 | 0,6 | 0,4 |  |  |  |
| 6 | 0,6 | 0,4 |  |
| 7 | 0,8 | 0,2 |  |  |  |
| 8 | 0,8 | 0,2 |  |
| 9 | 1,0 | 0,0 |  |  |  |
| 10 | 1,0 | 0,0 |  |

Vzorky promíchejte na vortexu a změřte jejich absorbanci při vlnové délce 420 nm. Jako slepý vzorek použijte destilovanou vodu.

**Vyhodnocení:**

Sestrojte kalibrační graf (závislost A420na koncentraci K3[Fe(CN)6] ve zkumavce). Například v programu MS Excel použijte graf XY bodový; body proložte lineární spojnicí trendu. Vzhledem k tomu, že jste vynulováním na slepý vzorek přiřadili nulové koncentraci K3[Fe(CN)6] nulovou absorbanci, musí kalibrační přímka procházet počátkem grafu [0;0]. (V programu MS Excel: Formát spojnice trendu/Možnosti/Hodnota Y=0).

Z rovnice kalibrační přímky, kterou zobrazíte v grafu, pak odečtěte milimolární absorpční koeficient a přepočtěte jej na **molární absorpční koeficient ε** (přepočet uveďte níže, uveďte fyzikální rozměr!):

**PRAKTICKÁ ČÁST D. Použití pipety s nastavitelným objemem 0,01 – 0,1 ml (10-100 μl)**

**Postup:**

Do sady zkumavek pipetujte 1,9 ml destilované vody a dále odměřujte pipetou podle rozpisu v tabulce:

**Návod k použití pipety:** Používají se jednorázové špičky, pro rozsah 10-100 μl zpravidla **bílé** (někdy žluté)**.** Na číselníku nastavte objem v μl. Pipeta má 2 polohy (vyzkoušejte stisknutím pístu). Při **nabírání** stiskneme píst **do 1. polohy**, ponoříme špičku do zásobního roztoku a píst opatrně pustíme. Tím máme ve špičce odměřený požadovaný objem roztoku. (Při dávkování malých objemů (pod 50 μl) otřeme špičku čtverečkem buničité vaty, abychom odstranili kapky roztoku mimo špičku a snížili tak chybu pipetování). Pro **vytlačení** roztoku ze špičky vložíme špičku do zkumavky a stiskneme píst do **2. polohy**.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| zkumavka  č. | pipetovaný objem | | vypočtená c(K3[Fe(CN)6])  [mmol.l-1] | A420 | Ø A420 |
| **zásobní** roztok K3[Fe(CN)6] [ml] | destilovaná voda  [ml] |
| 1 | 0,02 | 0,08 |  |  |  |
| 2 | 0,02 | 0,08 |  |
| 3 | 0,04 | 0,06 |  |  |  |
| 4 | 0,04 | 0,06 |  |
| 5 | 0,06 | 0,04 |  |  |  |
| 6 | 0,06 | 0,04 |  |
| 7 | 0,08 | 0,02 |  |  |  |
| 8 | 0,08 | 0,02 |  |
| 9 | 0,10 | 0,00 |  |  |  |
| 10 | 0,10 | 0,00 |  |

Vzorky promíchejte na vortexu a změřte jejich absorbanci při vlnové délce 420 nm. Jako slepý vzorek použijte destilovanou vodu.

**Vyhodnocení:**

Sestrojte kalibrační graf (závislost A420na koncentraci K3[Fe(CN)6] ve zkumavce). Například v programu MS Excel použijte graf XY bodový; body proložte lineární spojnicí trendu. Vzhledem k tomu, že jste vynulováním na slepý vzorek přiřadili nulové koncentraci K3[Fe(CN)6] nulovou absorbanci, musí kalibrační přímka procházet počátkem grafu [0;0]. (V programu MS Excel: Formát spojnice trendu/Možnosti/Hodnota Y=0).

Z rovnice kalibrační přímky, kterou zobrazíte v grafu, pak odečtěte milimolární absorpční koeficient a přepočtěte jej na **molární absorpční koeficient ε** (přepočet uveďte níže, uveďte fyzikální rozměr!):

**ZÁVĚR**

Srovnejte výsledky získané v jednotlivých částech úlohy a uveďte, který z nich považujete za nejméně přesný – zdůvodněte.

|  |  |
| --- | --- |
| část úlohy | **molární absorpční koeficient ε**  (uveďte fyzikální rozměr) |
| A |  |
| B |  |
| C |  |
| D |  |

**KONTROLNÍ LIST**

|  |  |
| --- | --- |
| **jméno:** | |
| **obor:** | **datum provedení:** |

**ÚLOHA 1A**

|  |  |
| --- | --- |
| A420 |  |

Podpis vedoucího cvičení:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **ÚLOHA 1B** | **ÚLOHA 1C** | **ÚLOHA 1D** |
| zkumavka  č. | A420 | A420 | A420 |
| 1 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |
| 3 |  |  |  |
| 4 |  |  |  |
| 5 |  |  |  |
| 6 |  |  |  |
| 7 |  |  |  |
| 8 |  |  |  |
| 9 |  |  |  |
| 10 |  |  |  |
| 11 |  |
| 12 |  |

Podpis vedoucího cvičení: