

<b>jméno:</b>	
<b>obor:</b>	<b>datum provedení:</b>

**přílohy protokolu:** 3x kalibrační přímka (závislost  $A_{420}$  na koncentraci  $K_3[Fe(CN)_6]$ ).

**Materiál a vybavení:**

10 mmol.l<sup>-1</sup> 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 pipetujte 5 ml zásobního roztoku 10 mmol.l<sup>-1</sup> 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.

A<sub>420</sub>

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

**Vyhodnocení:**

Z Lambert-Beerova zákona

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

kde **A** je absorbance roztoku, **ε** je molární absorpcní 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 počtem 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 $c(K_3[Fe(CN)_6])$ [mmol.l <sup>-1</sup> ]	A <sub>420</sub>	$\bar{A}_{420}$
	zředěný roztok $K_3[Fe(CN)_6]$ [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 A<sub>420</sub> na koncentraci K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 přepracovte jej na **molární absorpční koeficient ε** (přepočet uveděte níže, uveděte 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 $c(K_3[Fe(CN)_6])$ [mmol.l <sup>-1</sup> ]	A <sub>420</sub>	$\bar{A}_{420}$
	<b>zředěný roztok</b> $K_3[Fe(CN)_6]$ [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 A<sub>420</sub> na koncentraci K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 uveděte níže, uveděte fyzikální rozměr!):

**PRAKTIČKÁ ČÁST D.****Použití pipety s nastavitelným objemem 0,01 - 0,1 ml (10-100  $\mu$ l).****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  $\mu$ l zpravidla **bílé** (někdy žluté). Na číselníku nastavte objem v  $\mu$ l. 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  $\mu$ l) 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 $c(K_3[Fe(CN)_6])$ [mmol.l <sup>-1</sup> ]	A <sub>420</sub>	$\bar{A}_{420}$
	<b>zá sobní</b> roztok $K_3[Fe(CN)_6]$ [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 A<sub>420</sub> na koncentraci K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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  $\epsilon$**  (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	<b>molární absorpcní koeficient <math>\epsilon</math></b> (uveďte fyzikální rozměr)
A	
B	
C	
D	

## **KONTROLNÍ LIST**

<b>jméno:</b>	
<b>obor:</b>	<b>datum provedení:</b>

### **ÚLOHA 1A**

A <sub>420</sub>	
------------------	--

Podpis vedoucího cvičení:

	<b>ÚLOHA 1B</b>	<b>ÚLOHA 1C</b>	<b>ÚLOHA 1D</b>
zkumavka č.	A <sub>420</sub>	A <sub>420</sub>	A <sub>420</sub>
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			

Podpis vedoucího cvičení: