



# Určení koncentrace pomocí Lambertova–Beerova zákona

## Pomůcky

Spektrometr Vernier GDX-SVISPL, kyvety dodávané se spektrometrem, ocejkovaná injekční stříkačka nebo pipeta, ocet, destilovaná voda, špejle či brčko na promíchání kyvety, ubrousek nebo papírový kapesník.

## Teorie

Schopnost roztoku pohlcovat světlo vyjadřuje veličina absorbance. Lambertův-Beerův zákon říká, že pro danou látku a dané uspořádání experimentu (např. rozměry aparatury) je absorbance přímo úměrná koncentraci roztoku.

## Myšlenka experimentu

Protože závislost absorbance na koncentraci je lineární, stačí pro získání kalibrační přímky dva kalibrační body: změříme absorbanci čistého octa (koncentrace octa 100 %) a absorbanci čisté vody (koncentrace octa 0 %).

Poté již lze určovat koncentraci roztoků octa jednoduše a rychle tak, že změříme absorbanci daného roztoku a na kalibrační přímce najdeme odpovídající koncentraci.

## Příprava roztoků

1. Připravte si potřebné roztoky. Jednu kyvetu naplňte čistou vodou (0% roztok octa), druhou octem (100% roztok octa).
2. Do dalších dvou kyvet namíchejte ocet a vodu, jednou v poměru 1:2 (33 %), podruhé v poměru 2:1 (67 %). Vzhledem k tomu, že kyvety mají objem přibližně 3 ml, lze jednoduše stříkačkou odměřit ocet a vodu přímo do kyvety v objemech 2 ml a 1 ml. Vzorek v kyvetě je poté potřeba důkladně promíchat.
3. Vysušte kapky, které mohly ulpět na vnějších stěnách kyvet – pro měření je potřeba, aby byly stěny kyvet čisté.

## Příprava spektrometru

1. Spustíte aplikaci Spectral Analysis, připojte spektrometr ([návod](#)) a v úvodní nabídce vyberte možnost *Absorbance vs. koncentrace* (*Beerův zákon*).
2. Po připojení čidla se automaticky spustí žhavení lampy – můžete pro vyšší přesnost 90 sekund vyčkat, nebo (jakmile to bude možné) kliknout na možnost *Přeskočit*.

### NOVÝ EXPERIMENT (MĚŘENÍ)



#### Absorbance $\lambda$

- vs. vlnová délka (Celé spektrum)
- vs. koncentrace (Beerův zákon)
- vs. čas (Kinetika)

3. Aplikace vás vyzve k vložení kyvety. Zasuňte kyvetu s destilovanou vodou do šachty tak, aby bílý trojúhelníček mířil na hladkou (tj. ne na vroubkovanou) stěnu kyvety. Poté zvolte *Dokončit kalibraci*.



4. Po krátké prodlevě (asi 10 sekund) se objeví okno s dalšími instrukcemi. Vyjměte kyvetu s čistou vodou a na její místo vložte kyvetu s čistým octem. V grafu vpravo se objeví křivka ukazující závislost absorpance na vlnové délce.
5. Nyní máte kliknutím do grafu zvolit vlnovou délku, na které bude čidlo absorpanci měřit. Pro lepší přesnost je vhodné zvolit vlnovou délku, pro kterou je absorpance co možná nejvyšší – v případě octa je to kolem 400 nm. Klikněte na maximum křivky do grafu nebo zadejte údaj číselně do okénka nad grafem a zvolte *Hotovo*.
6. Základní nastavení je tímto dokončeno a aplikace je připravena k měření.

**Zvolte vlnovou délku**

1. Vyjměte prázdnou kyvetu.
2. Vložte kyvetu se vzorkem.
3. Vybte požadovanou vlnovou délku klepnutím na graf nebo zadáním konkrétní hodnoty.

Poznámka: Absorbance by měla být mezi 0,1 a 1,0.

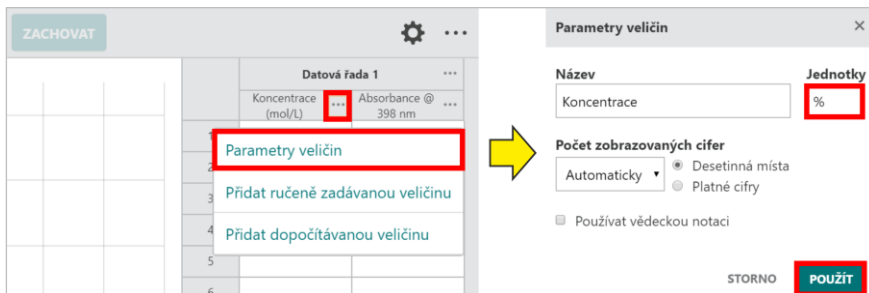
**podoba grafu poté, co jste vložili kyvetu s čistým octem a vybrali vhodnou vlnovou délku (zde 396 nm)**

KALIBROVAT SPEKTROMETR

**HOTOVO**

## Vytvoření kalibrační přímky

1. Ve sloupci *Datová řada 1* (v pravé části obrazovky) klikněte na tři tečky u veličiny *Koncentrace*, zvolte *Parametry veličin* a v okně, které se objeví, přepište jednotky z mol/L na %. Potvrďte tlačítkem *Použít*.



2. Kyvetu s čistým octem ponechte ve spektrometru a tlačítkem *ZAHÁJIT MĚŘENÍ* spusťte záznam dat.
3. Stiskněte tlačítko *ZACHOVAT* a do okna, které se zobrazí, zadejte hodnotu 100. Potvrďte tlačítkem *Zachovat hodnotu*. Do grafu se zanesou bod odpovídající absorpenci při 100% koncentraci octa.
4. Kyvetu s čistým octem vyjměte a místo ní vložte znovu kyvetu s čistou vodou. Opakujte krok 3, tentokrát zadejte hodnotu 0. Do grafu se zanesou druhý bod, odpovídající absorpenci při 0% koncentraci octa.
5. Tlačítkem *ZASTAVIT* zastavte měření a vyjměte kyvetu s vodou.
6. Nechte počítač naměřenými kalibračními body proložit přímkou: stiskněte tlačítko *Nástroje pro práci s grafem* vlevo dole, vyberte *Proložit hodnoty zvolenou funkcí*, v seznamu funkcí zvolte *Lineární funkce* a potvrďte tlačítkem *Použít*.

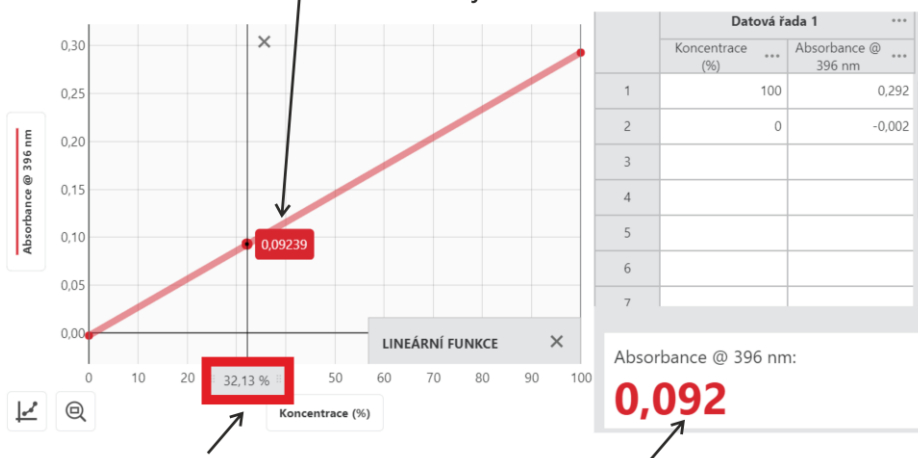


7. Znovu vyberte *Nástroje pro práci s grafem* a aktivujte možnost *Interpolovat*. Kliknutím do plochy grafu se zobrazí posuvný ukazatel umožňující odečítat číselné hodnoty dvojic absorpance-koncentrace ležících na kalibrační přímce.

## Měření koncentrace s využitím Lambertova-Beerova zákona

1. Do šachty spektrometru vložte kyvetu s jedním z dosud nepoužitých vzorků.
2. V okně vpravo dole se zobrazí hodnota absorbance aktuálního vzorku.
3. Potáhněte posuvný ukazatel tak, aby se hodnota zobrazovaná červeně na křivce co nejvíce blížila naměřené absorbanci. Ve vzorovém měření to byla hodnota 0,092.
4. Nyní odečtěte v šedém poli na vodorovné ose příslušnou koncentraci octa. Ve vzorovém případě to bylo přibližně 32 %, což velmi dobře odpovídá koncentraci roztoku vzniklého smícháním 2 dílů vody a 1 dílu octa.
5. Kroky 1 až 4 zopakujte pro poslední dosud nepoužitý vzorek.

Krok 3: Posuvný ukazatel nastavte tak, aby se na křivce zobrazila hodnota co nejbližší aktuálně měřené absorbanci



Krok 4: Odečtěte koncentraci v %.

Krok 2: Odečtěte aktuálně měřenou hodnotu absorbance

## Poznámky

- Čistým 100% octem myslíme ocet tak, jak jej koupíte v obchodě s potravinami, tedy 8% roztok kyseliny octové dobarvený karamellem (E150).
- Promíchání (homogenizace) vzorku v kyvetě je pro správné měření nezbytné.
- Kyvety je třeba vkládat do spektrometru tak, aby bílý trojúhelníček mířil na hladkou (tj. ne na vroubkovanou) stěnu kyvety. Hladká stěna kyvety musí být suchá a čistá.
- Pro demonstraci této analytické metody lze ověřovat koncentraci roztoků, jejichž koncentraci žáci předem znají. Můžete ale také nechat jednu skupinu připravit vzorky druhé skupině. Úkolem druhé skupiny pak bude stanovit koncentraci a svá měření u první skupiny ověřit.