Usporedba izrade krivulja umjeravanja na Perkin Elmerovim spektrofotometrima serije Lambda

Vekić, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:391851

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

USPOREDBA IZRADE KRIVULJA UMJERAVANJA NA PERKIN ELMEROVIM SPEKTROFOTOMETRIMA SERIJE LAMBDA

ZAVRŠNI RAD

IVANA VEKIĆ

Matični broj: 51

Split, listopad 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STRUČNI STUDIJ

ZAŠTITA I OPORABA MATERIJALA

USPOREDBA IZRADE KRIVULJA UMJERAVANJA NA PERKIN ELMEROVIM SPEKTROFOTOMETRIMA SERIJE LAMBDA

ZAVRŠNI RAD

IVANA VEKIĆ

Matični broj: 51

Split, listopad 2019.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE PROFESSIONAL STUDY

MATERIALS PROTECTION AND RECYCLING

THE COMPARISON OF CALIBRATION CURVES MAKING ON PERKIN ELMER LAMBDA SPECTROPHOTOMETERS

BACHELOR THESIS

IVANA VEKIĆ

Parent number: 51

Split, October 2019

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski stručni studij Zaštita i oporaba materijala

Znanstveno područje: Tehničke znanosti
Znanstveno polje: Kemijsko inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na 19. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek

USPOREDBA IZRADE KRIVULJA UMJERAVANJA NA PERKIN ELMEROVIM SPEKTROFOTOMETRIMA SERIJE LAMBDA

Ivana Vekić, 51

Sažetak: U ovom završnom radu uspoređena je izrada krivulja umjeravanja za dva različita spektorofotometra proizvođača Perkin Elmer: Lambda 25 i Lambda EZ 201. Pripremljene su vodene otopine bakrovog(II) klorida dihidrata te kobaltovog(II) klorida heksahidrata kojima su izmjerene odgovarajuće apsorbancije te izrađene krivulje umjeravanja. Iako se radi o dva različita modela, linearno dinamičko područje je za obje krivulje umjeravanja identično. S obzirom da je spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25 novije generacije, rad na njemu je precizniji. Osim toga, njime se upravlja uz pomoć programske podrške te nudi mogućnost pohrane krivulje umjeravanja.

Ključne riječi: spektrofotometar, Perkin Elmer, Lambda 25, Lambda EZ 201, bakrov(II) klorid dihidrat, kobaltov(II) klorid heksahidrat

Rad sadrži: 32 stranice, 19 slika, 6 tablica, 7 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Sandra Svilović	predsjednica
2. Doc. dr. sc. Franko Burčul	član
3. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek	član-mentor

Datum obrane: 18. listopada 2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate professional study Materials Protection and Recycling

Scientific area: Tehnical sciences
Scientific field: Chemical engineering
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 19.

Mentor: Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor

THE COMPARISON OF CALIBRATION CURVES MAKING ON PERKIN ELMER LAMBDA SPECTROPHOTOMETERS

Ivana Vekić, 51

Abstract: In this bachelor thesis, a comparison of making of calibration curves for two different spectrophotometers manufactured by Perkin Elmer: Lambda 25 and Lambda EZ 201 was examined. Aqueous solutions of copper(II) chloride dihydrate and cobalt(II) chloride hexahydrate were prepared and the corresponding absorbances were measured and calibration curves were constructed. Although these are two different models, linear dynamic range of both calibration curves obtained are identical. Since the Perkin Elmer Lambda 25 spectrophotometer is of a newer generation, the work on it is more accurate. In addition, it is managed by software and offers the ability to store the calibration curve.

Keywords: spectrophotometer, Perkin Elmer, Lambda 25, Lambda EZ 201, copper(II) chloride dihydrate, cobalt(II) chloride hexahydrate

Thesis contains: 32 pages, 19 figures, 6 tables, 7 references

Original in: Croatian

Deefence Committee:

1. Sandra Svilović, PhD, associate prof.	chair person
2. Franko Burčul, PhD, assistant prof.	member
3. Mario Nikola Mužek, PhD, assistant prof.	supervisor

Defence date: October 18th, 2019.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maria Nikole Mužeka u razdoblju od lipnja do rujna 2019. godine.

Zahvala

Hvala mentoru doc. dr. sc. Mariu Nikoli Mužeku na svim savjetima i pomoći koje mi je pružio tijekom izrade ovog rada.

Hvala mojim prijateljima koji su bili sve ove godine puni strpljenja i razumijevanja i bez kojih bi ovo bilo puno teže. Posebno hvala mojoj obitelji i Daniu koji su bili bezuvjetna podrška u svakom trenutku mog studija.

Najveća hvala mom anđelu.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Izvagati krutine bakrovog(II) klorida dihidrata, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, te kobaltovog(II) klorida heksahidrata, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ na analitičkoj vagi.
- Pripremiti vodene otopine bakrovog(II) klorida dihidrata različitih početnih koncentracija (0,962 mmol dm^{-3}, 2,511 mmol dm^{-3}, 6,089 mmol dm^{-3}, 11,966 mmol dm^{-3}, 20,084 mmol dm^{-3}, 30,021 mmol dm^{-3} te 40,110 mmol dm^{-3}).
- Pripremiti vodene otopine kobaltovog(II) klorida heksahidrata različitih početnih koncentracija (1,034 mmol dm^{-3}, 2,463 mmol dm^{-3}, 6,052 mmol dm^{-3}, 12,188 mmol dm^{-3}, 20,157 mmol dm^{-3}, 30,009 mmol dm^{-3} te 40,180 mmol dm^{-3}).
- Odrediti valnu duljinu pri kojoj će biti potrebno izvršiti mjerenja na spektrofotometrima marke Perkin Elmer (Lambda 25 te Lambda EZ 201).
- Izraditi krivulje umjeravanja za oba spektrofotometra.

SAŽETAK

U ovom završnom radu uspoređena je izrada krivulja umjeravanja za dva različita spektorofotometra proizvođača Perkin Elmer: Lambda 25 i Lambda EZ 201. Pripremljene su vodene otopine bakrovog(II) klorida dihidrata te kobaltovog(II) klorida heksahidrata kojima su izmjerene odgovarajuće apsorbancije te izrađene krivulje umjeravanja. Iako se radi o dva različita modela, linearno dinamičko područje je za obje krivulje umjeravanja identično. S obzirom da je spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25 novije generacije, rad na njemu je precizniji. Osim toga, njime se upravlja uz pomoć programske podrške te nudi mogućnost pohrane krivulje umjeravanja.

Ključne riječi: spektrofotometar, Perkin Elmer, Lambda 25, Lambda EZ 201, bakrov(II) klorid dihidrat, kobaltov(II) klorid heksahidrat

SUMMARY

In this bachelor thesis, a comparison of making of calibration curves for two different spectrophotometers manufactured by Perkin Elmer: Lambda 25 and Lambda EZ 201 was examined. Aqueous solutions of copper(II) chloride dihydrate and cobalt(II) chloride hexahydrate were prepared and the corresponding absorbances were measured and calibration curves were constructed. Although these are two different models, linear dynamic range of both calibration curves obtained are identical. Since the Perkin Elmer Lambda 25 spectrophotometer is of a newer generation, the work on it is more accurate. In addition, it is managed by software and offers the ability to store the calibration curve.

Keywords: spectrophotometer, Perkin Elmer, Lambda 25, Lambda EZ 201, copper(II) chloride dihydrate, cobalt(II) chloride hexahydrate

SADRŽAJ

UVOD **1**
1. OPĆI DIO **3**
1.1. SPEKTROSKOPIJA **4**
1.1.1. Povijest spektroskopije 4
1.1.2. Spektroskopija 4
1.1.2.1. Elektromagnetski spektar 4
1.1.2.2. Osnovni pojmovi i nazivlje u apsorpcijskoj spektroskopiji 5
1.1.2.3. Beerov zakon 6
1.2. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA **8**
1.2.1. Spektrofotometar 8
2. EKSPERIMENTALNI DIO **10**
2.1. MATERIJALI **11**
2.2. INSTRUMENTI **12**
2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA **14**
2.3.1. Obrada rezultata 18
3. REZULTATI I RASPRAVA **19**
3.1. KRIVULJE UMJERAVANJA ZA SPEKTROFOTOMETAR PERKIN ELMER LAMBDA 25 ..... **20**
3.2. KRIVULJE UMJERAVANJA ZA SPEKTROFOTOMETAR PERKIN ELMER LAMBDA EZ 201 ..... **23**
4. ZAKLJUČAK **29**
5. LITERATURA **31**

UVOD

Spektroskopija je znanost koja se bavi proučavanjem emisijskih i apsorpcijskih elektromagnetskih spektara molekula i atoma mjerenjem količine zračenja u ovisnosti o energiji, frekvenciji ili valnoj duljini. Kao rezultat spektroskopskog istraživanja dobiva se spektar koji predstavlja raspodjelu intenziteta mjerene veličine prikazane ovisno o nekoj fizikalnoj veličini, na primjer energiji, frekvenciji, brzini, itd.[1]

Spektrofotometar je instrument koji se koristi u UV-VIS spektroskopiji, a radi na način da mjeri intenzitet svjetla koje je prošlo kroz analizirani uzorak (I) te ga uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla (I_0).

Kako bi se uz pomoć spektrofotometra mogla odrediti koncentracija željene bistre obojene otopine potrebno je izraditi krivulju umjeravanja koja predstavlja izraz odnosa mjerene veličine i njezine izmjerene vrijednosti.

Cilj završnog rada je bio izraditi krivulje umjeravanja za dvije vodene otopine teških metala: bakrov(II) klorid dihidrat i kobaltov(II) klorid heksahidrat za dva različita spektrofotometra proizvođača Perkin Elmer.

1. OPĆI DIO

1.1. SPEKTROSKOPIJA

1.1.1. Povijest spektroskopije

Povijesno gledano izraz spektroskopija odnosio se na granu znanosti koja se bavila svjetlošću tj. vidljivim zračenjem koje je razlučeno u komponente, valne duljine, koje tvore spektar. Međutim, spektroskopija proučava svjetlost, ali i druge vrste elektromagnetskog zračenja kao što su X-zrake, zatim ultraljubičasto, infracrveno, mikrovalno i radiofrekvencijsko zračenje. Današnja primjena pojma spektroskopskih metoda proširena je i na tehnike koje ne uključuju elektromagnetsko zračenje, kao što su akustička, masena i elektronska spektroskopija.[1]

1.1.2. Spektroskopija

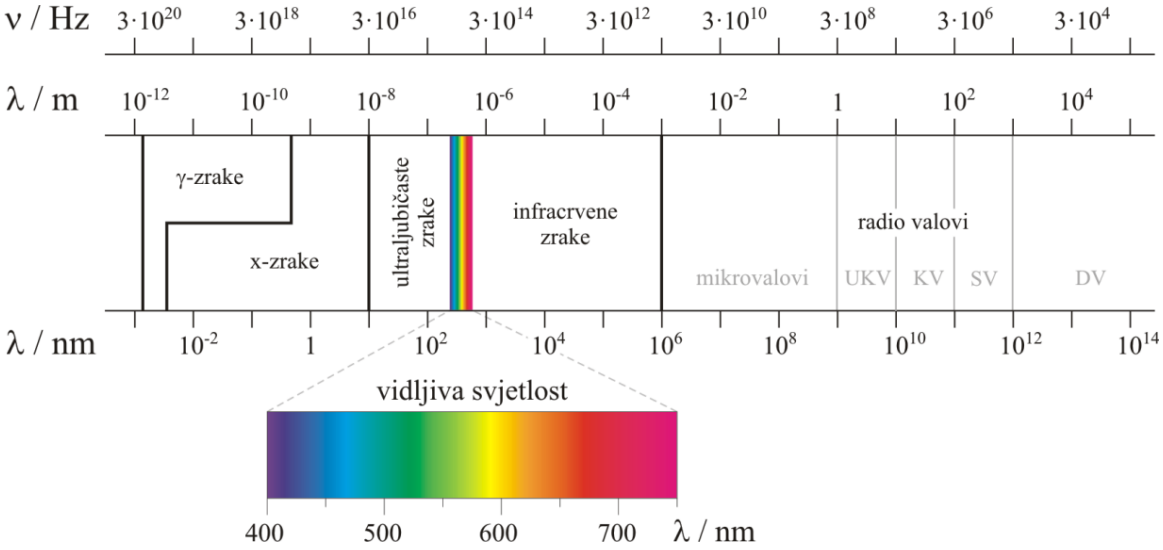
Spektroskopija je znanost koja se bavi proučavanjem emisijskih i apsorpcijskih elektromagnetskih spektara molekula i atoma. Mjeri se količina zračenja u ovisnosti o energiji, frekvenciji ili valnoj duljini. Njezina uporaba je višestruka, primjenjuje se u medicini, anatomiji, astronomiji, metalurgiji i drugdje gdje je potrebno određivanje fizikalnih i kemijskih osobina nekih tvari.[2]

Spektroskopija je vrlo razvijena disciplina i dijeli se na brojne druge poddiscipline prema:[2]

- vrsti zračenja tj. frekvenciji (radio, mikrovalna, terahercna, infracrvena, vidljiva, ultraljubičasta, rendgenska, gama)
- nivou interakcije (nuklearna, atomska, molekularna, agregacijska)
- pronalazaču (Ramanova, Mössbauerova)
- tehnici (Furierova, rezonantna, laserska, koherentna, emisijska, apsorpcijska).

1.1.2.1. Elektromagnetski spektar

Elektromagnetski spektar (slika 1.1.) obuhvaća veliko područje valnih duljina i energija; zračenja od gama zraka pa do radio valova. Infracrveno zračenje koje se koristi kod spektrometrije zauzima samo jedno malo područje (4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1}).[1,2]



Slika 1.1. *Elektromagnetski spektar*[3]

Područje zračenja koje opaža ljudsko oko, odnosno vidljivi dio spektra predstavlja vrlo mali dio cijelog spektra. Različita se zračenja (gama zračenje ili radiovalovi) razlikuju od vidljive svjetlosti frekvencijom, a time i energijom.[1]

1.1.2.2. Osnovni pojmovi i nazivlje u apsorpcijskoj spektroskopiji

Transmitancija

Transmitancija (T) je mjera količine neapsorbiranog zračenja te se definira kao dio upadnog zračenja koji je prošao otopinom (izraz 1.1.):[1]

$$T = P/P_0 \qquad (1.1.)$$

gdje su:

T - transmitancija (%)

P, P_0 - snaga zračenja, tj. energija zračenja koja u 1 sekundi pada na 1 cm^2 površine detektora. Izražava se u ergima.

Apsorbancija

Apsorbancija (A) je logaritam omjera intenziteta upadnog zračenja (P_0) i propuštenog zračenja (P) kroz uzorak (izuzimajući efekte posude u kojoj je uzorak)te se izračunava izrazom 1.2.:[1]

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P}{P_0} \qquad (1.2.)$$

1.1.2.3. Beerov zakon

Beerov zakon (slika 1.2.) predstavlja funkcijski odnos između veličine mjerene apsorpcijskom metodom (A) i one koja se određuje (koncentracija c) te je dan izrazom 1.3.[1]

$$A = log \frac{P}{P_0} = abc \qquad (1.3.)$$

gdje su:

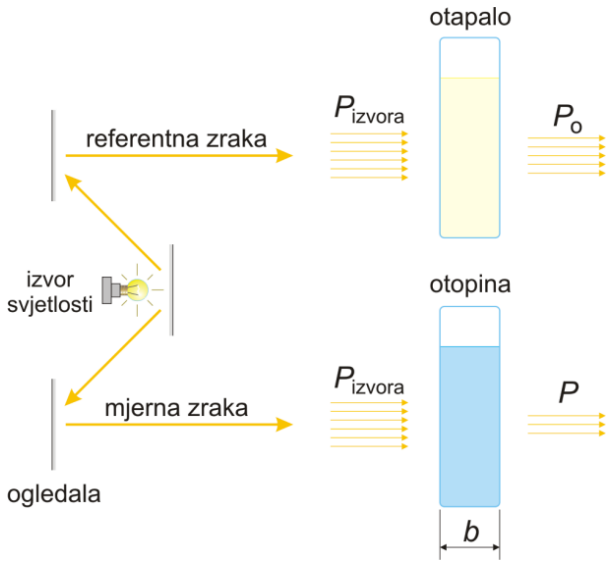
a - konstanta (apsorptivnost)

P_0 - snaga upadnog zračenja

P - snaga propuštenog zračenja

c - koncentracija tvari u otopini uzorka

b - debljina kivete.



Slika 1.2. *Beerov zakon*[4]

Kada se koncentracija izražava u molovima po litri tada se konstanta proporcionalnosti naziva molarnom apsorptivnošću i izražava se posebnim simbolom ε, izraz 1.4.[1]

$$A = \varepsilon bc \qquad (1.4.)$$

gdje je:

ε - molarna apsorptivnost (molarni apsorpcijski koeficijent) L $cm^{-1}mol^{-1}$.

1.2. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA

UV/VIS spektroskopija ili ultraljubičasta i vidljiva spektrofotometrija je tehnika koja je temeljena na apsorpciji u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra. Spektrofotometrijom se može izvoditi i kvalitativna (zasniva se na apsorpcijskom spektru uzorka, a ovisi o njegovom sastavu i strukturi) i kvantitativna (zasniva se na Lambert-Beerovom zakonu) analiza.[5]

Kvantitativna analiza se zasniva na Lambert-Beerovom zakonu gdje do apsorpcije dolazi uslijed elektronskih prijelaza u molekulama. Koristi se za kvantitativno određivanje prijelaznih metala i organskih komponenti u otopini.[5]

1.2.1. Spektrofotometar

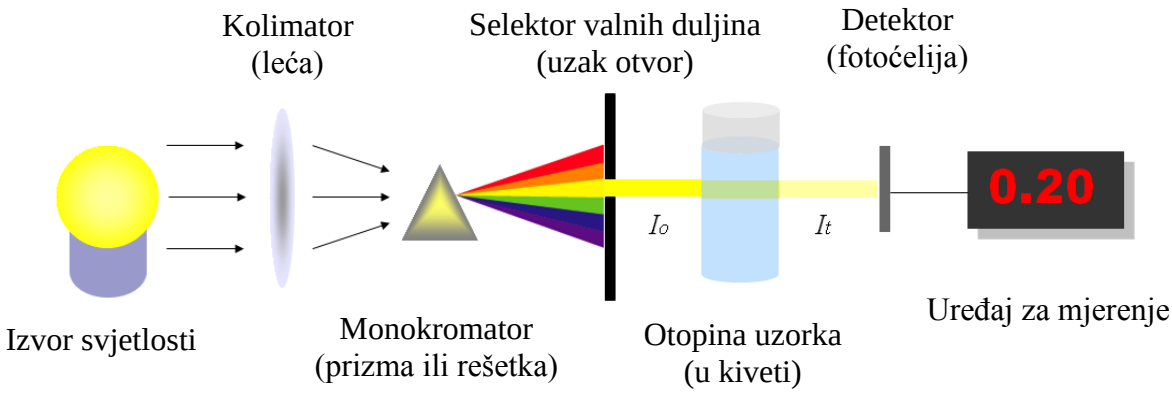
Instrument koji se koristi u UV/VIS spektroskopiji zove se UV/VIS spektrofotometar koji mjeri intenzitet svjetla koje je prošlo kroz analizirani uzorak (I) te ga uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla (I_0). Instrument stoga omogućava mjerenja apsorbancije, transmitancije (izražene u %) te određivanje koncentracije analita u ispitivanim otopinama pomoću Lambert-Beerovog zakona. Spektrofotometri mogu imati jedan ili dva snopa svjetlosti. Najčešće se mjere tekući uzorci, iako se mogu mjeriti i kruti te plinoviti uzorci. Uzorak je smješten u prozirnoj posudi (kiveti) koja je najčešće širine 1 cm i načinjena je od kvarca.[6]

Osnovni dijelovi spektrofotometra su (slika 1.3.):[6]

- Izvor zračenja - žarulja koja daje bijelu svjetlost podjednakih intenziteta za cijelo područje valnih duljina. Uglavnom se koriste halogena i deuterijeva žarulja kao izvor vidljivog, odnosno ultraljubičastog zračenja.
- Monokromator - kao disperzni elementi koriste se optička rešetka ili prizma.
- Spremnik za uzorke - tekući se uzorci stavljaju u kivete, čija je širina 1 cm. Kako je potrebno izmjeriti intenzitet zrake prije i poslije prolaska kroz uzorak, to se može postići na dva načina. Kao referentan uzorak služi čisto otapalo koje se nalazi u kiveti od istog materijala i širine kao kiveta s uzorkom. Tako postoje jednosnopni i dvosnopni spektrofotometri. Kod jednosnopnih spektrofotometara prvo se izmjeri intenzitet zračenja koji je prošao kroz referentan uzorak, a nakon toga se mjere intenziteti propuštenog zračenja kroz ostale uzorke. Kod dvosnopnog spektrofotometra se zraka monokromatskog zračenja razdvaja na

dva snopa od kojih jedan snop prolazi kroz referentni uzorak, a drugi kroz uzorak od interesa.

- Detektor zračenja i pretvornik - sastoji se od fotoćelije koja služi kao senzor. Fotoćelija daje električni signal proporcionalan intenzitetu zračenja, koji se pojačava i preračunava u apsorbanciju.
- Procesor signala i uređaj za njegovo očitavanje - procesor signala je obično elektronička naprava koja pojačava električni signal iz detektora, a uređaj za njegovo očitavanje je monitor računala s kojim je spektrofotometar povezan.



Slika 1.3. *Shematski prikaz spektrofotometra*[7]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. MATERIJALI

U eksperimentalnom dijelu završnog rada korišteni su sljedeći materijali:

- Kobaltov(II) klorid heksahidrat, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$. Proizvođač Alfa Aesar (slika 2.1.).



Slika 2.1. *Kobaltov(II) klorid heksahidrat*

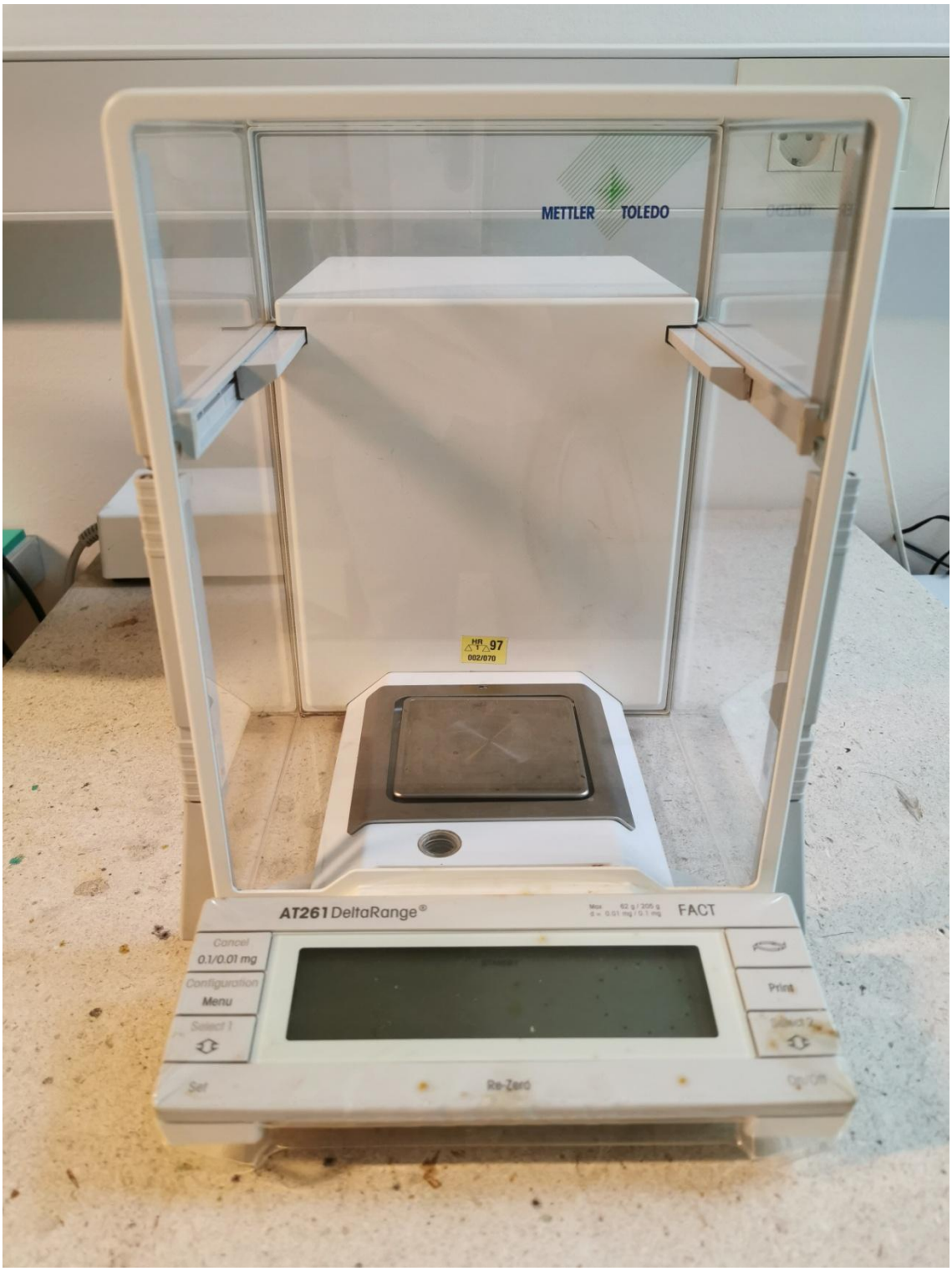
- Bakrov(II) klorid dihidrat, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$. Proizvođač Kemika (slika 2.2.).



Slika 2.2. *Bakrov(II) klorid dihidrat*

2.2. INSTRUMENTI

- Analitička vaga Mettler Toledo AT 261 DTL. Proizvođač Mettler Toledo, Balingen, Švicarska (slika 2.3.).



Slika 2.3. *Analitička vaga*

- UV/VIS spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25 (slika 2.4.).



Slika 2.4. *Spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25*

- UV/VIS spektrofotometar Perkin Elmer Lambda EZ 201 (slika 2.5.).



Slika 2.5. *Spektrofotometar Perkin Elmer Lambda EZ 201*

2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA

Potrebno je izraditi krivulje umjeravanja za dvije vodene otopine teških metala: bakrov(II) klorid dihidrat i kobaltov(II) klorid heksahidrat za dva različita spektrofotometra proizvođača Perkin Elmer.

Izrada krivulje umjeravanja za bakrov(II) klorid dihidrat, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$

Najprije je potrebno pripremiti vodene otopine bakrovog(II) klorida dihidrata točno određenih koncentracija kako bi se mogle izmjeriti njihove pripadajuće apsorbancije na spektrofotometru. Željene koncentracije koje su se trebale pripremiti su: 1 mmol dm^{-3}, 2,5 mmol dm^{-3}, 6 mmol dm^{-3}, 12 mmol dm^{-3}, 20 mmol dm^{-3}, 30 mmol dm^{-3}, 40 mmol dm^{-3}.
Vodene otopine bakrovog(II) klorida dihidrata željenih koncentracija (1 mmol dm^{-3}, 2,5 mmol dm^{-3}, 6 mmol dm^{-3}, 12 mmol dm^{-3}, 20 mmol dm^{-3}, 30 mmol dm^{-3} te 40 mmol dm^{-3}) pripremljene su otapanjem odgovarajuće količine $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ u demineraliziranoj vodi.

Primjer proračuna za pripremu 50 cm^3 1 mmol dm^{-3} vodene otopine $CuCl_2 \cdot 2H_2O$:

$M(CuCl_2 \cdot 2H_2O) = 170{,}48256 \text{ g mol}^{-1}$
$c(CuCl_2 \cdot 2H_2O) = 1 \text{ mmol dm}^{-3} = 0{,}001 \text{ mol dm}^{-3}$
$V(CuCl_2 \cdot 2H_2O) = 50 \text{ cm}^3 = 0{,}05 \text{ dm}^3$

$m(CuCl_2 \cdot 2H_2O_{krutine}) = ?$

$m(CuCl_2 \cdot 2H_2O_{krutine}) = V(CuCl_2 \cdot 2H_2O) \cdot c(CuCl_2 \cdot 2H_2O) \cdot M(CuCl_2 \cdot 2H_2O)$
$m(CuCl_2 \cdot 2H_2O_{krutine}) = 0{,}05 \text{ dm}^3 \cdot 0{,}001 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 170{,}48256 \text{ g mol}^{-1}$
$m(CuCl_2 \cdot 2H_2O_{krutine}) = 0{,}0085 \text{ g}$

Kako bi se pripremilo 50 cm^3 1 mmol dm^{-3} vodene otopine $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ potrebno je otopiti 0,0085 g $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ krutine u demineraliziranoj vodi te nadopuniti demineraliziranom vodom točno do oznake u odmjernoj tikvici od 50 cm^3.

Međutim, kako se radi o jako malim odvagama, ponekad je jako teško odvagati točnu količinu pa je cilj odvagati što je moguće bliže željenoj vrijednosti te izvršiti korekciju stvarno pripremljene koncentracije u odnosu na željenu.

Primjer proračuna stvarno pripremljene koncentracije:

$M\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O) = 170{,}48256\ g\ mol^{-1}$

$m\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O_{krutine}) = 0{,}0082\ g$

$V\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O) = 50\ cm^3 = 0{,}05\ dm^3$

$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O) = ?$

$$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{stvarna} = \frac{m\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O_{krutine})}{V\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O) \cdot M\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)}$$

$$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{stvarna} = \frac{0{,}0082\ g}{0{,}05\ dm^3 \cdot 170{,}48256\ g\ mol^{-1}}$$

$$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{stvarna} = 0{,}000962\ mol\ dm^{-3} = 0{,}962\ mmol\ dm^{-3}$$

U tablici 2.1. se nalazi prikaz željenih i stvarno pripremljenih koncentracija vodenih otopina $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ za pripravu krivulje umjeravanja te potrebne i stvarne odvage $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ krutine.

Tablica 2.1. *Potrebni podatci za izradu otopina*

$CuCl_2 \cdot 2H_2O$			
$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{željena}$ / mmol dm^{-3}	**$m\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O$ krutine$)_{željena}$ / g**	**$m\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O$ krutine$)_{stvarna}$ / g**	**$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{stvarna}$ / mmol dm^{-3}**
1	0,0085	0,0082	0,962
2,5	0,0213	0,0214	2,511
6	0,0511	0,0519	6,089
12	0,1023	0,1020	11,966
20	0,1705	0,1712	20,084
30	0,2557	0,2550	30,021
40	0,3410	0,3419	40,110

Izrada krivulje umjeravanja za kobaltov(II) klorid heksahidrat, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$:

Najprije je potrebno pripremiti vodene otopine kobaltovog(II) klorida heksahidrata točno određenih koncentracija kako bi se mogle izmjeriti njihove pripadajuće apsorbancije na spektrofotometru. Željene koncentracije koje su se trebale pripremiti su: 1 mmol dm^{-3}, 2,5 mmol dm^{-3}, 6 mmol dm^{-3}, 12 mmol dm^{-3}, 20 mmol dm^{-3}, 30 mmol dm^{-3} te 40 mmol dm^{-3}, a pripremljene su otapanjem odgovarajuće količine $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ u demineraliziranoj vodi.

Primjer proračuna za pripremu 50 cm^3 1 mmol dm^{-3} vodene otopine, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$:

M ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) = 237,93088 g mol^{-1}
c ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) = 1 mmol dm^{-3} = 0,001 mol dm^{-3}
V ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) = 50 cm^3 = 0,05 dm^3
---
m ($CoCl_2 \cdot 6H_2O_{krutine}$) = ?

m ($CoCl_2 \cdot 6H_2O_{krutine}$) = V ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) · c ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) · M ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$)
m ($CoCl_2 \cdot 6H_2O_{krutine}$) = 0,05 dm^3 · 0,001 mol dm^{-3} · 237,93088 g mol^{-1}
m ($CoCl_2 \cdot 6H_2O_{krutine}$) = 0,0119 g

Kako bi se pripremilo 50 cm^3 1 mmol dm^{-3} vodene otopine $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ potrebno je otopiti 0,0119 g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ krutine u demineraliziranoj vodi te razrijediti demineraliziranom vodom točno do oznake u odmjernoj tikvici od 50 cm^3.

Međutim, kako se ponovno radi o jako malim odvagama, a kako je jako teško odvagati točnu količinu, cilj je odvagati što je moguće bliže željenoj vrijednosti te nakon toga izvršiti korekciju stvarno pripremljene koncentracije u odnosu na željenu:

Primjer proračuna stvarno pripremljene koncentracije:

M ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) = 237,93088 g mol^{-1}
m ($CoCl_2 \cdot 6H_2O_{krutine}$) = 0,0123 g
V ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) = 50 cm^3 = 0,05 dm^3
---
c ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) = ?

$$c\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{stvarna} = \frac{m\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O_{krutine})}{V\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O) \cdot M\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O)}$$

$$c\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{stvarna} = \frac{0{,}0123\ g}{0{,}05\ dm^3 \cdot 237{,}93088\ g\ mol^{-1}}$$

$$c\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{stvarna} = 0{,}001034\ mol\ dm^{-3} = 1{,}034\ mmol\ dm^{-3}$$

U tablici 2.1. se nalazi prikaz željenih i stvarno pripremljenih koncentracija vodenih otopina $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ za pripravu krivulje umjeravanja te potrebne i stvarne odvage $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ krutine.

Tablica 2.2. *Potrebni podatci za izradu otopina*

$CoCl_2 \cdot 6H_2O$			
$c\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{željena}$ / mmol dm^{-3}	**$m\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O$ krutine$)_{željena}$ / g**	**$m\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O$ krutine$)_{stvarna}$ / g**	**$c\,(CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{stvarna}$ / mmol dm^{-3}**
1	0,0118	0,0123	1,034
2,5	0,0298	0,0293	2,463
6	0,0357	0,0360	6,052
12	0,0714	0,0725	12,188
20	0,1190	0,1199	20,157
30	0,1784	0,1785	30,009
40	0,2379	0,2390	40,180

Nakon što su pripremljene vodene otopine bakrovog(II) klorida dihidrata i kobaltovog(II) klorida heksahidrata odgovarajućih koncentracija potrebno je izvršiti mjerenja na spektrofotometrima.

No prije toga je potrebno odrediti valnu duljinu pri kojoj će se vršiti mjerenje apsorbancije za obje vodene otopine. Odgovarajuća valna duljina je ona pri kojoj otopina apsorbira s najvećim intenzitetom. U kvarcnu kivetu (slika 2.6.) se ulije otopina koja se umetne u spektrofotometar te se mjeri njen intenzitet u području valnih duljina od 190 do 1100 nm brzinom od 120 nm min^{-1}.

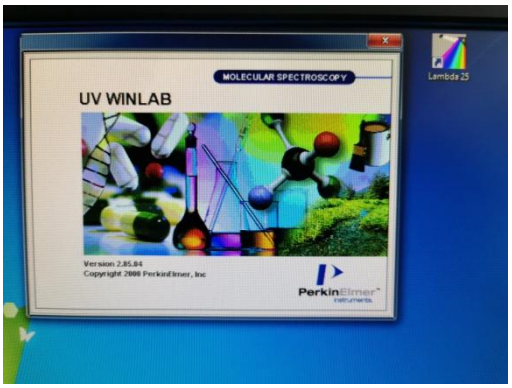
Kad se odredi valna duljina za svaku vodenu otopinu teškog metala vrši se mjerenje apsorbancije. Kiveta s otopinom željene koncentracije se umetne u spektrofotometar te se izmjeri odgovarajuća apsorbancija.



Slika 2.6. *Kvarcna kiveta s otopinom uzorka*

2.3.1. Obrada rezultata

Svi eksperimentalno dobiveni podatci su obrađeni matematičkim programom Excel 2010. Rezultati dobiveni na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25 su obrađeni popratnom programskom podrškom uređaja UV Winlab, verzija 2.85.04. (slika 2.7.).



Slika 2.7. *Programska podrška UV Winlab*

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. KRIVULJE UMJERAVANJA ZA SPEKTROFOTOMETAR PERKIN ELMER LAMBDA 25

U tablici 3.1. prikazane su izmjerene apsorbancije pripremljenih koncentracija vodenih otopina bakrovog(II) klorida dihidrata, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, na spetrofotometru Perkin Elmer Lambda 25.

Vodena otopina bakrovog(II) klorida dihidrata, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, najviše pripremljene koncentracije od 40,110 mmol dm^{-3} pokazala je najviši intenzitet pri valnoj duljini od 813 nm na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25 te će se sva daljnja mjerenja kad je u pitanju ova vrsta otopine raditi upravo pri ovoj određenoj valnoj duljini.

Tablica 3.1. *Apsorbancije za* $CuCl_2 \cdot 2H_2O$

$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	
$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{stvarna}$ / mmol dm^{-3}	A
0,962	0,0101
2,511	0,0288
6,089	0,0701
11,966	0,1408
20,084	0,2410
30,021	0,3670
40,110	0,5048

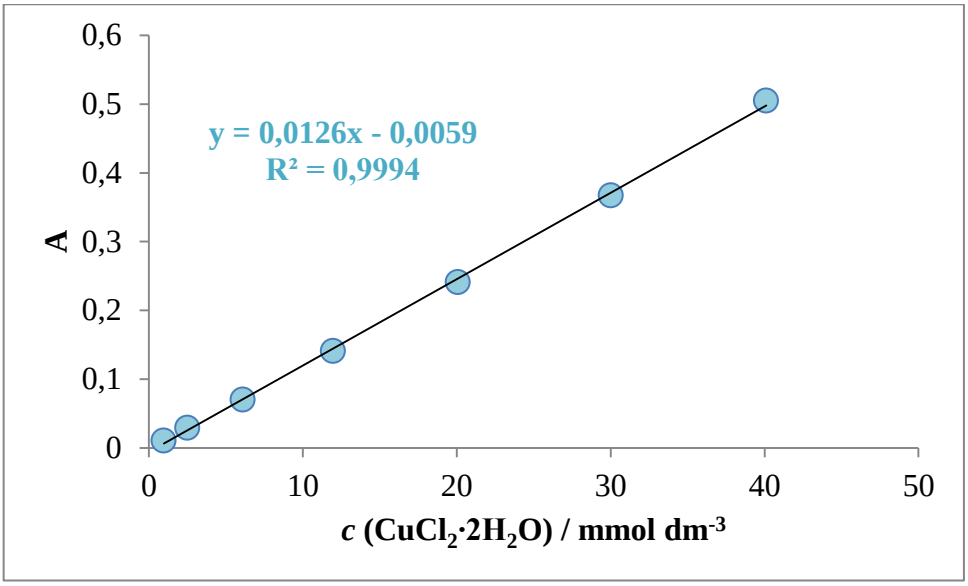
U tablici 3.2. prikazane su izmjerene apsorbancije pripremljenih koncentracija vodenih otopina kobaltovog(II) klorida heksahidrata, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, na spetrofotometru Perkin Elmer Lambda 25.

Vodena otopina kobaltovog(II) klorida heksahidrata, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, najviše pripremljene koncentracije od 40,180 mmol dm^{-3} pokazala je najviši intenzitet pri valnoj duljini od 511 nm na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25 te će se sva daljnja mjerenja kad je u pitanju ova vrsta otopine raditi upravo pri ovoj određenoj valnoj duljini.

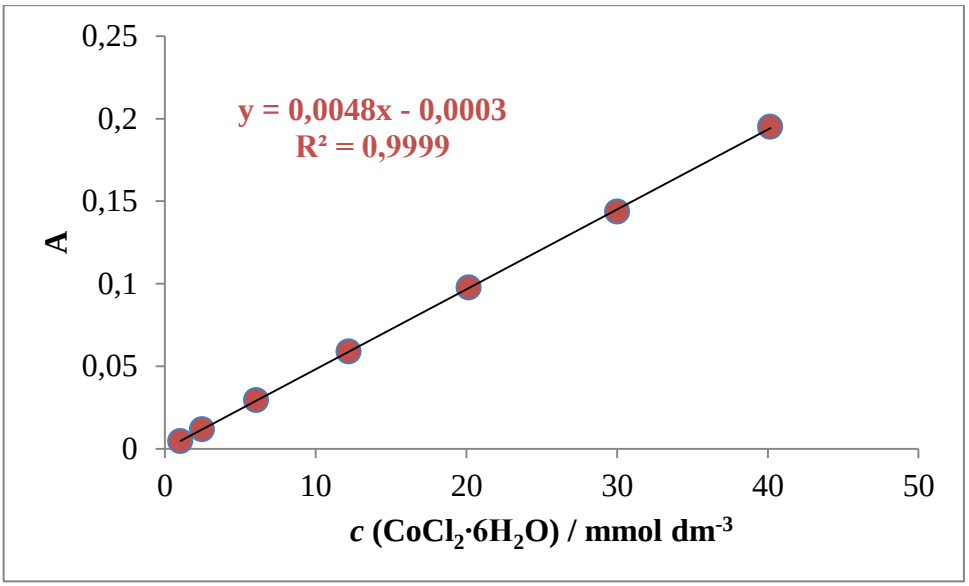
Tablica 3.2. *Apsorbancije za $CoCl_2 \cdot 6H_2O$*

$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	
$c\ (CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{stvarna}$ / mmol dm^{-3}	A
1,034	0,0045
2,463	0,0117
6,052	0,0293
12,188	0,0589
20,157	0,0977
30,009	0,1435
40,180	0,1951

Na slikama 3.1. - 3.2. prikazana su linearna dinamička područja krivulje umjeravanja za spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25 dobivena mjerenjem apsorbancija pripremljenih vodenih otopina bakrovog(II) klorida dihidrata i kobaltovog(II) klorida heksahidrata.



Slika 3.1. *Linearno dinamičko područje krivulje umjeravanja za vodenu otopinu bakrovog(II) klorida dihidrata*



Slika 3.2. *Linearno dinamičko područje krivulje umjeravanja za vodenu otopinu kobaltovog(II) klorida heksahidrata*

3.2. KRIVULJE UMJERAVANJA ZA SPEKTROFOTOMETAR PERKIN ELMER LAMBDA EZ 201

U tablici 3.3. prikazane su izmjerene apsorbancije pripremljenih koncentracija vodenih otopina bakrovog(II) klorida dihidrata, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ na spetrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201.

Vodena otopina bakrovog(II) klorida dihidrata, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, najviše pripremljene koncentracije od 40,110 mmol dm^{-3} pokazala je najviši intenzitet pri valnoj duljini od 815 nm na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201 te će se sva daljnja mjerenja kad je u pitanju ova vrsta otopine raditi upravo pri ovoj određenoj valnoj duljini.

Tablica 3.3. *Apsorbancije za* $CuCl_2 \cdot 2H_2O$

$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	
$c\ (CuCl_2 \cdot 2H_2O)_{stvarna}$ / mmol dm^{-3}	A
0,962	0,012
2,511	0,029
6,089	0,072
11,966	0,143
20,084	0,242
30,021	0,371
40,110	0,504

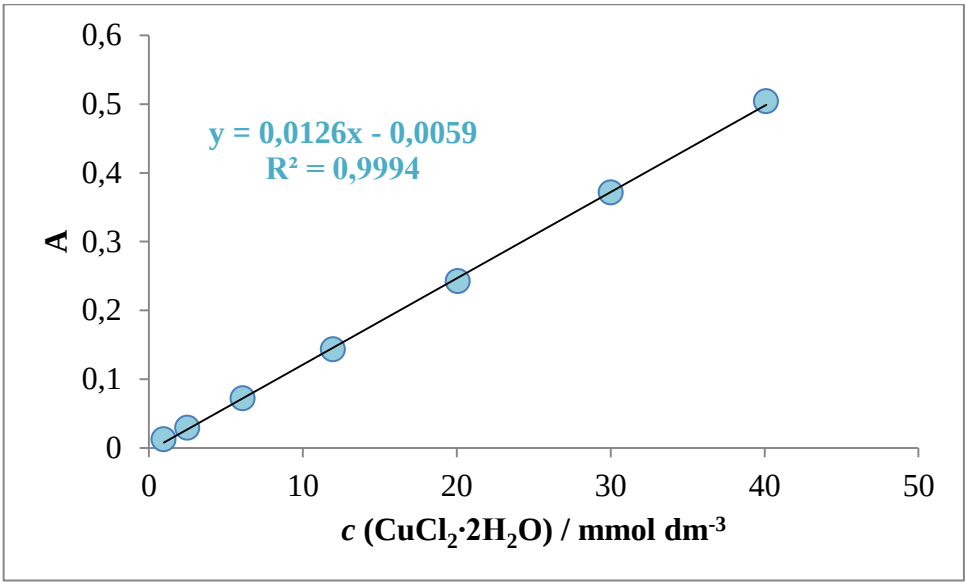
U tablici 3.4. prikazane su izmjerene apsorbancije pripremljenih koncentracija vodenih otopina kobaltovog(II) klorida heksahidrata, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, na spetrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201.

Vodena otopina kobaltovog(II) klorida heksahidrata, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, najviše pripremljene koncentracije od 40,180 mmol dm^{-3} pokazala je najviši intenzitet pri valnoj duljini od 511 nm na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201 te će se sva daljnja mjerenja kad je u pitanju ova vrsta otopine raditi upravo pri ovoj određenoj valnoj duljini.

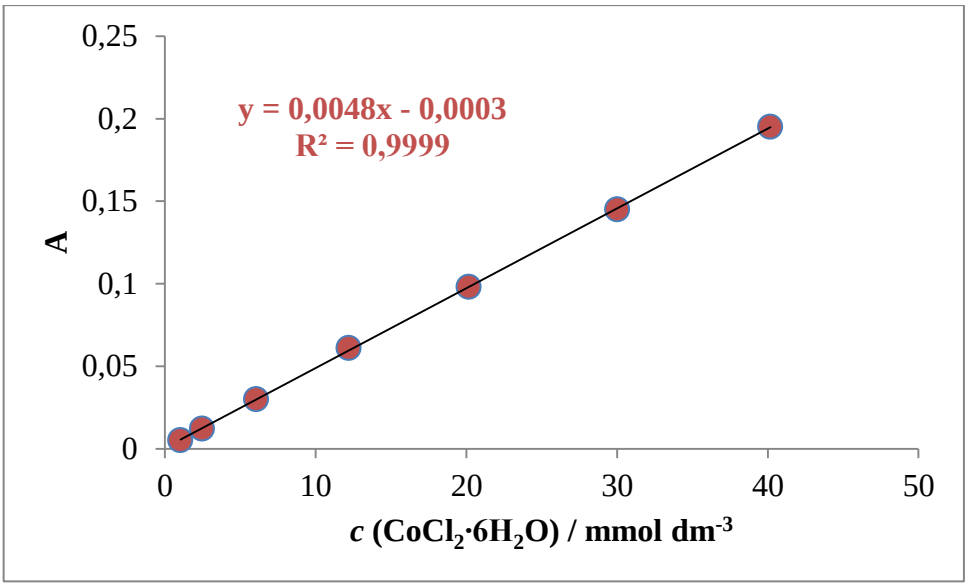
Tablica 3.4. *Apsorbancije za $CoCl_2 \cdot 6H_2O$*

$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	
$c\ (CoCl_2 \cdot 6H_2O)_{stvarna}$ / mmol dm^{-3}	A
1,034	0,005
2,463	0,012
6,052	0,030
12,188	0,061
20,157	0,098
30,009	0,145
40,180	0,195

Na slikama 3.3. - 3.4. prikazana su linearna dinamička područja krivulje umjeravanja za spektrofotometar Perkin Elmer Lambda EZ 201 dobivena mjerenjem apsorbancija pripremljenih vodenih otopina bakrovog(II) klorida dihidrata i kobaltovog(II) klorida heksahidrata.



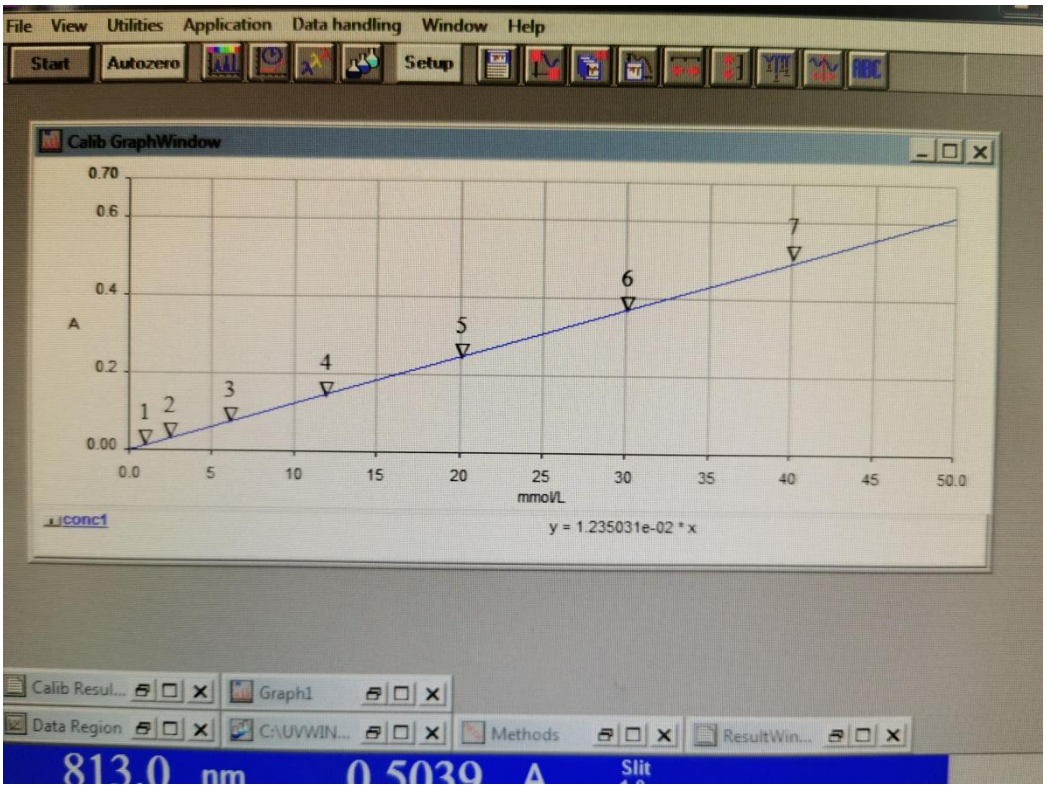
Slika 3.3. *Linearno dinamičko područje krivulje umjeravanja za vodenu otopinu bakrovog(II) klorida dihidrata*



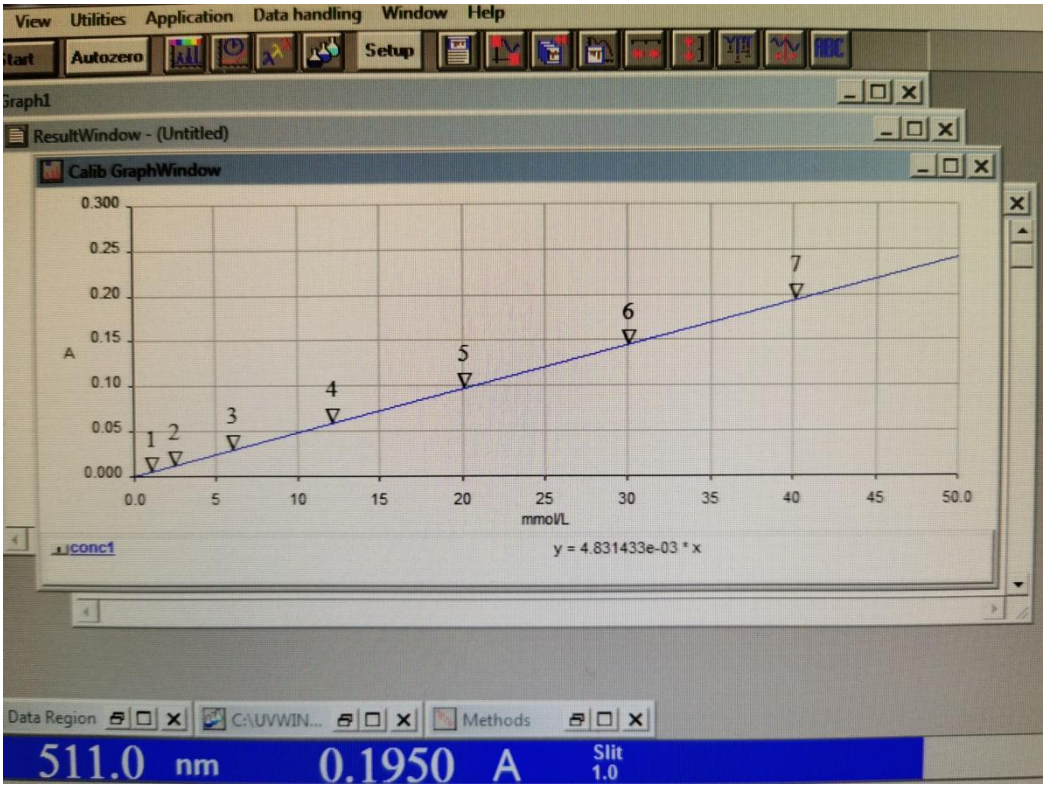
Slika 3.4. *Linearno dinamičko područje krivulje umjeravanja za vodenu otopinu kobaltovog(II) klorida heksahidrata*

S obzirom na izmjerene apsorbancije može se zaključiti da je spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25 precizniji jer ima mogućnost prikazivanja podataka na četiri decimalne jedinice, što je za jedno decimalno mjesto više od rezultata dobivenih na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201. Međutim, bez obzira na to, linearno dinamičko područje krivulje umjeravanja za obje vodene otopine (bakrov(II) klorid dihidrat te kobaltov(II) klorid heksahidrat) je isto za oba spektrofotometra.

Također je mnogo jednostavnija izrada krivulje umjeravanja na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25 jer je opremljen računalom te se njime upravlja programskom podrškom UV Winlab. Ovaj spektrofotometar ima mogućnost pohrane izrađene krivulje (slike 3.5. i 3.6.) umjeravanja koja se prilikom svakog novog mjerenja "pozove" te automatski vrši pretvorbu dobivenih apsorbancija u odgovarajuće koncentracije vodene otopine odabranih teških metala za koju je izrađena krivulja umjeravanja, slike 3.7. - 3.8. Na slici 3.9. je, usporedbe radi, dan prikaz rezultata za vodenu otopinu kobaltovog(II) klorida heksahidrata na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201.



Slika 3.5. *Krivulja umjeravanja za vodenu otopinu bakrovog(II) klorida dihidrata na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25*



Slika 3.6. *Krivulja umjeravanja za vodenu otopinu kobaltovog(II) klorida heksahidrata na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25*

CALIBRATION

Date: 24.6.2019 Time: 13:51:23
Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 501S14022103
Method: conc1
Ordinate mode: Single wavelength
Baseline: No correction (0.00 0.00)
Analyst:

Wavelength(s)		Sample ID	Concentration		Ord. value	Comment
813.0	0.0	conc1.A01	0.9620	mmol/L	0.0101	
813.0	0.0	conc1.A01	0.9620	mmol/L	0.0101	Replicate 2
813.0	0.0	conc1.A01	0.9620	mmol/L	0.0101	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.0101	
813.0	0.0	conc2.A02	2.5110	mmol/L	0.0291	
813.0	0.0	conc2.A02	2.5110	mmol/L	0.0287	Replicate 2
813.0	0.0	conc2.A02	2.5110	mmol/L	0.0285	Replicate 3
		S.DEV: 0.0003			MEAN: 0.0288	
813.0	0.0	conc1.A03	6.0890	mmol/L	0.0702	
813.0	0.0	conc1.A03	6.0890	mmol/L	0.0701	Replicate 2
813.0	0.0	conc1.A03	6.0890	mmol/L	0.0700	Replicate 3
		S.DEV: 0.0001			MEAN: 0.0701	
813.0	0.0	conc1.A04	11.966	mmol/L	0.1408	
813.0	0.0	conc1.A04	11.966	mmol/L	0.1407	Replicate 2
813.0	0.0	conc1.A04	11.966	mmol/L	0.1408	Replicate 3
		S.DEV: 0.0001			MEAN: 0.1408	
813.0	0.0	conc1.A05	20.084	mmol/L	0.2407	
813.0	0.0	conc1.A05	20.084	mmol/L	0.2409	Replicate 2
813.0	0.0	conc1.A05	20.084	mmol/L	0.2413	Replicate 3
		S.DEV: 0.0003			MEAN: 0.2410	
813.0	0.0	conc1.A06	30.021	mmol/L	0.3670	
813.0	0.0	conc1.A06	30.021	mmol/L	0.3669	Replicate 2
813.0	0.0	conc1.A06	30.021	mmol/L	0.3670	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.3670	
813.0	0.0	conc1.A07	40.110	mmol/L	0.5048	
813.0	0.0	conc1.A07	40.110	mmol/L	0.5048	Replicate 2
813.0	0.0	conc1.A07	40.110	mmol/L	0.5048	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.5048	

Equation: y = 1.235031e-02 * x

Residual error: 0.006284
Correlation coefficient: 0.999430

Slika 3.7. *Prikaz rezultata za vodenu otopinu bakrovog(II) klorida dihidrata na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25*

CALIBRATION

Date: 24.6.2019 Time: 14:21:21
Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 501S14022103
Method: conc1
Ordinate mode: Single wavelength
Baseline: No correction (0.00 0.00)
Analyst:

Wavelength(s)		Sample ID	Concentration		Ord. value	Comment
511.0	0.0	conc1.A01	1.0340	mmol/L	0.0045	
511.0	0.0	conc1.A01	1.0340	mmol/L	0.0045	Replicate 2
511.0	0.0	conc1.A01	1.0340	mmol/L	0.0045	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.0045	
511.0	0.0	conc2.A02	2.4630	mmol/L	0.0117	
511.0	0.0	conc2.A02	2.4630	mmol/L	0.0117	Replicate 2
511.0	0.0	conc2.A02	2.4630	mmol/L	0.0116	Replicate 3
		S.DEV: 0.0001			MEAN: 0.0117	
511.0	0.0	conc1.A03	6.0520	mmol/L	0.0293	
511.0	0.0	conc1.A03	6.0520	mmol/L	0.0293	Replicate 2
511.0	0.0	conc1.A03	6.0520	mmol/L	0.0292	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.0293	
511.0	0.0	conc1.A04	12.188	mmol/L	0.0589	
511.0	0.0	conc1.A04	12.188	mmol/L	0.0589	Replicate 2
511.0	0.0	conc1.A04	12.188	mmol/L	0.0589	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.0589	
511.0	0.0	conc1.A05	20.157	mmol/L	0.0978	
511.0	0.0	conc1.A05	20.157	mmol/L	0.0977	Replicate 2
511.0	0.0	conc1.A05	20.157	mmol/L	0.0976	Replicate 3
		S.DEV: 0.0001			MEAN: 0.0977	
511.0	0.0	conc1.A06	30.009	mmol/L	0.1436	
511.0	0.0	conc1.A06	30.009	mmol/L	0.1435	Replicate 2
511.0	0.0	conc1.A06	30.009	mmol/L	0.1435	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.1435	
511.0	0.0	conc1.A07	40.180	mmol/L	0.1951	
511.0	0.0	conc1.A07	40.180	mmol/L	0.1951	Replicate 2
511.0	0.0	conc1.A07	40.180	mmol/L	0.1951	Replicate 3
		S.DEV: 0.0000			MEAN: 0.1951	

Equation: y = 4.831433e-03 * x

Residual error: 0.000763
Correlation coefficient: 0.999944

Slika 3.8. *Prikaz rezultata za vodenu otopinu kobaltovog(II) klorida heksahidrata na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25*



Slika 3.9. *Prikaz rezultata za vodenu otopinu kobaltovog(II) klorida heksahidrata na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda EZ 201*

4. ZAKLJUČAK

Izrađene su krivulje umjeravanja za dvije vodene otopine teških metala: bakrov(II) klorid dihidrat i kobaltov(II) klorid heksahidrat za dva različita modela spektrofotometra proizvođača Perkin Elmer.
Na temelju dobivenih i obrađenih podataka može se zaključiti:

- Vodena otopina bakrovog(II) klorida dihidrata, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, najviše pripremljene koncentracije od 40,110 mmol dm^{-3} pokazala je najviši intenzitet pri valnoj duljini od 813 nm na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25, dok je za spektrofotometar Perkin Elmer Lambda EZ 201 pokazala najviši intenzitet pri valnoj duljini od 810 nm.

- Vodena otopina kobaltovog(II) klorida heksahidrata, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, najviše pripremljene koncentracije od 40,180 mmol dm^{-3} pokazala je najviši intenzitet pri valnoj duljini od 511 nm na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25, dok je za spektrofotometar Perkin Elmer Lambda EZ 201 pokazala najviši intenzitet pri valnoj duljini od 510 nm.

- S obzirom da su izmjerene apsorbancije na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25 prikazane s četiri decimalna mjesta, može se zaključiti da je precizniji.

- Linearno dinamičko područje krivulje umjeravanja za obje vodene otopine (bakrov(II) klorid dihidrat te kobaltov(II) klorid heksahidrat) je isto za oba spektrofotometra.

- Izrada krivulje umjeravanja na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25 je mnogo jednostavnija jer je opremljen računalom te se njime upravlja programskom podrškom te ima mogućnost pohrane izrađene krivulje umjeravanja.

5. LITERATURA

1. *D. A. Skoog, D. M. West, F. J: Holler*, Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb, 1999.
2. *Z. Popović*, Infracrvena spektroskopija, Zagreb, 1999.
3. URL:https://glossary.periodni.com/preuzimanje_slike.php?name=spektar_elektromagnetskog_zracenja.png&source=spektar+elektromagnetskog+zra%C4%8Denja (9.10.2019.)
4. URL:https://glossary.periodni.com/preuzimanje_slike.php?name=spektrofotometar.png&source=apsorbancija (9.10.2019.)
5. *M. Ernješ*, Određivanje polifenola i flavonola u propolisu UV-VIS spektrofotometrijom, Završni rad, Veleučilište u Požegi, Požega, 2017.
6. *P. Bajt*, Lambert-Beerov zakon, Završni rad, Sveučilište J. J. Strossmayera, Osijek, 2018.
7. URL:https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/Reaction_Rates/Experimental_Determination_of_Kinetcs/Spectrophotometry (9.10.2019.)