PASPort®

CHEMIE

laboratorní cvičení č. 12

12 • CHEMIE

Stanovení obsahu fosforečnanů (návod)

PRACOVNÍ NÁVOD

Zadání úlohy

Experimentálně ověřte obsah fosforečnanů ve třech vybraných mycích (pracích, čistících) prostředcích. Zařaďte jak prostředky bezfosfátové (s označením „phosphate free"), tak i prostředky bez tohoto označení.

Pomůcky

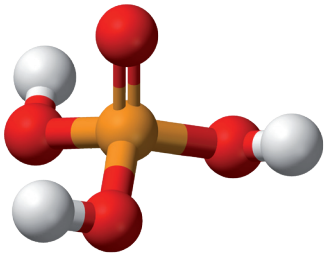
- počítač s USB portem
- PASPORT USB Link (Interface) nebo Xplorer
- PASPORT spektrofotometrické čidlo (v originálu Colorimetric sensor)
- software DataStudio
- destilovaná voda
- kyselina askorbová $C_6H_8O_6$
- $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$
- NaH_2PO_4 (c = 0,1 mol/l)
- H_2SO_4 (98%)
- zkumavky (14 ks), střední
- odměrná baňka 100 ml (1 ks)
- pipety s balónkem (3 ks), 1 ml , 5 ml, 10 ml
- popisovač zkumavek (lihový fix)
- stojánek na zkumavky
- *pracovní návod*
- *pracovní list*
- *ochranné pracovní pomůcky*

Bezpečnost práce

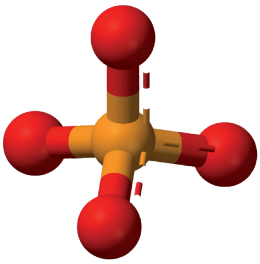
Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. Většina chemikálií v tomto praktickém cvičení je zdraví škodlivá. Dbejte zvýšené opatrnosti a s chemikáliemi zacházejte vždy dle instrukcí pedagoga. Nikdy nepipetujte ústy (vždy používejte balónek). V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí.

Teoretický úvod

Sloučeniny fosforu jsou pro živé organizmy velice důležité. Jde především o ionty odvozené od kyseliny trihydrogenfosforečné – fosforečnanové a hydrogenfosforečnanové anionty. Ty jsou základní stavební součástí DNA a RNA, dále se podílí na stavbě kostí a zubů, harají také nezastupitelnou roli při vnitrobuněčném přenosu signálu – aktivaci a deaktivaci určitých enzymů. V neposlední řadě jsou fosforečnanové ionty vázány v ATP (adenosintrisfosfát), což je základní forma využitelné „chemické" energie v buňce. Buňka si v této formě skladuje energii získanou při odbourávání složitých látek typu sacharidů, lipidů či proteinů – tzv. katabolismus. Naopak při syntéze těchto látek – tzv. anabolismu – energii z ATP buňka využije. Také stahy svalů jsou možné díky využití energie, která je obsažena v ATP. A mohli bychom ve výčtu ještě dlouho pokračovat.

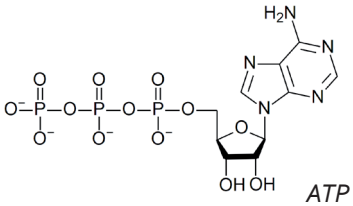


kyselina trihydrogenfosforečná



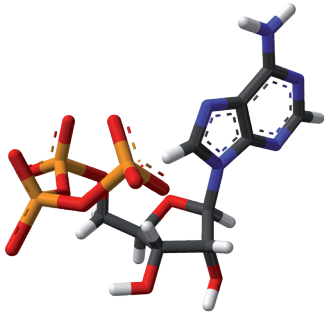
fosforečnanový aniont

Fosforečnany hrají také důležitou roli v souvislosti s minerální výživou rostlin. Jsou totiž pro rostliny společně s dusičnany a draselnými (popř. vápenatými a hořečnatými) solemi jedněmi ze základních minerálních živin. Tím pádem jsou fosforečnany základní součástí různých „umělých" hnojivových směsí používaných v zemědělství – např. granuláty jako NPK, Cererit (NPKMg) a další.



ATP

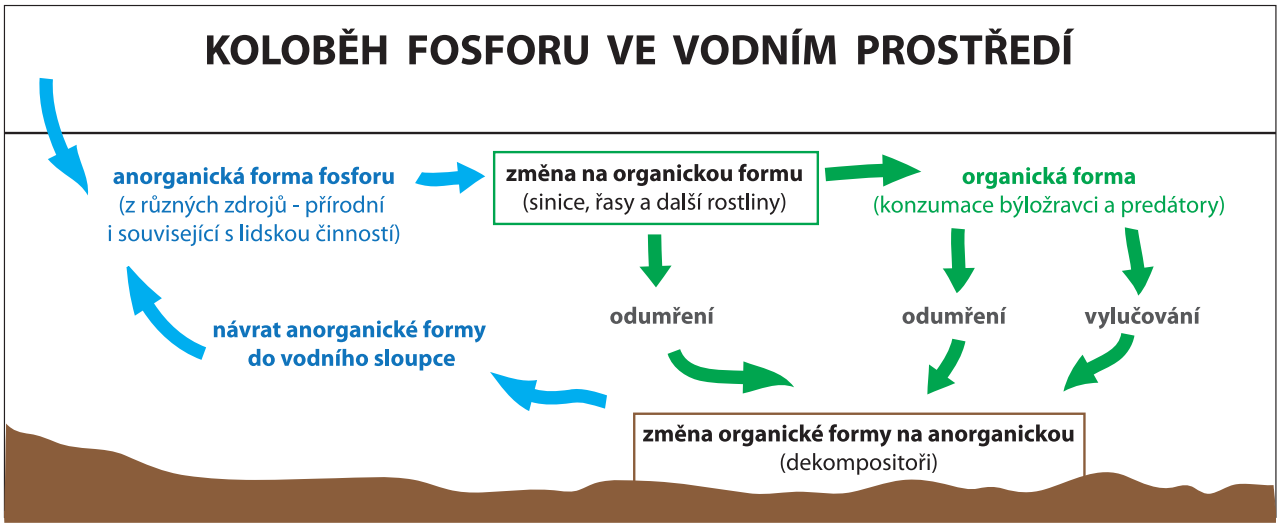
Dalším místem, kde můžeme fosforečnany (polyfosforečnany) potkat jsou různé mycí, prací a čistící prostředky. Tam působí jednak jako tzv. změkčovadla vody (odstraní vápenaté a hořečnaté ionty z vody, čímž umožní podstatně lepší působení detergentů), ale také mírně posunují pH do zásadité oblasti, čímž je zase umožněno třeba lepší mytí nádobí (různých zbytků jídel). V dnešní době je celá řada prostředků, které jsou tzv. „bez fosfátů". Jejich půso-



3D model ATP
Obrázek 1

bení je nahrazeno celou řadou látek, mimo jiné např. enzymy a zeolity (látky na bázi hlinito-křemičitanů). U některých těchto látek se ovšem časem ukázalo, že jsou z hlediska životního prostředí a člověka také problematické – vyvolávají u některých lidí alergické reakce, mohou působit jako analogy některých hormonů, vyvolávají sterilitu u obojživelníků, atd.

A proč je nadbytek fosforečnanů v našem životním prostředí tak problematický? Jedná se o jev nazývaný **EUTROFIZACE**.



Obrázek 2

Eutrofizace je soubor přírodních a uměle vyvolaných procesů vedoucích ke zvyšování obsahu anorganických živin vod. Eutrofizace je přírodní děj, který v důsledku lidské činnosti přesáhl přirozené meze. Přírodní eutrofizace je způsobena uvolňováním sloučenin dusíku a fosforu, případně silikátů, z půdy, sedimentů a odumřelých vodních organizmů. Umělá eutrofizace je způsobena intenzivní zemědělskou výrobou, některými druhy průmyslových odpadních vod, používáním fosforečnanů v pracích, čistících a mycích prostředcích a zvýšenou produkcí komunálních odpadních vod a odpadů fekálního charakteru. Základním projevem eutrofizace je vznik masivního vodního květu, který produkuje často také toxické látky. Následuje celá řada komplexních jevů, které souvisí s kyslíkovým režimem vodního ekosystému. Výsledkem je odumírání určitých typů organizmů a tím pádem celková změna ekosystému. Jeden z dobře známých scénářů vede až k hromadnému vymírání většiny vodních organizmů a vzniku zapáchající „mrtvé" vody.

Obrázek 3 – Eutrofizace Kaspického jezero

Podle množství „fosforu" obsaženého ve vodách lze rozlišit vody:

- oligotrofní c (PO_4^{3-}) < 10 mg/l
- oligo-mesotrofní c (PO_4^{3-}) 10–20 mg/l
- mesotrofní c (PO_4^{3-}) 20–50 mg/l
- eutrofní c (PO_4^{3-}) 50–100 mg/l
- hypertrofní c (PO_4^{3-}) > 100 mg/l

(*Převzato z: Kočí, V., Burkhard, J., Maršálek, B.: Eutrofizace na přelomu tisíciletí. Eutrofizace 2000, 10. 10. 2000, Praha*)

Jak budeme obsah fosforečnanů sledovat? Použitá kolorimetrická metoda je založena na **Lambertově-Beerově zákoně,** který definuje vztah mezi absorbcí světla a vlastnostmi určité látky, kterou světlo prochází. Tato závislost je vyjádřena matematicky následujícím vztahem:

$$A_\lambda = E_\lambda \cdot l \cdot c_M \qquad (1.0)$$

kde A_λ je absorbance světla, E_λ absorbční koeficient dané látky, l je dráha světla uražená v roztoku (délka dráhy), c_M je molární koncentrace látky v roztoku.

Více teoretických informací naleznete v úloze „Stanovení koncentrace látky v roztoku", na kterou tato úloha navazuje.

Protože fosforečnany nejsou samy o sobě barevné, musíme je nechat zreagovat s určitou látkou tak, abychom dostali barevný produkt. K tomu použijeme roztok obsahující kyselinu askorbovou a molybdenanové anionty v silně kyselém prostředí. Výsledkem reakce s fosforečnany je fosfomolybdenanový komplex, který je po redukci kyselinou askorbovou zbarven modře. Absorbanci takto zbarveného roztoku budeme měřit při 660 nm.

Použitá metoda je velice citlivá, a tak je nezbytné pracovat s nábobím, které je velice pečlivě umyto a vymyto destilovanou vodou.

► ***V následujícím praktickém cvičení se pokusíme experimentálně ověřit obsah fosforečnanů ve třech vybraných mycích (pracích, čistících) prostředcích.***

Příprava úlohy (praktická příprava)

Postup práce

Nejprve zpracujte slovníček a teoretickou přípravu na „**pracovním listě**" a teprve potom začněte pracovat v laboratoři.

Nastavení HW a SW

1. Připojte spektrofotometrické čidlo (Pasco Colorimeter) přes USB rozhraní (PASSPORT USB interface nebo Xplorer) k počítači. Tím se automaticky otevře konfigurační dialog.

2. Vyberte a otevřete odpovídající konfigurační soubor DataStudia

   12_spektrofotometrie_fosforecnany.ds

   Poznámka: *Konfigurační soubory automaticky otevřou potřebná okna a nastaví výchozí parametry. V této úloze budete měřit pouze pomocí spektrofotometrického čidla při vlnové délce 660 nm.*

Příprava měření

1. Před započetím práce si přečtěte celý „pracovní návod".
2. Příprava roztoků:
   I. Roztoky pro stanovení fosforečnanů (roztok A + B):
      a) **Roztok A** (pokud již není připravený) je ***10% roztok kyseliny askorbové*** v destilované vodě. Tento roztok je stálý několik měsíců.
      b) **Roztok B** (pokud již není připravený) je ***0,42% roztok heptamolybdenanu amonného*** v ***0,5 M kyselině sírové***. Tento roztok připravíme tak, že rozpustíme 4,2 g heptamolybdenanu amonného (je možné použít adekvátní množství molybdenanu) v 26,5 ml H_2SO_4 (94–96%) a doplníme destilovanou vodou do 1 l.
      c) **Roztok používaný k detekci fosforečnanů** připravíme vždy čerstvý smísením ***6 objemových dílů roztoku B a jednoho dílu roztoku A*** (B:A = 6:1). Pro naše potřeby pěti kalibračních bodů a následných tří neznámých vzorků budeme potřebovat roztok na 8 stanovení (a nějakou rezervu navíc), tj. smísíme 5 ml roztoku A a 30 ml roztoku B. Protože je ale vhodné provést měření každého vzorku nejméně dvakrát, připravíme si dvojnásobné či trojnásobné množství detekčního roztoku (upřesní pedagog).

II. Kalibrační roztoky:

a) Odměřte přesně 1 ml 0,1 M roztoku NaH_2PO_4 (c = 0,1 mol/l) do odměrné baňky (100 ml) a doplňte destilovanou vodou po rysku.

b) Označte pět suchých čistých zkumavek čísly (1–5) a umístěte je do stojánku na zkumavky.

c) Postupně napipetujte první pipetou 0,1; 1; 4; 7; 10 ml naředěného roztoku NaH_2PO_4 do zkumavek označených čísly 1–5.

d) Následně přidáme destilovanou vodu tak, aby byl výsledný objem ve všech zkumavkách 10 ml (do poslední tedy již nic nepřidáváme).

e) Ředění je znázorněno v následující tabulce:

Zkumavka	Výsledná koncentrace [mol/l]	Ředění výchozího roztoku (x)	Výchozí roztok [ml]	Voda [ml]
1	0,00001	100	0,1	9,9
2	0,00010	10	1	9
3	0,00040	2,5	4	6
4	0,00070	1,428	7	3
5	0,00100	původní zředěný r.	10	0

III. Neznámé vzorky:

a) Ze zvoleného mycího prostředku odeberte 1 ml (v případě práškového prostředku navažte 1 g)

b) K odebranému množství přidejte 9 ml destilované vody (tak dostaneme roztok o výsledném objemu přibližně 10 ml, případně můžeme roztok připravit v 10 ml odměrné baňce). Pro následné výpočty budeme počítat s desetinásobným zředěním původního prostředku.

c) Každý prostředek je jiný, proto je třeba nejdříve vyzkoušet ředění tak, abychom se dostali při měření absorbance do rozsahu naší kalibrační přímky. Zeptejte se vašeho pedagoga, zda nemáte použít u vašich testovaných prostředků jiného ředění.

d) Tímto způsobem připravte 3 vzorky zůzných prostředků a ozvačte je jako VZ1, VZ2 a VZ3.

3. Stanovení obsahu fosforečnanů – příprava vlastní zkoušky:

a) Označte devět suchých čistých zkumavek čísly (1'–9') a umístěte je do stojánku na zkumavky.

b) Postupně napipetujte první pipetou do všech zkumavek 3,5 ml roztoku k detekci fosforečnanů (viz příprava roztoků – roztok A + B). Roztok nesmí být modrý!

c) Následně přidejte do prvních pěti zkumavek připravené kalibrační roztoky 1–5. Do následujících tří zkumavek připravené neznámé vzorky a do polslední destilovanou vodu. Přidáváme vždy 1,5 ml.

d) Postup je znázorněn v následující tabulce:

Zkumavka	Roztok A+B	Stanovovaný vzorek	Účel
1'	3,5 ml	1,5 ml kal. roztoku NaH_2PO_4 1	Kalibrační p.
2'	3,5 ml	1,5 ml kal. roztoku NaH_2PO_4 2	Kalibrační p.
3'	3,5 ml	1,5 ml kal. roztoku NaH_2PO_4 3	Kalibrační p.
4'	3,5 ml	1,5 ml kal. roztoku NaH_2PO_4 4	Kalibrační p.
5'	3,5 ml	1,5 ml kal. roztoku NaH_2PO_4 5	Kalibrační p.
6'	3,5 ml	1,5 ml roztoku VZ1	Neznámý vz.
7'	3,5 ml	1,5 ml roztoku VZ2	Neznámý vz.
8'	3,5 ml	1,5 ml roztoku VZ3	Neznámý vz.
9'	3,5 ml	1,5 ml destilované vody	Kontrolní vz.

e) Vyčkejte 15 minut při pokojové teplotě a poté změřte absorbance roztoků ve zkumavkách 1'– 8'. Jako první proveďte kalibraci spektrofotometru uvedenou v následujícím bodě.
(Rychlejší variantou je vložit zkumavky na 2 minuty do vodní lázně s teplotou 80 °C.)

4. Kalibrace spektrofotometru

I. Naplňte kyvetu kontrolním roztokem (kontrolní „slepý" vzorek 9') a pevně ji uzavřete víčkem.

II. Kyvetu pečlivě otřete buničinou (popř. měkkým papírovým ubrouskem), abyste odstranili všechny nečistoty (otisky prstů, atd.).

III. Otevřte víko spektrofotometu, vložte kyvetu a víko dobře zavřete (až zacvakne).

IV. Stiskněte kalibrační tlačítko na spektrofotometru. Probíhající kalibrace je signalizována rozsvícením LED (svítící dioda) v kalibračním tlačítku.

V. Počkejte, dokud LED nezhasne. Pak otevřete víko a vyjměte kyvetu. Úvodní nastavení spektrofotometru je hotovo – můžete měřit vaše vzorky.

Vlastní měření (záznam dat)

Kyvetu před měřením vždy dobře vypláchněte destilovanou vodou a následně dvakrát asi 1 ml roztoku, který se chystáte měřit. Při měření kalibračních roztoků je třeba postupovat od nejmenších koncentrací fosforečnanů po ty největší. Dbejte na to, aby bylo dobře zavřeno víko spektrofotometru (musí zacvaknout).

Poznámka: *S kyvetou prudce netřepte, aby se v ní neutvořily bublinky.*

1. Vložte kyvetu s vzorkem ze zkumavky označené 1'.
2. Zaznamenávání dat zahajte kliknutím na tlačítko ***Start*** (Start).
   - Tlačítko ***Start*** (Start) se změní na tlačítko ***Keep*** (Keep). V prvním řádku tabulky absorbance a koncentrace se zobrazí první hodnota koncentrace (0,00001 mol/l) a odpovídající hodnota absorbance. Na číslicovém displeji se zobrazí změřená absorbance.
3. Kliknutím na tlačítko ***Keep*** (Keep) zaznamenejte hodnotu absorbance prvního vzorku.
4. Otevřete víko kolorimetru a vyjměte kyvetu. Vylijte roztok z kyvety (do nádoby na odpad podle instrukcí vašeho pedagoga). Kyvetu vypláchněte a pokračujte dalším vzorkem.
5. Po změření absorbance obsahu prvních pěti zkumavek klikněte na tlačítko ***Stop*** (Stop) – z těchto hodnot sestrojíte následně kalibrační přímku.
6. Do spektrofotometru umístíme kyvetu se vzorkem ze zkumavky 6' (neznámý vzorek VZ1)
7. Klikněte na volbu ***Experiment*** (Experiment) a zvolte možnost ***Monitor Data*** (Monitor Data). Sledujte hodnotu absorbance na číslicovém displeji. Jakmile se hodnota ustálí, zaznamenejte ji do pracovního listu. Zaznamenávání dat ukončete kliknutím na tlačítko ***Stop*** (Stop).
8. Takto proměřte všechny tři neznámé vzorky (zkumavky 6', 7' a 8').
9. Je vhodné celé měření ještě jednou až dvakrát zopakovat.

Analýza naměřených dat

Naměřené hodnoty absorbancí si přepište do tabulky svého „pracovního listu".

Sestrojte kalibrační křivku (více informací naleznete v úloze „Stanovení koncentrace látky v roztoku", na kterou tato úloha navazuje).

1. Pomocí kalibrační křivky určete koncentraci neznámého roztoku.

   Tip**:* Klikněte na tlačítko funkce ***Smart Tool ( ). Uístěte kurzor do kalibračního grafu tak, aby hodnota na ose **y** odpovídala naměřené absorbanci neznámého vzorku a odečtěte neznámou koncentraci na ose **x**.
2. Zaznamenejte zjištěnou hodnotu koncentrace do „pracovního listu" (tabulka s výsledky).
3. Své výsledky v ***DataStudiu*** uložte (nabídka ***File*** –> ***Save Activity As…***) na místo, které máte vyhrazeno k ukládání svých souborů.
4. Odpovězte na otázky v „pracovním listu".
5. Dle instrukcí učitele ukliďte své pracovní místo