



57. ročník

2020/2021

ŠKOLNÍ KOLO

Kategorie B

Praktická část – Zadání

20 bodů

Autoři

Vojtěch Laitl

*VŠCHT Praha, Fakulta chemicko-inženýrská Ústav fyzikální chemie
Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i.,*

Mgr. Radek Matuška

Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, p. o.

doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, katedra anorganické chemie

Recenze

Milí studenti,

letošní rok přinesl spoustu organizačních problémů, ale třeba i výzev. Jednou z nich bylo i vytvoření takové praktické části, kterou by bylo možné vyřešit v domácích podmínkách a bez přístupu ke skříni s chemikáliemi, zkrátka doma v kuchyni. Optimalizace provedení v domácím prostředí trvala poněkud déle, a proto se omlouváme za zpoždění. Abychom však usnadnili teoretickou přípravu nutnou k pochopení principu a k řešení úloh, opatřili jsme zadání domácí praktické části poněkud (nezvykle) delším textem, který shrnuje vše podstatné. Zájemcům o rozšíření vhledu do problematiky lze doporučit jak patřičné pasáže v učebnicích (které ale nejsou v dnešních podmínkách snadno dostupné), ale i zpracování hesel „luminescence“, „fluorescence“ a „fosforescence“ na Wikipedii, resp. ekvivalentních výrazů „luminescence“, „phosphorescence“ a „fluorescence“ v anglické mutaci.

Přejeme pevné zdraví a úspěch při řešení úloh letošního ročníku.

Autoři

**Úloha 1 Stanovení optimálního pH pro fluorescenci aeskulinu****15 bodů**

Fluorescence je jedním z druhů **fotoluminiscence**. Fotoluminiscence je asi nejběžnější druh luminiscence, se kterým se můžeme setkat. Princip fotoluminiscence spočívá v několika oddělených krocích, které jsou:

- 1) **Elektronová excitace molekuly** vysokoenergetickým zářením (UV nebo fialové/modré viditelné) ze základního singletového stavu molekuly¹ do excitovaného singletového stavu.
- 2) V rámci excitovaného singletu dojde k **distribuci části energie do vibrací molekuly**, přičemž tato energie se „rozptýlí“ v tzv. tepelném pohybu (dojde k tzv. vibrační relaxaci).
- 3) Následuje **vyzáření zbylé energie ve formě záření, které má ale nižší energii, než záření absorbované** (a tedy v případě, že pro excitaci bylo použito UV záření, pak emitované záření leží často ve viditelné oblasti a molekula tak „svítí“).

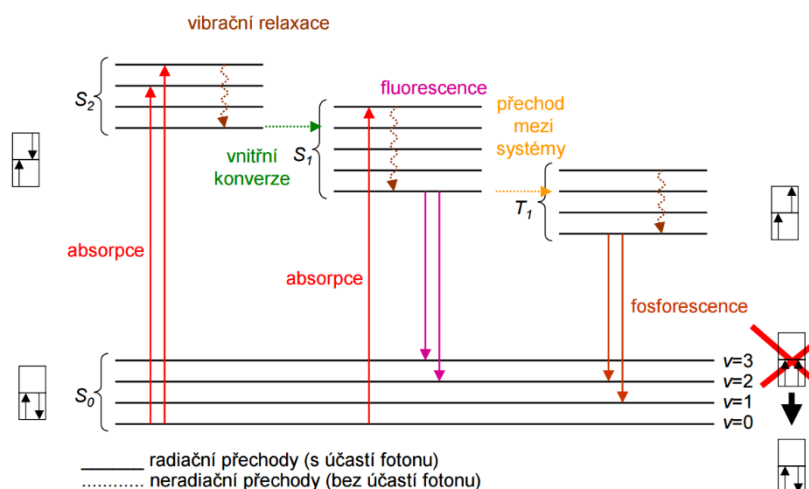
Výše popsanému ději říkáme **fluorescence**. Vzhledem k tomu, že všechny děje, které jsou za fluorescenci zodpovědné, trvají velmi krátce (řádově jsou to zlomky ns), fluorescence vymizí prakticky okamžitě po zhasnutí zdroje excitačního záření.

Existuje však i jiný druh fotoluminiscence – **fosforescence**. Podstatou fosforescence je podobná excitace zářením, jako je tomu u fluorescence. Z excitovaného singletu však molekula přechází do excitovaného tripletového stavu² (tzv. mezisystémovým přechodem), ze kterého se teprve vrací na základní singlet. Vzhledem k tomu, že přechod z excitovaného tripletu na základní singlet je velmi pomalý, trvá fosforescence mnohem déle než fluorescence. Doba fosforescence může dosáhnout až jednotky či desítky sekund po zhasnutí excitačního záření.

Oba tyto děje přehledně znázorňuje tzv. Jablonského diagram (*Obrázek 1*). Ten ukazuje, jak dochází k jednotlivým energetickým přechodům v rámci elektronových a vibračních hladin a rovněž, jaké záření tomu odpovídá.

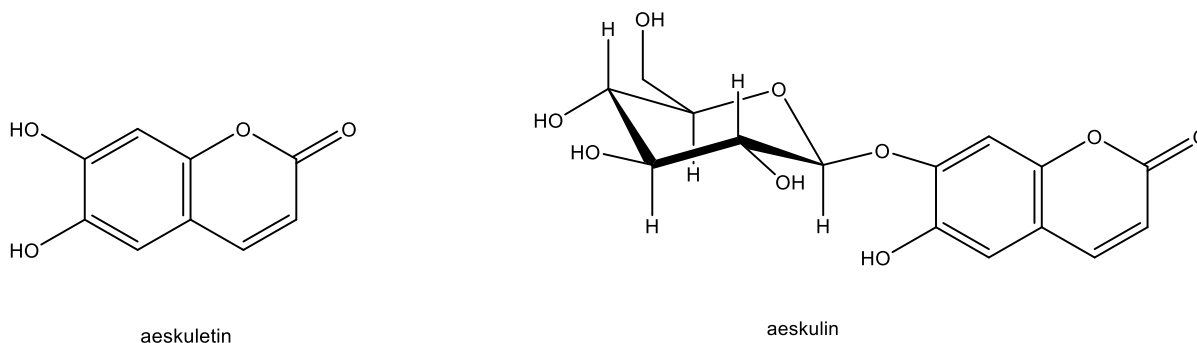
¹Jako singletový stav označujeme takový stav molekuly, kdy jsou všechny elektrony spárované dle Pauliho principu vylučnosti – tedy, kdy součet všech spinů elektronů v molekule je roven nule. Drtivá většina organických sloučenin má všechny elektrony spárované (příroda nemá ráda radikály), a jsou proto v singletovém stavu. Nepárové elektrony můžeme nalézt typicky ve sloučeninách přechodných kovů (nepárové elektrony v d-orbitalech), ale i v některých známých jednoduchých anorganických oxidech, např. NO, NO₂ nebo ClO₂.

²To je takový stav molekuly, kdy obsahuje dva nespárované elektrony.



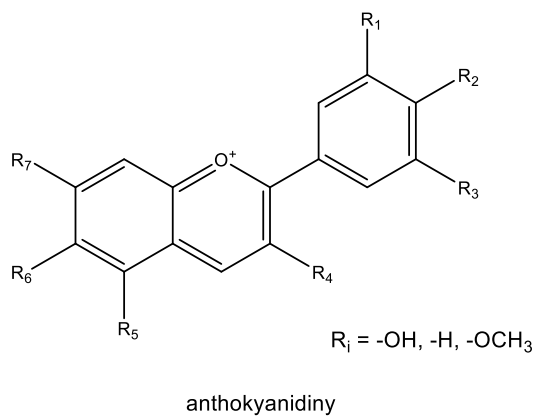
Obrázek 1: Jablonského diagram znázorňující fotoluminiscenční děje (J. Preisler: Molekulová luminiscence (studijní materiály), 2016, dostupné online)

Aeskulin je 6-O- β -D-glukosid aeskuletinu, derivátu kumarinu. Veškeré kumarinové deriváty vykazují **fluorescenci**. Jedná se o glykosid, který je obsažen jako zásobní glykosid v kůře jírovce maďalu (*Aesculus hippocastanum*). Mezi další deriváty kumarinu patří např. barviva, která jsou obsažena v kari koření. Strukturální vzorce aeskulinu a aeskuletinu jsou ukázány na *Obrázku 2*.



Obrázek 2: Strukturální vzorce aeskulinu a aeskuletinu

Zajímavou vlastností aeskulinu je fakt, že intenzita jeho fluorescence výrazně závisí na pH roztoku, ve kterém se nachází. Jak ale stanovit pH roztoků různých látek, když nemáme k dispozici ani pH-metry, ani indikátorové papírky? Není to tak složité. Spousta přírodních látek umí totiž fungovat jako acidobazické (nebo také pH) indikátory, tj. měnit své zabarvení podle toho, v jakém prostředí (o jaké koncentraci H_3O^+ iontů) se právě vyskytují. Doma běžně dostupným acidobazickým indikátorem může být vodný výluh z červeného zelí. Červené zelí totiž obsahuje přírodní barviva, tzv. anthokyany. Jedná se, podobně jako u aeskulinu, o glykosidy tzv. anthokyanidinů, což jsou látky obecného vzorce uvedeného na *Obrázku 3*. Barviva obsažená v červeném zelí mají schopnost poměrně přesně indikovat pH roztoku, ve kterém se nacházejí. Barvu anthokyanů červeného zelí v závislosti na pH můžete vidět na *Obrázku 4*.



Obrázek 3: Obecný strukturní vzorec anthokyanidinů



Obrázek 4: Barevnost anthokyanů z červeného zelí v prostředí o různém pH



Úkoly

- 1) Extrakce aeskulinu z kůry jírovce maďalu.
- 2) Pozorování fluorescence aeskulinu.
- 3) Zjištění závislosti intenzity fluorescence na pH prostředí, ve kterém aeskulin je.

Pomůcky a materiál

Optimálně UV svítlna nebo modré laserové ukazovátko (případně jakýkoliv jiný zdroj modrého/fialového nebo blízkého UV záření),³ dvě zavařovací sklenice (o objemu cca 0,5–0,8 dm³), malé zavařovací sklenice/panáky či jiné drobné číré nádoby – alespoň 5 ks stejných nádobek (např. skleničky od jogurtů), další drobné nádoby podle potřeby, nůž, lžice, kuchyňské odměrky či jiné pomůcky pro odměřování objemu, kuchyňské váhy či jiné zařízení pro orientační měření hmotnosti, kuchyňské prkénko, trychtýř, toaletní papír nebo papírové utěrky, fix, krabice od bot nebo jiné temné místo, kde budete fluorescenční experimenty provádět.

Chemikálie

- ocet
- prací soda – Na₂CO₃ (pokud není k dispozici, může být s opatrností pracováno s NaOH dostupným např. v čisticím prostředku na odpadové potrubí Krtek, při nedostatku výše zmíněných chemikálií může být použita i jedlá soda, NaHCO₃)
- sklenice sterilovaného červeného zelí ve sladkokyselém nálevu
- několik koncových větviček kaštanu koňského (= jírovce maďalu, *Aesculus hippocastanum*), celkem cca 20 cm
- destilovaná voda (ev. kojenecká voda s nízkým obsahem Ca²⁺ a Mg²⁺ iontů, nebo převařená a vychladlá vodovodní voda)

³ U UV svítlny a modrá laserová ukazovátko lze pořídit v řadě e-shopů, např.:

- <https://www.ledbaterky.cz/levne-led-svitlny/uv-baterky>
- <https://www.alitom.cz/uv-svitlny-2/>
- <https://laser-shop.cz/68-laserova-ukazovatka/>

Alternativně lze využít intenzivní zdroj bílého světla (baterka, čelovka) a modrý průsvitný filtr (např. rozstříhaný obal od Magnésie).



Postup

Příprava extraktu obsahujícího aeskulin

Na prkénku udělejte nožem zářezy do tenkých větviček jírovce. Větvičky nalámejte na menší kousky a vložte do zavařovací sklenice. Zalijte destilovanou vodou. Ponechte louhovat po dobu několika hodin, nejlépe přes noc.

Roztok přefiltrujte do čisté sklenice. K filtraci použijte kuchyňský trychtýř, do kterého rozložte přes sebe několik vrstev toaletního papíru nebo papírové kuchyňské utěrky. Sklenici uzavřete.

Příprava zásobního roztoku báze

Do hrnku nebo sklenice si připravte roztok Na_2CO_3 o koncentraci cca 1–3 %. Odvážené množství sody rozpustíte v odměřeném množství destilované (nebo převařené a vychladlé, či kojenecké) vody. Zásobní roztok nesmí být kalný, neboť by při měřeních rozptyloval světlo Tyndallovým jevem, a znesnadňoval by tak stanovení intenzity fluorescence. Pokud nemáte k dispozici Na_2CO_3 , připravte roztok NaOH (přípravek Krtek) o koncentraci cca 0,1 % nebo nasycený roztok NaHCO_3 .

Příprava roztoku acidobazického indikátoru – šťáva z červeného zelí

Do uzavíratelné skleničky odlijte kapalinu ze sklenice se sterilovaným červeným zelím.

Příprava pěti roztoků o různém pH

Označte si 5 stejných malých skleniček (např. od jogurtů). Na nádobkách si udělejte fixou rysku ve stejné výšce, cca 2 cm pod okrajem. Do jedné z nádobek nalijte zásobní roztok báze po rysku a přidejte jednu lžičku šťavy z červeného zelí. Odečtěte pH podle stupnice ukázané v úvodním textu výše (zabarvení by mělo být žluté, pokud ne, tak připravte koncentrovanější roztok Na_2CO_3 nebo NaOH; v případě, že používáte jedlou sodu, tak na požadované pH nedosáhnete; v takovém případě provedete měření pouze 4 vzorků).

Do dalších dvou sklenic nalijte trochu vody, přidejte lžičku roztoku indikátoru, a reprodukovatelným způsobem přidejte malé množství zásobního roztoku báze a další vodu tak, aby celkový objem kapaliny byl po rysku a finální pH odpovídalo podle barevné škály hodnotám 10–11 (modro-zelená) a 8–9 (modrá). Zaznamenejte si množství zásobního roztoku báze, které bylo nutné použít k dosažení dané hodnoty pH (počet polévkových lžic, čajových lžiček, kapek z brčka apod.). Pro snadnější dosažení požadované hodnoty pH může být vhodné si zásobní roztok báze nejprve definovaně naředit (zvláště pokud jako bázi používáte roztok NaOH), a pH roztoku ve sklenici upravovat tímto zředěným roztokem.

Do další sklenice nalijte vodu a přidejte lžičku indikátoru. pH by mělo být cca 5–6 (růžovo-fialová).

Do poslední sklenice nalijte vodu, indikátor a přidejte trochu octa (opět definovaný objem, např. lžící) tak, aby pH odpovídalo hodnotě 2–4 (růžová).

Pečlivě si poznamenávejte všechny přísady kyseliny a báze, které jste použili pro dosažení požadované hodnoty pH.

Podle možností proveďte fotodokumentaci.

Příprava roztoků pro měření fluorescence

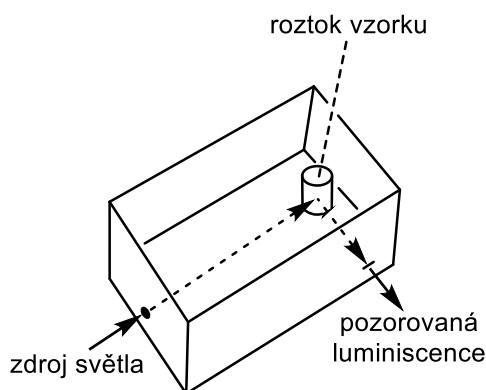
Skleničky použité v předchozím bodě vymyjte a připravte do nich vodné roztoky o požadovaných pH (2–4, 5–6, 8–9, 10–11, 12) s tím rozdílem, že tentokrát nepoužijete indikátor. Rostoky namíchejte podle svých poznámek z předchozího bodu.

Do každého roztoku přidejte 2–3 polévkové lžice vodného roztoku aeskulinu připraveného výše.



Sestavení fluorimetru

Fluorescence se nejlépe pozoruje ve směru kolmém k excitujícímu záření. Proto do krabice od bot vyřízněte ve spodní části menší boční stěny jednu menší díru, kterou bude dovnitř svítit budící světlo, a ve stejné výšce vyřízněte v delší boční stěně úzkou štěrbinu, kterou budete pozorovat fluorescenční záření. Schématické znázornění polního fluorimetru je ukázáno na *Obrázku 5*.



Obrázek 5: Schéma fluorimetru

Měření fluorescence

Do krabice s vyřízlými otvory vložte jeden z připravených vzorků. Krabici uzavřete, a k bočnímu otvoru (vstupnímu okénku) přiložte zdroj UV nebo modrého světla. V případě, že takovým zdrojem nedisponujete, přiložte zdroj intenzivního světla, a přes vstupní okénko zevnitř přelepte ve 2–3 vrstvách nastříhané kousky modré PET láhve od Magnesie. Boční štěrbinou pozorujte nazelenalou fluorescenci. Zaznamenejte subjektivní intenzitu fluorescence jednotlivých vzorků. Na základě pozorování určete, při jakém pH je fluorescence nejintenzivnější.

Nakonec ke každému roztoku vzorku přidejte jednu lžičku roztoku indikátoru a ověřte, jestli pH odpovídá předpokládané hodnotě.

Záznamy všech vašich experimentů uveďte do pracovního listu.

**Úloha 2 Doplnková teoretická úloha: Maskovaná titrace****5 bodů**

Obsah kovových iontů v roztoku lze snadno stanovit pomocí tzv. chelatometrie. Při té se jako titrační činidlo používá nejčastěji disodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{edta}$. Toto činidlo je triviálně označováno jako chelaton 3 a vzorec je často zkracován jako $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ nebo CH_3 . Chelaton 3 tvoří s ionty prakticky všech nealkalických kovů stabilní komplex o stechiometrii kov:ligand 1:1, nezávisle na mocenství kovu. Podstata chelatometrické titrace je následující: k titrovanému vzorku se přidá malé množství tzv. metalochromního indikátoru, který tvoří se stanovovaným kovem barevný komplex. Při přidavku chelatonu 3 dojde ke komplexaci kovu a vytěsnění metalochromního indikátoru. Pokud je v roztoku stále přítomen nadbytek kovu, je metalochromní indikátor koordinován a směs má barvu komplexu indikátoru se stanovovaným kovem. Konec titrace (navázání veškerého kovu do komplexu s Chelatonem 3) se projeví uvolněním metalochromního indikátoru z komplexu a změnou barvy směsi na barvu, kterou má volný indikátor.

Dolomit je hornina o složení $(\text{Mg,Ca})\text{CO}_3$ s příměsí malého množství křemene. Vzorek dolomitu o hmotnosti 0,750 g byl rozpuštěn v kyselině chlorovodíkové a roztok byl přefiltrován od malého množství nerozpustného podílu. Filtrát byl kvantitativně převeden do 250ml odměrné baňky a obsah baňky byl doplněn po rysku. Ze zásobního roztoku byl odebrán alikvot 10,0 cm^3 a po úpravě pH na hodnotu přibližně 10 pomocí Schwarzenbachova pufru (NH_3 , NH_4Cl) byl vzorek titrován roztokem chelatonu 3 o koncentraci $0,0200 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ s eriochromovou černí T jako indikátorem. Při použitím pH 10 tvoří chelaton 3 stabilní komplex s ionty Mg^{2+} i Ca^{2+} . Titrace byla několikrát zopakována. Průměrná spotřeba chelatonu nutná ke změně barvy z vínově červené na modrou byla 15,4 ml.

Vápenaté ionty lze vedle hořečnatých stanovit selektivně titrací v silně zásaditém prostředí. Zvýšíme-li pH na 13–14 přidavkem roztoku alkalického hydroxidu, vytvoří Mg^{2+} tetraedrický tetra(hydroxido)hořečnatanový anion, který s chelatonem dále nereaguje. Tím se přítomné hořečnaté ionty takzvaně maskují.

pH nově odebraného alikvotu o objemu 10,0 ml bylo upraveno na hodnotu přibližně 14 a roztok byl titrován stejným odměrným roztokem chelatonu 3 jako výše. Spotřeba na barevný přechod indikátoru murexidu (z červené do modrofialové) činila v průměru 11,8 ml.

Na základě výše uvedených dat vypracujte úlohy v Pracovním listu.

PRACOVNÍ LIST**20 BODŮ****Úloha 1 Stanovení optimálního pH pro fluorescenci aeskulinu****15 bodů**

Složení roztoků o požadovaném pH

Jaký roztok jste použili jako zásobní roztok báze?

body:

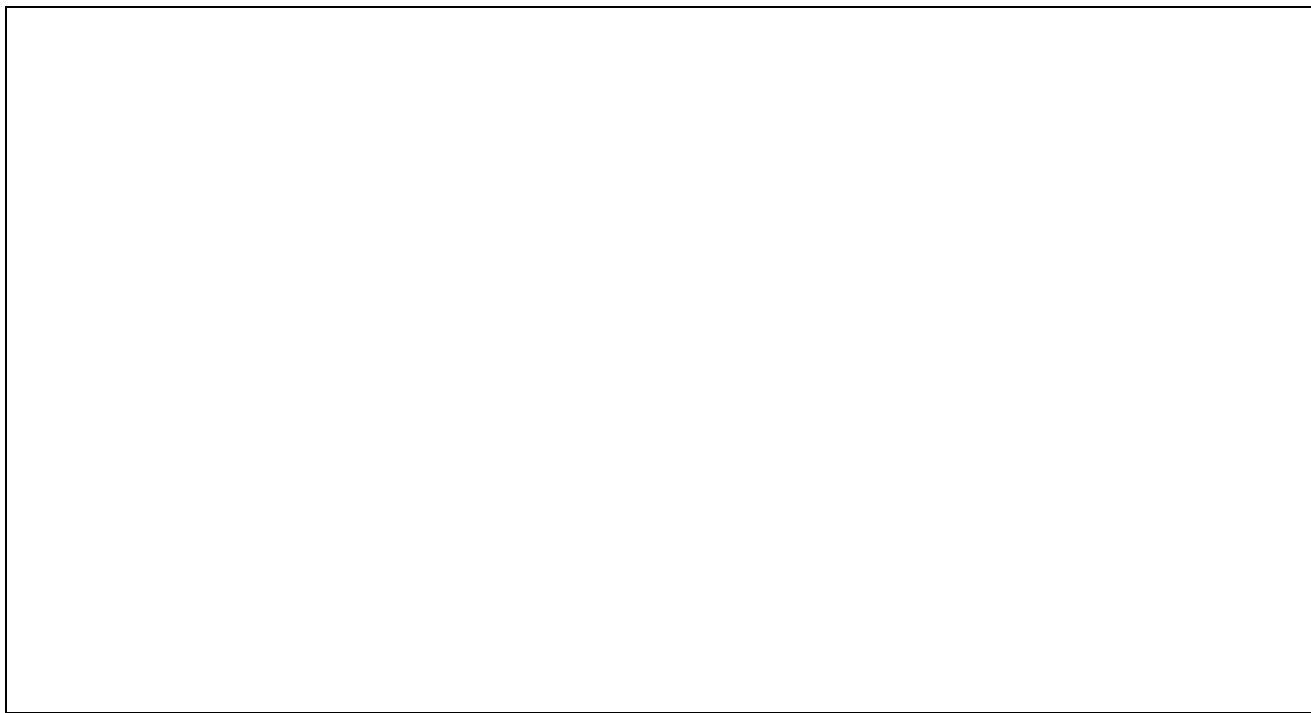
Do tabulky zaznamenejte, jaké přísady jednotlivých komponent jste použili, abyste získali roztoky o požadované hodnotě pH (uvedte v prakticky měřených jednotkách, např. počet kapek, lžiček, polévkových lžic apod.), množství vody odměřte (příp. odvažte) co nejpřesněji.

vzorek	pH	voda	báze	kyselina
1	2–4			
2	5–6			
3	8–9			
4	10–11			
5	12			

body:



V případě, že jste byli schopni fotodokumentace, vložte fotografii série připravených roztoků obarvených indikátorem. Pokud ne, výsledek nakreslete pomocí pastelek.



body:

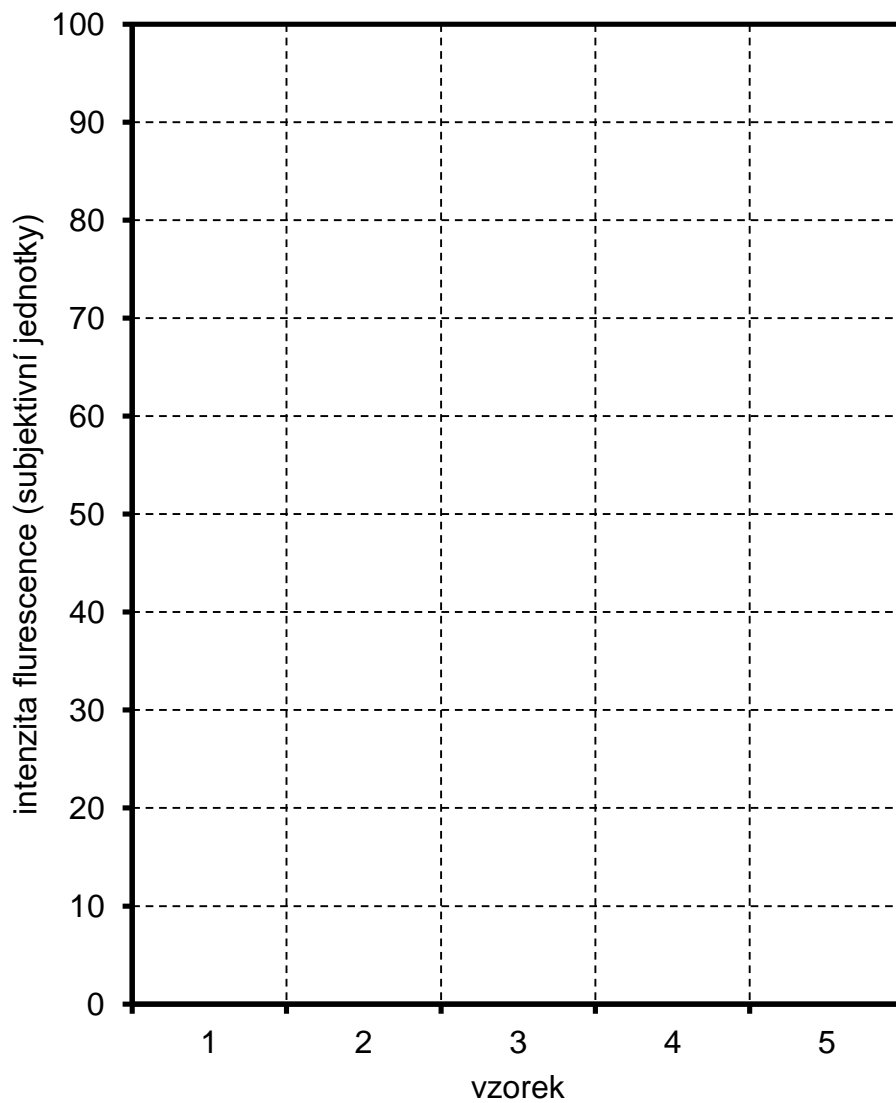
V případě, že jste byli schopni fotodokumentace, vložte fotografii vašeho improvizovaného fluorimetru. Pokud ne, fluorimetr nakreslete.



body:



Zakreslete subjektivní profil intenzity fluorescence.



body:

