

Základní optické metody

1. Spektrofotometrie – Absorpční křivka eosinu a stanovení jeho koncentrace

Cíl úlohy:

Určení absorpčního maxima eosinu z absorpční křivky.

Stanovení koncentrace eosinu v neznámém vzorku.

Úkol 1

Měření absorpční křivky eosinu a určení maxima v oblasti viditelného spektra.

Potřeby k měření:

Spektrofotometr Specol, automatická pipeta, roztoky pro měření, destilovaná voda.

Pracovní postup:

- 1) Zapněte spektrofotometr a nastavte pomocí voliče vlnových délek vlnovou délku 450nm.
- 2) Zkontrolujte čistotu kyvet (pozor: každá kyveta má 2 stěny čiré a 2 matné). Kyvetu uchopte vždy pouze za matné stěny.
- 3) Spektrofotometr Specol má pohyblivý držák měřicího nástavce pro 2 kyvety, vložte nejprve kyvetu s destilovanou vodou do jednoho úchyty, do druhého úchyty kyvetu s měřeným roztokem. Kyvety musí být naplněny nejméně do dvou třetin.
- 4) Změřte hodnotu absorbance. Pro destilovanou vodu se na displeji spektrofotometru musí ukázat hodnota 0,000. To znamená, že pro destilovanou vodu se automaticky nastavila hodnota absorbance 0,000. Nyní do měřicího prostoru zasuňte kyvetu s měřeným roztokem a odečtěte jeho absorbanci A.
- 5) Poté do měřicího prostoru zasuňte opět kyvetu s destilovanou vodou a hodnotu vlnové délky zvětšete o 10 nm. Po vynulování displeje (absorbance pro destilovanou vodu opět 0,000) vložte do měřicího prostoru kyvetu se zkoumaným roztokem a odečtěte jeho absorbanci A.
- 6) Uvedený postup opakujte a vlnovou délku světla zvyšte při každém kroku o 10 nm. Při proměrování absorpční křivky postupujeme do vlnové délky 550 nm.
- 7) Do grafu vyneste závislost absorbance na vlnové délce a odečtěte absorpční maximum, což je vlnová délka, při které je absorbance měřeného roztoku nejvyšší.

2. Refraktometrie – Stanovení koncentrace NaCl

Cíl úlohy:

Stanovení koncentrace NaCl v neznámém vzorku.

Potřeby k měření:

Refraktometr (v případě použití Abbeova refraktometru je nutná také osvětlovací lampa), krystalický NaCl, stojan se zkumavkami, automatické pipety, destilovaná voda, buničitá vata, váhy nebo předvážky, váženka.

Pracovní postup:

1. Předpokládejte, že koncentrace neznámého vzorku není vyšší než 200g/l. Proto 10ml základního roztoku připravte právě o této koncentraci z krystalického NaCl a destilované vody. Ředěním základního roztoku si připravte koncentrace NaCl 50, 100, 150g/l.
2. Osvětlovací hranol refraktometru oddělte od měřicího hranolu. Přesvědčte se o čistotě obou hranolů. Pokud uvidíte zbytky nečistot, opláchněte je destilovanou vodou a vysušte buničitou vatou.
3. Na plochu hranolu kápněte kapku zkoumané kapaliny a hranoly opět přiklopte.
4. V zorném poli pravého okuláru zaostřete pomocí okuláru obraz nitkového kříže. Zrcátko přístroje nastavte tak, aby zorné pole bylo dobře osvětleno.
5. Nyní otáčejte levým knoflíkem přístroje tak, až se v zorném poli pravého okuláru objeví rozhraní „světlé – tmavé“. Může být barevné díky rozdílným indexům lomu kapaliny a skla hranolů a tedy neostré. Kompenzaci, tj. „odbarvení“ a zároveň „zaostření“ proveďte otáčením pravého knoflíku přístroje (uvnitř se otáčí dvojice kompenzačních hranolů, které při vhodném natočení eliminují barevnost rozhraní, které se stane černo-bílým a tedy i ostrým). Takto vykompenzované rozhraní nastavte na střed kříže.
Pozn.: Otáčením knoflíku pro vyhledání rozhraní otáčíme systémem hranolů a de facto vyhledáváme oblast osvětlenou světlem, které se láme pod úhlem maximálně rovným úhlu meznímu pro aktuálně použitou kapalinu.
6. V levém okuláru odečtěte hodnotu indexu lomu kapaliny (s přesností na tři desetinná místa).
7. Postupně proměřte indexy lomu všech kalibračních roztoků, včetně základního. Nejprve změřte index destilované vody, dále postupujte od roztoku s nejnižší koncentrací k roztoku o nejvyšší koncentraci. Všechny naměřené hodnoty запиšte do tabulky a poté vytvořte graf závislosti indexu lomu na koncentraci.
8. Nakonec změřte index lomu neznámého vzorku, a z grafu odečtěte jeho koncentraci.
9. Po skončení měření otřete plochy obou hranolů buničinou zvlhčenou destilovanou vodou nebo opláchněte destilovanou vodou a otřete buničinou a nechte hranoly odklopeny.

Diskutujte výhody a nevýhody této metody ve srovnání s jinými optickými metodami.