

Forsøg med lys, farver og spektrofotometer

Beskrivelse og formål

I dette lille forsøg skal man undersøge farvede opløsninger ved at bruge et spektrofotometer. Man lærer hvordan et spektrofotometer fungerer i praksis, og man erfarer hvilken resultat man får fra et spektrofotometer.

Desuden ser man på opløsninger med forskellige farver, og man erfarer, hvad det betyder for resultatet som spektrofotometeret giver.

Endelig undersøger man om stofmængdekonzentrationen af det stof som er opløst i en væske har betydning for det resultat, som man får fra spektrofotometeret.

Alt dette leder os bl.a. frem til en vigtig lov, når vi taler om spektrofotometri nemlig

Lambert-Beers lov

Rent praktisk lærer man følgende

- 1) Hvordan tilsluttes spektrofotometeret til computeren (brug af LoggerPro).
- 2) Hvordan håndterer man en kuvette (blank og mat side)
- 3) Hvordan fylder man væske i en kuvette?
- 4) Hvorfor og hvordan kalibrerer vi spektrofotometeret?

Herunder at optage et såkaldt absorptionsspektrum, lige efter man har kalibreret, så man betragter støjniveauet.

- 5) Hvordan optager man nu et datasæt på en farvet opløsning?
Herunder også hvordan man stopper dataopsamlingen igen.
- 6) Hvordan man vælger at optage *absorbans* ved en fast bølgelængde.
- 7) Hvordan man gemmer datasættet.
- 8) ... og endelig skal man gerne overveje, hvad resultaterne fortæller os.

Praktisk øvelse

Udstyr

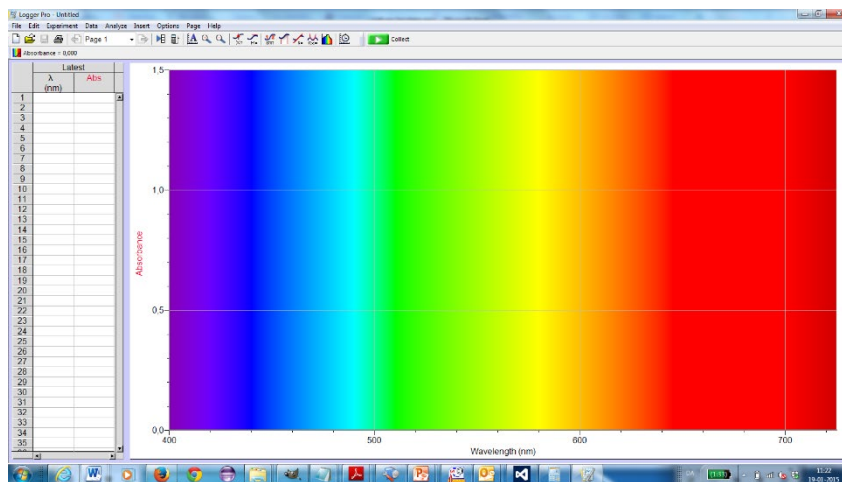
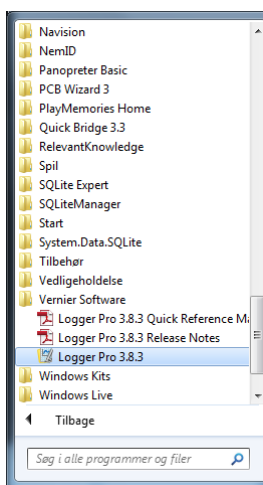
- PC med LoggerPro program
- Spektrofotometer (Vernier)
- Kuvetter
- Farvede opløsninger
- Engangspipetter
- Bægerglas
- Demineraliseret vand



Fremgangsmetode

Tilslut spektrofotometeret til USB-porten på en computer og start programmet Logger Pro:

- Programmet skal se således ud (figur til højre) - **noter datakolonnerne til venstre:**



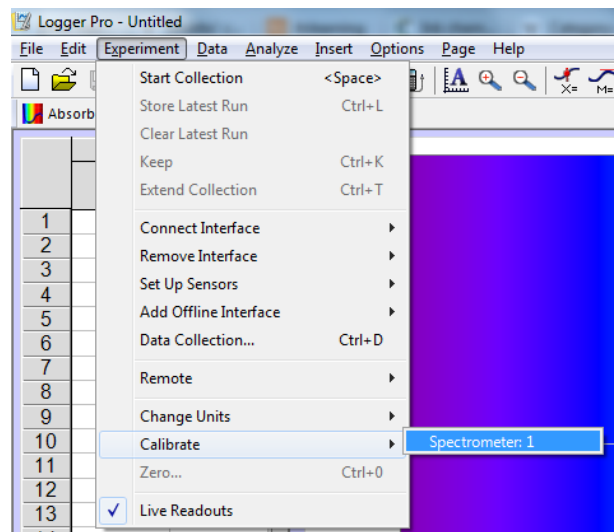
- **Det er meget vigtigt**, at der under forsøg med et spektrofotometer aldrig kommer væske ned i apparatet.
- Først skal spektrofotometeret **kalibreres**. Man benytter altid den væske, som stoffet man undersøger er opløst i. I dette tilfælde er det vand - demineraliseret vand benyttes.
- Når man overfører opløsninger til en kuvette, har man IKKE kuvetten nede i spektrofotometeret. Kuvetten er placeret i en kuvetteholder, eller kuvetten står på bordet.
- I dette forsøg overføres opløsninger til kuvetten blot med en engangspipette.

- Fyld nu en kuvette med ca. 3 mL demineraliseret vand (op til ca. 5 mm fra toppen) og sæt den i spektrofotometeret. Kuvetten har to uklare og to klare sider. Vend de klare sider mod trekantspilen og pæren (se på toppen af apparatet). Det er her lysvejen er.

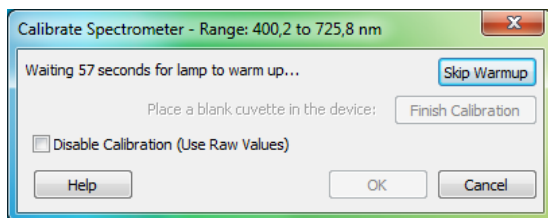


- **Placer et Blue Cap låg over kuvetten, så man lukker alt lys fra rummet ude.**

- Vælg nu spektrofotometer:1 som vist til højre:



- Kalibreringsvinduet åbner:



- **Vent** til "Warmup" er gennemført klik derefter på "Finish Calibration" ... Vent lidt tid... Når Ok knappen bliver aktiv, klik på den.

- Et absorptionsspektrum kan nu optages. Klik på startpilen



en gang. Man stopper dataopsamlingen ved at klikke samme sted.

- Brug A ikonet i bjælken øverst  til at **skalere** absorptionsspektret.

- Man ser nu et absorptionsspektrum på skærmen. Noter at støjniveauet er lavt - helst under 0,005 og gerne lavere!!! (Hvis dette ikke er tilfældet gentages kalibreringen, men der kan være/er forskel på støjen fra spektrofotometer til spektrofotometer.)

- Data optræder til venstre. Data kan kopieres over i fx Excel, så man kan se nærmere på data senere. DER KAN VÆRE UDFORDRINGER VED AT KOPIERE DATA OVER TIL ET ANDET PROGRAM - DET KAN GÆLDE FOR FORSKELLEN MELLE KOMMA OG PUNKTUM. Man kan evt. også tage et screenshot af skærmen og gemme en grafikfil på den måde. Man kan også gemme LoggerPro filen.
- Her SKAL I gøre det sidste: Gem LoggerPro filen i en mappe på computeren. På den måde kan man undersøge resultaterne senere. Denne LoggerPro fil skal nu løbende gemmes, så man har adgang til den efter eksperimentet er færdiggjort. **Afsluttende skal I sende filen til jer selv. (Mail eller Lectio.)**
- **Overfør nu en farvet væske til en kuvette (først gennemføres forsøgene med den blå og derefter med den røde væske) og gennemfør nedenstående:**
- Optag et absorptionsspektrum. Gem LoggerPro-filen.
- Efter at absorptionsspektret er optaget: Tag kuvetten ud af spektrofotometeret og udtag et volumen som svarer til ca. halvdelen af den farvede væske fra kuvetten og tilføj demineraliseret vand, som svarer til dette volumen.
- **Når man bliver spurgt, så skal man IKKE overskrive det tidligere datasæt!**
- **Bemærk om absorptionsen er over 1. I skal ende med en prøve, som har en absorptions, der er mindre end 1.**
- Optag nu et datasæt på den fortyndede prøve. **Hvad observerer man? Forklar! (*)**
- Når man har gemt data for en farvet opløsning, skifter man til den anden farvede opløsning (ny kuvette) og gentager proceduren. (Der måles i dette forsøg kun på to farvede opløsninger.)

Efterbehandling

1. Forklar sammenhængen mellem farven af de to opløsninger og de målte spektre. Kan I se, hvordan farven af opløsningen er relateret til absorptionsspektret?
2. Forklar uddybende hvad der sker i punktet (*).

GÅ NU TIL SIDE 5

Mere om brug og indstillinger af spektrofotometeret: Valg af fast bølgelængde

Når man vil optage data ved en enkelt bølgelængde, og altså ikke ønsker at se hele absorptionsspektret, gør man følgende:

Stop dataopsamlingen og klik på dette ikon:



Man ser nu det vindue, som er vist her (nederst).

Yderst til venstre skifter man fra "Absorbans vs bølgelængde" til Absorbans vs. Koncentration".

Nu vælger programmet automatisk den bølgelængde, hvor intensiteten i absorptionsspektret er størst. Når man herefter lukker vinduet, vil man se, at der måles en intensitet ved den valgte faste bølgelængde. Dette tal kan noteres og benyttes til fx en standardkurve, når man måler på opløsninger med forskellige koncentrationer af et stof.

Prøv igen at udtage ca. halvdelen af volumen fra en kuvette og tilføj demineraliseret vand som tidligere.

Vær opmærksom på, hvordan data aflæses.

Stemmer resultatet overens med det, som man forventer?

