



**58. ročník**

**2021/2022**

**ŠKOLNÍ KOLO**

**Kategorie B**

---

**Praktická část – Zadání**

20 bodů

**PRAKTICKÁ ČÁST****20 BODŮ****Autor****RNDr. Petr Šmejkal, Ph.D.***Katedra učitelství a didaktiky chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha***Recenze****prof. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.***Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha*

Milí soutěžící,

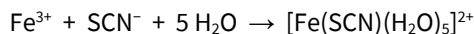
v praktické části letošního ročníku se budeme stejně jako v anorganické části teoretických úloh zabývat kovy, především jejich analytickými důkazy a kvantitativním stanovením. Pro tyto účely je vhodné si zopakovat základní stechiometrické výpočty.

Hodně zdaru přeje

Autor

**Teoretický úvod k úloze domácího kola**

Železité ionty poskytují reakci s ionty thiokyanatanovými intenzivně zbarvený krvavě červený komplex:



Reakce je specifická a velmi citlivá a lze s její pomocí dokázat už velmi malá množství železitých iontů či železa, pokud jej na železité ionty nejprve převedeme. A samozřejmě také naopak, s pomocí této reakce lze dokázat i malá množství iontů thiokyanatanových. Uvedená reakce se často využívá ke kvalitativnímu důkazu obou iontů, ale může být využita i ke kvantitativní analýze.

Vysoká citlivost reakce železitých iontů s thiokyanatanovými ionty lze využít i např. pro identifikaci kuřáka. Dokonce lze i orientačně zjistit, kolik cigaret denně vykouří. Do slin se totiž thiokyanatanové ionty dostávají jako metabolické produkty řady biotransformačních reakcí, přičemž jejich případná vyšší koncentrace se dává do souvislosti především s expozicí daného jedince tabákovému dýmu. U nekuřáků byla nalezena koncentrace thiokyanatanů ve slinách v rozmezí  $(0,5-2,0) \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , u kuřáků (a to i pasivních) tato koncentrace dosahuje násobně vyšších hodnot, až  $6,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Na druhé straně, nejedná se o důkaz jednoznačný, koncentraci thiokyanatanů ve slinách zvyšuje i konzumace některých potravin (mandle, řeřicha) či nadměrný příjem vitamínu B.

Pro kvantitativní stanovení intenzivně zbarvených sloučenin je nejvhodnější metodou spektroskopické stanovení pomocí spektrofotometru. Jak si prakticky ověříme, ve speciálních případech jako je tento může funkci spektrofotometru zastoupit i chytrý mobilní telefon s nainstalovanou příslušnou aplikací.

**Spektrofotometrie a její využití pro kvantitativní stanovení látek**

Pokud vyšleme na průhledný (transparentní) vzorek záření o vlnové délce  $\lambda$  o intenzitě  $I_0$ , může dojít k jeho částečnému pohlcení a záření se zeslabí na intenzitu  $I$ . Tento proces lze popsat veličinou zvanou transmitance  $T$ , která charakterizuje propustnost vzorku pro elektromagnetické záření dané vlnové délky:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Transmitance se ale příliš nehodí pro kvantitativní stanovení, protože její závislost na koncentraci (což je veličina, kterou typicky při kvantitativním stanovení hledáme) je exponenciální. Pokud ale zavedeme novou veličinu zvanou absorbance  $A$ :

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I},$$

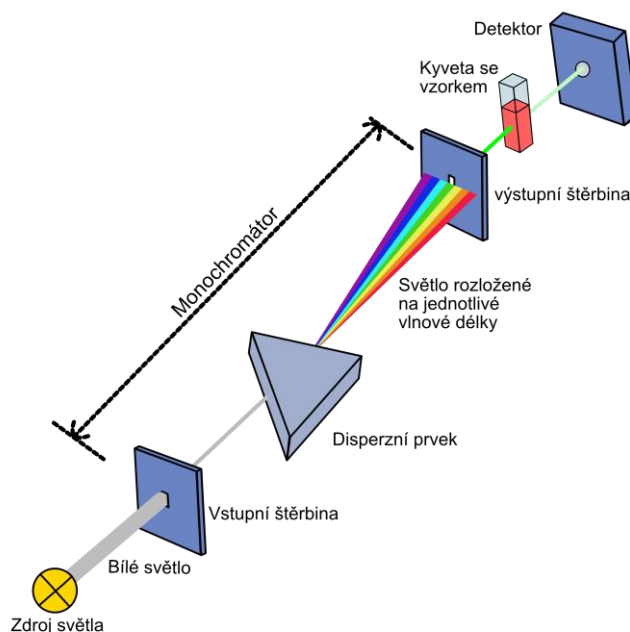
tak se vše zjednoduší, protože absorbance je závislá na koncentraci lineárně. Daná závislost se nazývá jako Lambertův-Beerův zákon a zní:

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot l \cdot c$$

kde  $\varepsilon_{\lambda}$  je tzv. molární absorpční koeficient, který u dané látky při dané vlnové délce  $\lambda$  charakterizuje absorpci vzorku při jednotkové koncentraci, a  $l$  je tzv. optická dráha, neboli vzdálenost, kterou záření urazí ve vzorku. Při měření je optická dráha dána délkou (resp. tloušťkou) kyvety – to je speciální nádobka, v níž je umístěn studovaný vzorek. Veličina  $c$  je molární koncentrace absorbující látky ve vzorku. Jak je z uvedeného vztahu patrné, s rostoucí koncentrací roste absorbance a rovněž tedy intenzita zabarvení vzorku, měříme-li barevné vzorky. Ty měříme uvedeným způsobem nejčastěji, protože instrumentace je v případě barevných sloučenin relativně jednoduchá. Grafem závislosti  $A$  na  $c$  je při použití stejného experimentálního uspořádání zjevně přímka.

Pokud dostaneme do rukou neznámý vzorek s neznámou koncentrací stanovované látky, je optimální, pokud je tato barevná nebo pokud lze na barevnou látku převést. Tak tomu bude i v případě našeho stanovení, kdy bezbarvý thiokyanatanový anion budeme převádět na barevný komplex, tedy již zmíněný  $[\text{Fe}(\text{SCN})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ . Dále potřebujeme naměřit tzv. kalibrační přímku, abychom věděli, jak se mění absorbance (a zabarvení) s koncentrací. K tomu vezmeme zásobní roztok se známou koncentrací stanovované látky, s jehož pomocí připravíme několik standardů s různými koncentracemi tak, aby odhadovaná koncentrace stanovované látky v neznámém vzorku ležela mezi krajními body koncentrací kalibrační přímky. Následně změříme absorbanci  $A$  jednotlivých standardů a neznámého vzorku. Vyneseme závislost absorbance standardů oproti jejich koncentraci, proložíme těmito body přímku a odečteme rovnici této přímky. Nakonec už nezbývá než z hodnoty absorbance našeho neznámého vzorku pomocí rovnice kalibrační přímky vypočítat koncentraci.

Spektrofotometrická měření provádíme obvykle pomocí spektrofotometru. Jeho schéma je na Obr. 1:



Obr. 1: Schéma spektrofotometru

Zdroj světla obvykle generuje spojité světlo, tj. světlo, ve kterém jsou spojitě zastoupeny vlnové délky určitého rozsahu (v našem případě viditelné světlo, tedy záření s vlnovými délkami cca 380–760 nm). Z toho monochromátor vymeze určitou vlnovou délku záření (a v našem případě i barvu světla), která prochází dále do kyvety se vzorkem. Obvykle volíme takovou vlnovou délku, kterou vzorek hodně absorbuje. Po projití vzorkem dopadá prošlé záření na detektor, který změří jeho intenzitu. Obslužný software pak obvykle převede naměřené hodnoty na absorbanci a zobrazí výsledek na monitoru počítače.

Při našem stanovení se však musíme obejít bez spektrofotometru, který není každému triviálně dostupný. Jako zdroje světla využijeme bílého světla žárovky nebo diody, a sérii standardů a roztok vzorku vyfotografujeme mobilním telefonem. Při zpracování digitální fotografie obejdeme potřebu monochromátoru výběrem konkrétní barvy v obrázku (pomocí standardní palety) a pomocí vhodného software změříme intenzitu zabarvení, což nahradí použití detektoru.

## Úloha 1      Spektrofotometrické stanovení obsahu thiokyanatanů ve      20 bodů slinách

### Pomůcky:

- Chytrý mobilní telefon s nainstalovanou aplikací např. „RGB color detector“ nebo obdobnou.
- Mikrotitrační destička, tečkovací destička – důležité je, aby daná destička měla dostatečný počet jamek, které mají přesně stejný rozměr, aby v nich pevně daný objem kapaliny vytvořil stejnou tloušťku vrstvy. Lze nahradit setem malých lahviček (7–21 ks) shodného průměru (aby tloušťka vrstvy měřené kapaliny byla po nalití definovaného objemu vzorku shodná), případně setem stejných zkumavek (7–21 ks).
- Malé dělené pipety nebo injekční stříkačky.
- Zdroj bílého světla.
- Zkumavky nebo malé lahvičky, 7 ks (příprava roztoků standardů a vzorku).
- Odměrná baňka, 100 ml.
- Váhy.
- Stativ nebo stojan na uchycení mobilního telefonu.

### Chemikálie:

- Roztok dusičnanu železitého o koncentraci  $0,200 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v kyselině dusičné o koncentraci  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .
- Roztok thiokyanatanu draselného o koncentraci  $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

### Úkol:

- 1) Stanovte koncentraci a hmotnostní koncentraci  $\text{SCN}^-$  iontů v dodaném vzorku.

### Pracovní postup:

Ze zásobních roztoků odměřte podle následující tabulky do vhodných zkumavek nebo malých lahviček roztoky pro naměření kalibrační přímky (obsah vždy pečlivě promíchejte):

Standard	Roztok $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ [ml]	Roztok KSCN [ml]	$\text{H}_2\text{O}$ [ml]
A	2,50	0	2,50
B	2,50	0,50	2,00
C	2,50	1,00	1,50
D	2,50	1,50	1,00
E	2,50	2,00	0,50
F	2,50	2,50	0
Vzorek	Roztok $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ [ml]	Roztok vzorku [ml]	$\text{H}_2\text{O}$ [ml]
G	2,50	1,00	1,50

K přípravě jednotlivých kalibračních roztoků využijte dělené pipety, automatické pipety, můžete využít i malé injekční stříkačky, např. pro diabetiky – tzv. inzuliniky, viz Obr. 2.

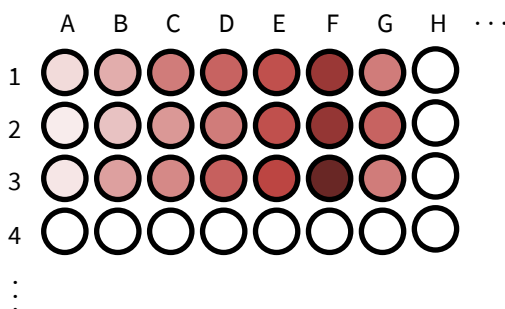


Obr. 2: Inzulinka

Samotný (neznámý) vzorek připravte následovně. Osoba, u níž provádíme odběr, si vypláchne ústa pitnou vodou a posléze se do kádinky odebere několik mililitrů slin. Následně odpipetujeme (či odebereme stříkačkou) 1,00 ml vzorku slin a k němu přidáme 2,50 ml standardního roztoku dusičnanu železitého a 1,50 ml destilované vody. Dále jednotlivé kalibrační roztoky a také vzorek s neznámou koncentrací thiokyanatanů zpracováváme stejným způsobem.

Samotné měření každé koncentrace pro jednotlivé vzorky kalibrační řady a rovněž i vzorku se provede ve třech paralelních měřeních. Do důlků mikrotitrační nebo kapkovací destičky (Obr. 3) odpipetujte (či odměřte pomocí injekční stříkačky) 200  $\mu$ l příslušného roztoku kalibrační řady (A–F) od nejnižší koncentrace k nejvyšší (obsadí se důlky A1–F3), do důlků G1–G3 odpipetujte 200  $\mu$ l vzorku s neznámou koncentrací. V případě, že nemáte k dispozici mikrotitrační destičku, lze vzorky odměřit do lahvíček shodných rozměrů; objem volte tak, aby v lahvíčkách byla vrstva roztoku o výšce cca 5 mm. Optimální je, pokud by bylo k dispozici 21 lahvíček pro všechny vzorky, aby se všechny mohly vyfotografovat najednou. Lze pořídit i fotografii zkumavek obsahujících roztoky proti bílému pozadí.

V případě nedostatku vhodného nádobí lze samozřejmě standardní roztoky namíchat ve větších objemech, příp. míchání roztoků standardů provést třikrát se sedmi lahvíčkami (A–G) a ještě dvakrát zopakovat, čímž dostanete tři nezávislé série dat pro vytvoření kalibrační přímky. Při fotografování jednotlivých sérií je ovšem nutné dodržet co nejbližší podmínky (světlo, vzdálenost objektivu od série vzorků, atp.). Místo vzorku slin lze použít i uměle připravený vzorek thiokyanatanu, nejlépe o koncentraci odpovídající asi polovině kalibrační přímky.



Obr. 3: Schématické znázornění tečkovací (mikrotitrační) destičky s označením jednotlivých důlků a jejich plněním roztoky standardů a měřeným roztokem.

Nainstalujte si do mobilního telefonu aplikaci „RGB color detector“. Destičku se vzorky umístěte na (pokud je destička průhledná) či pod zdroj rovnoměrného bílého světla. V aplikaci vyberte možnost „image“ → „take a photo“ a vyfoťte destičku z pohledu přímo shora. Nyní klikněte na tlačítko „area“ a posouvejte fotkou tak, abyste měli v zaměřovací čtverečku vždy obsah jednoho důlku. Do tabulky si запиšte číslo, které je na horním řádku napsáno zelenou barvou (např. G: 211), toto číslo označuje intenzitu zelené barvy v daném místě obrázku. Naměřenými údaji vyplňte Tabulku 1 v Pracovním listu. Z jednotlivých paralelních hodnot spočítejte průměrnou hodnotu, příp. (při zanedbání jedné hodnoty významně odlišné od ostatních) zvolte nejvěrohodnější hodnotu intenzity zelené barvy pro danou koncentraci vzorku, a запиšte ji do Tabulky 1.

Vypočítejte koncentrace thiokyanatanového aniontu v jednotlivých roztocích standardů (A–E) a vepište je do Tabulky 2 v pracovním listě. Do dalšího sloupce přepište přijatou hodnotu intenzity zeleného světla z Tabulky 1, a vypočítejte hodnotu záporného dekadického logaritmu relativní intenzity  $-\log(I/I_0)$ , kde  $I_0$  je intenzita (či lépe řečeno zjištěná hodnota zelené barvy) standardu A, který neobsahuje žádné thiokyanatanové ionty.

Ve vhodném softwaru (MS Excel, Oo Calc, Google tabulky, ...) vynesete závislost  $-\log(I/I_0)$  na koncentraci  $\text{SCN}^-$  iontů. Vzniklý graf proložte přímkou následujícím postupem (platí pro Google Tabulky, analogický postup platí i při použití ostatních tabulkových editorů): Do tabulkového editoru vyplňte sloupec hodnot  $c(\text{SCN}^-)$  (tj. čísla z druhého sloupce Tabulky 2) a  $-\log(I/I_0)$  (tj. poslední sloupec Tabulky 2). Volbou „Vložit“ → „Graf“ vložte graf, napravo od něj se zobrazí „Editor grafů“. V menu „Nastavení“ vyberte „Bodový graf“ (s nepropojenými body), jako „Osa x“ zvolte buňky, kde jsou hodnoty  $c(\text{SCN}^-)$ , jako „řady“ zvolte buňky, kde jsou hodnoty  $-\log(I/I_0)$ . Dále zvolte menu „Přizpůsobit“ a v podmenu „Řady“ zaškrtněte „Spojnice trendu“. Program proloží přímkou jednotlivými body. Zaškrtněte teď také „Zobrazit  $R^2$ “, hodnota se zobrazí v grafu. Z podmenu „Štítek“ vyberte také „Použít vzorec“. V grafu se zobrazí rovnice proložené přímkou.

Do Pracovního listu vepište rovnici kalibrační přímky.

Tuto rovnici využijte k výpočtu koncentrace thiokyanatanových iontů ve vzorku slin (G). Do Pracovního listu uveďte postup výpočtu a výslednou zjištěnou hodnotu v jednotkách  $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a  $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Vypočítejte koncentraci thiokyanatanových iontů v původním (nezředěném) vzorku slin. Výsledek uveďte do Pracovního listu v jednotkách  $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a  $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Zodpovězte na doplňující otázky v Pracovním listě.

**PRACOVNÍ LIST****20 BODŮ****Úloha 1      Spektrofotometrické stanovení obsahu thiokyanatanů ve slinách      20 bodů**

1) Tabulka 1: Odečtené hodnoty intenzity / zelené barvy.

Roztok	1. stanovení	2. stanovení	3. stanovení	Přijatá hodnota /
Standard A				
Standard B				
Standard C				
Standard D				
Standard E				
Standard F				
Vzorek G				

**body:**



**2) Zpracování dat**

Vypočítejte koncentrace thiokyanatanového aniontu v jednotlivých roztocích standardů (A–F) a vepište je do Tabulky 2. Do tabulky také přepište přijatou hodnotu intenzity zeleného světla z Tabulky 1, a vypočítejte hodnotu záporného dekadického logaritmu relativní intenzity  $-\log(I/I_0)$ .

Tabulka 2: Údaje pro sestavení kalibrační přímky a určení koncentrace neznámého vzorku.

Roztok	$c(\text{SCN}^-)$	Přijatá hodnota $I$	$-\log(I/I_0)$
Standard A			
Standard B			
Standard C			
Standard D			
Standard E			
Standard F			
Vzorek G	-		

**body:****3) Rovnice kalibrační přímky:**

<b>body:</b>



4) Výpočet koncentrace thiokyanatanových iontů v neznámém vzorku G.

Výpočet:

Molární koncentrace thiokyanatanových iontů v neznámém vzorku G:

Výsledek: ..... mol · dm<sup>-3</sup>

Hmotnostní koncentrace thiokyanatanových iontů v neznámém vzorku G:

Výsledek: ..... mg · dm<sup>-3</sup>

**body:**

