

Bionanostruktury 1 – Laboratorium

Ćwiczenie nr 4

Wyznaczanie współczynnika podziału metodą spektrofotometryczną

Wymagane pojęcia

Absorbpcja, prawo Lamberta-Beera, $\log P$, $\log D$, szereg Hofmeistera.

Aparatura i odczynniki

1. Aparatura: spektrofotometr, wirówka laboratoryjna.

2. Sprzęt:

- cylinder miarowy 50ml,
- rozdzielacze gruszkowe 100ml 3 szt.,
- probówki typu falcon 12 szt.
- kuwety plastikowe 10 szt.,
- pipety miarowe.

3. Odczynniki:

- wodny roztwór barwnika Nile Blue: 0.1 mg/ml,
- olej słonecznikowy
- 100mM siarczan amonu w 10mM buf. fosforanowym pH2.5
- 100mM siarczan amonu w 10mM buf. boranowym pH9.0

Program ćwiczenia

1. Przygotowanie mieszanin do wyznaczenia współczynnika podziału i krzywej wzorcowej.
2. Wykonanie krzywej wzorcowej i oznaczenie absorbancji w badanych roztworach.
3. Wyznaczenie wartości $\log P$ badanego związku.

Wykonanie ćwiczenia

1. W 6 probówkach typu falcon przygotować 2 serie (pH2,5 i pH9,0) po 3 stężenia roztworu Nile Blue (A – 0.5 $\mu\text{g/ml}$, B – 1 $\mu\text{g/ml}$, C – 1.5 $\mu\text{g/ml}$, po 20 ml). W razie potrzeby skonsultować obliczenia z prowadzącym. Próbki opisać. Zmierzyć absorbancję próbek przy 635nm względem wody.

	A	B	C
pH2.5			
pH9.0			

2. Do 6 probówek typu falcon przenieść po 20 ml oleju. Próbki opisać. Do falkonów dodać odpowiednie roztwory przygotowane w punkcie 1.
3. Tak przygotowane próbki wytrząsać przez ok. 5 minut, a następnie zwirować przy 5000rpm przez 10 min.

4. Równolegle należy przygotować 2 krzywe wzorcowe (pH2.5 i pH9.0) składające się z minimum 6 roztworów barwnika. Stężenia powinny być tak dobrane, by przy pomocy krzywej można było oznaczyć stężenie barwnika w fazie wodnej. Wykonać pomiary roztworów przygotowanych do wyznaczenia krzywej wzorcowej przy 635nm względem wody. Minimalna objętość wymagana do pomiaru spektrofotometrycznego to 3 ml. W razie potrzeby skonsultować obliczenia z prowadzącym.

5. Falkony po odwirowaniu postawić w statywie i za pomocą pipet usunąć z nich olej. Następnie przenieść fazę wodną do rozdzielaczy i pozostawić do oddzielenia się resztek oleju.

6. Do osobnych probówek pobrać z rozdzielaczy ok. 5 ml z dolnej fazy (odkręcając zawór) i odrzucić (mogą zawierać resztki oleju). Następnie z rozdzielacza pobrać po 3ml fazy wodnej i oznaczyć ich absorbcję przy 635nm.

Opracowanie wyników:

1. Sporządzić krzywe wzorcowe Nile Blue w 2 pH. Wyznaczyć parametry dopasowanej funkcji liniowej wraz z błędami, a także wartość współczynnika korelacji R^2 .

2. Wykorzystując krzywą wzorcową wyznaczyć stężenia Nile Blue w wodnych roztworach po wytrząsaniu z olejem. Obliczyć stężenia barwnika w fazie organicznej korzystając z równania:

$$V^w c_i^w + V^{org} c_i^{org} = V^w c_i^{pocz}$$

gdzie:

V^w, V^{org} – objętość fazy wodnej, organicznej.

C^w, C^{org}, C^{pocz} – stężenia barwnika w fazie wodnej, organicznej i początkowe.

3. Sporządzić wykres zależności $c^{org}=f(c^w)$ i obliczyć logP i logD.

4. Obliczyć niepewności pomiarowe.

5. Jaka rolę pełnił w tym doświadczeniu siarczan amonu? Czy można go zastąpić inną solą?

Instrukcję opracował:
Mgr inż. Marek Kaczyński
Edytował:
Mgr inż. Jan Procek