

Brilliant Blue FCF indholdet i blå Scoop Cool

Formålet med øvelsen er at måle indholdet af Brilliant Blue FCF (E133) i blå Scoop Cool. Man kan læse mere om stoffet her: [Brilliant blue FCF - Wikipedia](#).

E133, som vi efterfølgende bruger for Brilliant Blue FCF, er et farvestof, som det er tilladt at bruge i fødevarer. Man kan finde information om tilsætningsstoffer i fødevarer i denne EU-database: [Database - European Commission](#).

Opgave: Gå ind på hjemmesiden og videre til databasen. Søg på 'E 133' og find information om, hvor meget af stoffet, en producent må tilsætte en fødevarer.

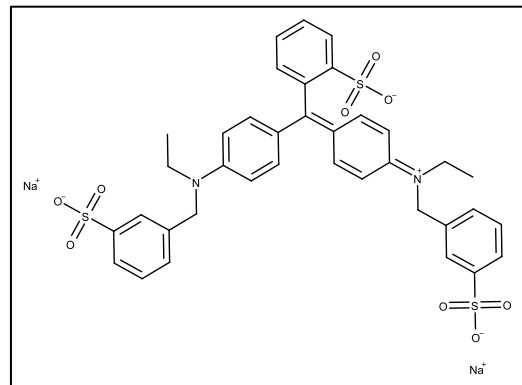
Stoffets strukturformel er vist neden for. Den molare masse af E133 er $792,84 \frac{g}{mol}$. Molekylformlen for E133 er $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$.

Opgave: Bekræft ved brug af periodesystemet og molekylformlen at den angivne molare masse for E133 er korrekt.



Når den aktuelle stofmængdekonzentration af E133 i en vandig opløsning ikke er for høj gælder Lambert-Beers lov, hvor den aktuelle stofmængdekonzentration af netop E133 her er indsat i formelen.

$$A = \epsilon_{\lambda} \cdot l \cdot [E133]$$



Her er A absorbansen ved en given bølgelængde λ . Absorbansen har ikke en enhed.

Husk på at vi ved målinger stræber efter, at absorbansen højst er 1. Er absorbansen højere end 1 skal en prøve fortyndes, og vi må 'regne tilbage' for at bestemme, hvad stofmængdekonzentrationen inden fortynding var.

ϵ_{λ} er den molare ekstinktionskoefficient ved den pågældende bølgelængde λ .

Enheden er $\frac{1}{cm \cdot M}$ hvilket også kan skrives om $cm^{-1} \cdot M^{-1}$.

l er lysvejens længde i cm.

Da vi ved eksperimentet måler ved en bestemt bølgelængde, og lysvejen konstant er 1 cm, kan vi simplificere Lambert-Beers lov til følgende lineære sammenhæng:

$$A = k \cdot [E133]$$

Ved hjælp af målingerne på standardopløsninger med kendte stofmængdekonzentrationer fremstilles en *standardkurve*. Man bruger standardkurven til at bestemme det ukendte indhold af E133 i blå Scoop Cool og i en fortyndet opløsning af blå Scoop Cool.

EKSPERIMENTELT

APPARATUR

- Spektrofotometer	Engangspipetter	Holder til kuvetter
- Kuvetter	Automatpipette	Bægerglas

KEMIKALIER

- Stamopløsning af Brilliant Blue FCF (E133). $[E133] = 8,27 \cdot 10^{-6} \text{ M}$.
- Scoop Cool - blå
- Fortyndet Scoop Cool (ukendt fortynding)
- Demineraliseret vand

Husk fra en tidligere øvelse, at man håndterer overførsel af opløsninger til kuvetterne, når kuvetterne står i en kuvetteholder. **Husk at kuvetterne har en helt klar og en mat side. Rør ikke den klare side med fingrene.** Husk at man placerer en **blue cap** over kuvetten, og husk at man skal starte med at kalibrere spektrofotometeret. Der må ikke være luftbobler i opløsningerne i kuvetten.



- Start LoggerPro på en computer og tilslut et spektrofotometer.
- **Kalibrer** spektrofotometeret med demineraliseret vand (husk tidligere øvelse - eller se side 6 i dette dokument). **Husk at 'autoskalere' og tjek at absorbansen er under 0,005, og at der ikke er 'kurver' på data - 'linjen' skal være flad.**

Del 1. Absorptionsspektrum af E133

- Overfør 3 mL af E133-stamopløsningen med en stofmængdekonzentration på $8,27 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ med en automatpipette. Det gøres ved at overføre $1000 \mu\text{L}$ tre gange. (1 mL er det samme som $1000 \mu\text{L}$.)
- Optag et absorptionsspektrum. Husk at det kan være nødvendigt at *'autoskalere'* for at se absorptionsspektret. Tag et screenshot eller fotografi af absorptionsspektret, eller gem LoggerPro filen og send den til dig selv. *Det er en god ide at tage et fotografi under alle omstændigheder, så man er sikker på, at man har en figur til senere.*
- Bestem den bølgelængde hvor **absorbansen er maksimal**. Ved de følgende absorbansmålinger, måles der kun ved denne bølgelængde.

Bølgelængden λ , hvor absorbansen er maksimal

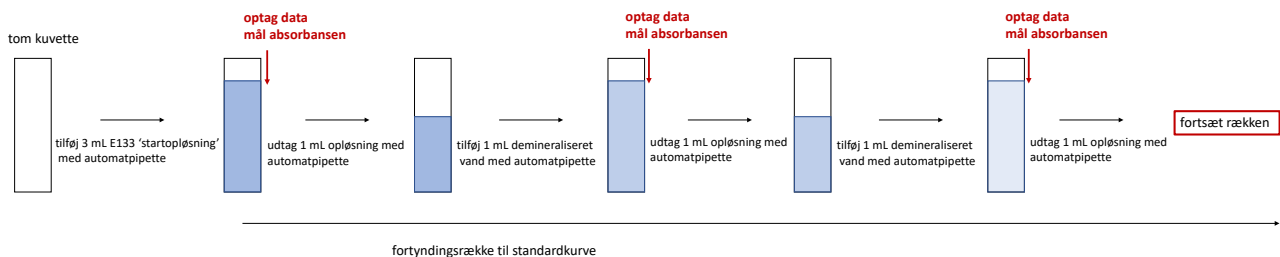
Del 2. Standardkurven

- Benyt den samme pipettespids som hidtil gennem hele denne del af øvelsen.
- Kuvetten med stamopløsningen af E133 er stadig i spektrofotometeret.
- Klik på  og indstil spektrofotometeret til at måle 'absorbans vs koncentration' ved den bølgelængde, der blev valgt tidligere. LoggerPro vælger ellers automatisk en bølgelængde, som oftest kan benyttes. (Husk tidligere øvelse. Se evt. mere om dette på side 7, hvis du er i tvivl om fremgangsmåden. Svar 'nej' til det vindue, der dukker op ved skiftet.) Absorbansen aflæses nede i venstre hjørne af LoggerPro- vinduet og man behøver ikke længere trykke på .

Aflæs absorbansen når tallet er stabilt og skriv tallet i resultatskemaet på side 4.

- Opløsningen i kuvetten benyttes til at fremstille opløsninger til standardkurven. På nedenstående figur er ideen med fortynding og dataopsamling skitseret. Læs også teksten.

Man har allerede gennemført den første del af figuren, hvor kuvetten blev fyldt og man har optaget de første data på den ikke fortyndede prøve.



- Flyt kuvetten til kuvetteholderen.
- Udtag med automatpipette 1 mL (1000 μ L) af E133-opløsningen fra kuvetten. Tøm pipettespidsens indhold ud i vasken.
- Tilføj 1 mL (1000 μ L) demineraliseret vand til kuvetten med automatpipetten, så det totale volumen stadig er 3 mL.
- Således fortynder man den oprindelige E133-opløsning. Husk at blande opløsningen i kuvetten. Dette gøres ved at suge væsken op/ned ved at bruge automatpipetten.
- Placer igen kuvetten i spektrofotometeret - husk blue cap'en - aflæs absorbansen når tallet er stabiliseret og noter resultatet i resultatskemaet.
- Gentag proceduren så der ved afslutning af forsøget er optaget (mindst) otte datapunkter. Man må gerne optage flere end de otte datapunkter, der er gjort plads til i skemaet.

RESULTATSKEMA (STANDARDKURVEN)

Opløsning nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Fortynding (ml E133 + mL vand)	ufortyndet	2+1	2+1	2+1	2+1	2+1	2+1	2+1
Absorbans (målt)								

Del 3. Måling på blå Scoop Cool og fortyndet blå Scoop Cool

- Tag en ny pipettespids til automatpipetten.
- Overfør 3 mL Scoop Cool til en kuvette og mål absorbansen ved at placere kuvetten i spektrofotometeret. Noter resultatet i skemaet nedenfor.
Hvis man vurderer at absorbansen for denne prøve er for høj (tænk selv over dette), fortyndes Scoop Cool med demineraliseret vand og absorbansen måles igen.
Man skal kende graden af fortyndingen til senere brug, så skriv ned, hvordan der blev fortyndet.
- Tag en ny pipettespids til automatpipetten.
- Overfør 3 mL Scoop Cool, som er fortyndet, til en kuvette og mål absorbansen ved at placere kuvetten i spektrofotometeret. Noter resultatet i skemaet nedenfor.
- Mål absorbansen for den allerede fortyndede Scoop Cool. Noter resultatet i skemaet nedenfor.

Scoop Cool	Ukendt fortynding af Scoop Cool
Absorbans	

EFTERBEHANDLING

1. Kommenter det absorptionsspektrum, der er blevet optaget.
Forklar om spektret ser ud som forventet i relation til farven af den opløsning, der blev optaget data på.
Forklar hvad skete der med absorbansen, da prøven blev fortyndet mere og mere.
2. Skemaet neden for skal udfyldes. Benyt fortyndingsformlen til at beregne stofmængdekonzentrationerne af E133, [E133], i opløsningerne til standardkurven. Husk at fortyndingsformlen ser således ud, og det er c_{efter} , der skal beregnes:

$$n_{\text{før}} = n_{\text{efter}}$$
$$c_{\text{før}} \cdot V_{\text{før}} = c_{\text{efter}} \cdot V_{\text{efter}}$$

Opløsning nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
[E133]								

3. Fremstil standardkurven og en matematisk model ved at udføre lineær regression.
4. Kommenter modellens udseende og argumenter for, at måleresultaterne er i overensstemmelse med Lambert-Beers lov. Argumenter evt. for hvilken del af standardkurven, det kan være problematisk at inddrage.
5. Benyt standardkurven og den matematiske model til at bestemme stofmængdekonzentrationen, [E133], i Scoop Cool.
Husk at korrigere for en eventuel fortynding af Scoop Cool, som I har foretaget.
6. Benyt standardkurven og den matematiske model til at bestemme, hvor meget den ukendte Scoop Cool prøve er fortyndet.
7. Antag at absorbansen måles på en prøve med E133, og at absorbansen er 1,2. Forklar hvad man kan gøre, for at få en måling, som kan benyttes til at bestemme stofmængdekonzentrationen af E133 i prøven.
8. Antag at der udleveres 1 liter af en opløsning med en koncentration af E133 på $12 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$. Man bliver bedt om at fremstille 100 mL af en opløsning, hvor koncentrationen af E133 er $3 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$. Forklar hvordan man fremstiller den opløsning.

Supplerende materiale

- **Kalibrering.**

- Man benytter altid den væske, som stoffet man undersøger er opløst i. I dette tilfælde er det vand - demineraliseret vand benyttes.
- 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 matte og to klare sider. Vend de klare sider mod trekantspilen og pæren (se på toppen af apparatet). Det er her lysvejen er.

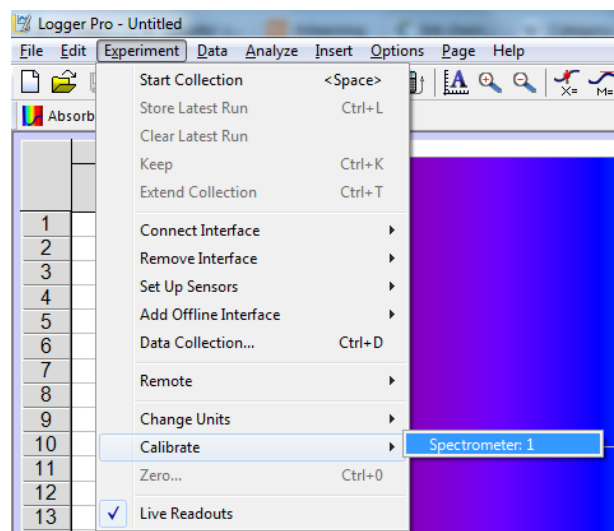
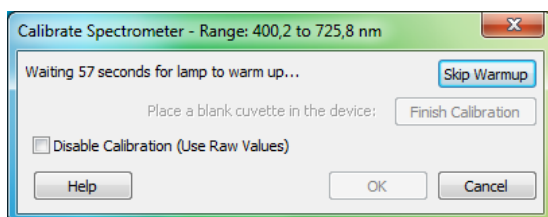
Der må ikke være luftbobler i væsken.



- **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, at at 'linjen' er flad. Hvis dette ikke er tilfældet gentages kalibreringen, men der kan være/er forskel på støjen fra spektrofotometer til spektrofotometer.

Valg af fast bølglængde - måling af absorbans.

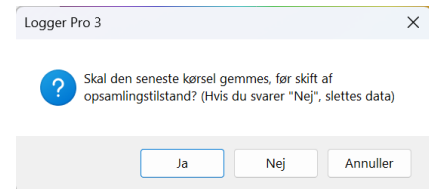
Når man skal optage data ved en enkelt bølglængde, og altså ikke ønsker at se hele absorptionsspektret, gør man følgende:

Stop dataopsamlingen og klik på dette ikon:



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

Yderst til venstre skifter man fra 'Absorbans vs bølglængde' til 'Absorbans vs. Koncentration'. Svar blot 'nej' ved spørgsmåler her til højre:



Nu vælger programmet automatisk den bølglængde, hvor intensiteten i absorptionsspektret er størst (se den røde markering nedenfor).

Man kan også ændre denne bølglængde manuelt, ved selv at vælge en anden bølglængde.

Når man herefter lukker vinduet, vil men se, at der måles en intensitet ved den valgte faste bølglængde. Dette tal aflæses i det nederste venstre hjørne af LoggerPro-vinduet og det noteres i et resultatskema. Vent lidt efter kuvetten er sat i spektrofotometeret med at aflæse absorbansen - vent til tallet er stabilt.

Resultaterne benyttes her bl.a. til standardkurven.

man kan manuelt ændre bølglængden her

