

Jegyzőkönyv

7. GYAKORLAT

SPEKTROFOTOMETRIA

Név:

Szak:

Dátum:

FELADAT: Ismeretlen koncentrációjú KMnO_4 - és metilénkékoldatok koncentrációjának meghatározása spektrofotometria módszerével.

Szükséges eszközök, anyagok: spektrofotométer
ismert koncentrációjú (standard) oldatok
ismeretlen (meghatározandó) oldatsorozat
küvetta
papírvatta

A mérés menete:

1. *Abszorpciós maximum meghatározása KMnO_4 - és metilénkékoldatok esetén.*

A spektrofotométerrel történő mérést azon a hullámhosszon végezzük, amelynél a vizsgálandó oldat fényelnyelése a legnagyobb (a mérés ekkor válik a legérzékenyebbé). A maximális fényabszorpcióhoz tartozó hullámhossz meghatározását úgy végezzük, hogy a hullámhossz értékeit változtatva mérjük az oldat abszorbanciáját. A kapott értéket, vagyis az abszorbanciát a hullámhossz függvényében ábrázolva megszerkesztjük az anyagra jellemző **abszorpciós görbét**. A görbe maximumához tartozó λ -értéket leolvassuk, és a további méréseket ezen a hullámhosszon végezzük (minden színes anyag a komplementer színének megfelelő hullámhosszú fényből nyel el a legtöbbet).

Készülék típusa:



1. Az ON/OFF gombbal bekapcsoljuk a készüléket, amely automatikusan elvégzi a mérés megkezdés előtti ellenőrzését (AUTOTEST).
2. Válasszuk ki az abszorpciós maximum mérésének módszerét a készüléken (905 SPEKTRUM).
3. Helyezzük a fény útjába a vak oldatot (desztillált víz), majd a NULL gomb benyomásával nullázzuk a vak oldat fényelnyelését.
4. Helyezzük a fény útjába az ismert koncentrációjú oldatot, majd az abszorpciós maximum meghatározásához nyomjuk meg az M (mérés) gombot. A készülék a hullámhosszértékeket változtatva méri az oldat fényelnyelését, majd a mért abszorbanciát ábrázolja a hullámhossz függvényében.

KMnO₄-oldat abszorpciós maximuma: nm

Metilénkékoldat abszorpciós maximuma: nm

2. Ismeretlen KMnO₄-oldatok koncentrációjának meghatározása kalibrációs görbe felvételével.

Ha ugyanazon anyagból különböző koncentrációjú oldatsorozatot készítünk, és az ismert oldatokhoz tartozó mért abszorbanciaértékeket grafikusán ábrázoljuk, a koncentráció függvényében egy egyenest kapunk. A kalibrációs görbe segítségével az ismeretlen oldat koncentrációja könnyen megállapítható.

Készülék típusa:

1. Állítsa be a készüléken a méréshez szükséges hullámhosszértéket (abszorpciós maximum).
2. Nullázza a készüléket a vak oldatra (desztillált víz).
3. Mérje le először a standard, majd az ismeretlen oldatok abszorbanciáját. Mérési eredményeit a jegyzőkönyvbe rögzítse.
4. Készítse el a meghatározáshoz szükséges kalibrációs görbét, majd számolja ki az ismeretlen oldatok koncentrációját!

KMnO ₄ -oldat	koncentráció mg/l	abszorbancia
standard ₁		
standard ₂		
ismeretlen ₁		
ismeretlen ₂		

Számolás:



3. Ismeretlen metilénkék-oldatsorozat koncentrációjának meghatározása.

Készülék típusa:

1. Állítsa be a készüléken a méréshez szükséges hullámhosszértéket (abszorpciós maximum).
2. Nullázza a készüléket a vak oldatra (desztillált víz).
3. Mérje le először a standard, majd az ismeretlen oldatok abszorbanciáját. Mérési eredményeit a jegyzőkönyvbe rögzítse.
4. Excel-program segítségével készítse el a meghatározáshoz szükséges kalibrációs görbét, majd számolja ki az ismeretlen oldatok koncentrációját!

metilénkékoldat	koncentráció mg/l	abszorbancia
standard ₁		
standard ₂		
ismeretlen ₁		
ismeretlen ₂		

Számolás:

4. Ismeretlen BSA-oldat koncentrációjának meghatározása.

1. Készítsen a 10 mg/ml-es BSA-törzsoldatból kétszeres hígítással desztillált vízzel standard oldatokat (2 standard, legyen mindegyik 1 ml).
2. 1 ml-t tegyen Eppendorf-csőbe, és adjon hozzá 4 ml Bradford-reagenst.
3. Hagyja állni 5 percig.
4. Mérje meg 595 nm-en az abszorbanciát.
5. Az ismeretlen oldatok 1 ml-éhez adjon 4 ml Bradford-reagenst, és mérje meg 595 nm-en az abszorbanciáját.
6. Számolja ki az ismeretlen oldat koncentrációját mg/ml-ben.

Készülék típusa:

1. Állítsa be a készüléken a méréshez szükséges hullámhosszértéket (abszorpciós maximum).
2. Nullázza a készüléket a vak oldatra (desztillált víz).
3. Mérje le először a standard, majd az ismeretlen oldat abszorbanciáját. Mérési eredményeit a jegyzőkönyvbe rögzítse.
4. Excel-program segítségével készítse el a meghatározáshoz szükséges kalibrációs görbét, majd számolja ki az ismeretlen oldatok koncentrációját!



BSA-oldat	koncentráció mg/ml	abszorbancia
blank		
standard ₁		
standard ₂		
standard ₃		
ismeretlen		

Számolás:

.....
gyakorlatvezető aláírása

