

Metodický materiál pre učiteľa

Téma: Spektrofotometrické stanovenie kyseliny salicylovej v tablete Acylpyrínu

Ročník: 2. ročník SŠ

Časová dotácia: 270 minút (6 vyučovacích hodín)

Projekt: INTERREG – Digitálna banka CZ-SK pokusov

Ciele hodiny

Vedieť: vysvetliť princíp spektrofotometrie a Lambertov–Beerov zákon, definovať pojmy absorbancia, transmitancia, $\lambda_{\max}$

Rozumieť: významu spektrofotometrie pri chemickej analýze a kontrole kvality liečiv

Aplikovať: zostrojiť kalibračnú krivku, vykonať spektrofotometrické meranie a stanoviť koncentráciu látky vo vzorke

Pomôcky

Interaktívna prezentácia (PPTX)

Spektrofotometer, kyvety

Pipety, odmerné banky, kadičky, váhy

Štandardný roztok kyseliny salicylovej

Roztok $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ako komplexotvorné činidlo

Rozdrvené tablety Acylpyrínu / Alginu

Grafický papier, pracovné listy pre žiakov, kalkulačka

Priebeh hodiny

Úvod

Problémová úloha: „Ako môžeme zistiť, či je v lieku prítomná nežiaduca nečistota, ktorú voľným okom nevidíme?“

Výklad

Princíp spektrofotometrie – interakcia látky so svetlom

Absorbancia vs. transmitancia

Lambertov–Beerov zákon: $A = \varepsilon \cdot l \cdot c$

Význam $\lambda_{\max}$ pri meraní

Slovensko – Česko

Kalibračná krivka – prečo ju potrebujeme
Aplikácia metódy vo farmácii (kontrola čistoty liečiv)

Aktivita 1

Diskusia + doplňovačky. Otázka: „*Prečo pri spektrofotometrii meráme práve farebné roztoky?*“

Aktivita 2

Žiaci vykonajú meranie podľa pracovného postupu (Príloha č.1):

1. Príprava série štandardných roztokov kyseliny salicylovej
2. Meranie absorbancie pri $\lambda_{\max}$
3. Zostrojenie kalibračnej krivky
4. Meranie neznámej vzorky – roztok tablety
5. Výpočet koncentrácie vo vzorke

Aktivita 3

Žiaci samostatne riešia: teoretické otázky (definície, zákony), výpočty podľa Lambertovho–Beerovho zákona, interpretácia výsledkov merania (Prílohy č.2)

Záver

Spektrofotometria umožňuje **kvantitatívnu analýzu** látok

Absorbancia je **priamo úmerná koncentrácii**

Kalibračná krivka je základom analytického výpočtu

Metóda sa používa v **klinickej chémii, farmácii, biológii aj potravinárstve**

Metodické poznámky

Zdôraznite bezpečnosť práce s chemikáliami

Skontrolujte správne kalibrovanie spektrofotometra

Pomáhajte so správnym odčítaním grafu kalibračnej krivky

Vysvetlite význam slepého roztoku (blank)

Diskusné otázky

1. Prečo potrebujeme pri meraní určiť vlnovú dĺžku $\lambda_{\max}$?
2. Prečo musíme používať kvety čistej hrúbky 1 cm?
3. Aké chyby môžu vzniknúť pri spektrofotometrickom meraní?
4. Prečo je dôležité kontrolovať čistotu liekov?

Prílohy

Príloha č.1: Pracovný postup

Príloha č.2 : Pracovný list pre žiaka

Príloha č.3 : Pracovný list – verzia pre učiteľa

Príloha č.1: Pracovný postup**Pracovný postup****Téma:** Spektrofotometrické stanovenie kyseliny salicylovej v tablete Acylpyrínu**Princíp**

Spektrofotometria je analytická metóda merajúca absorbanciu svetla v roztoku. V tejto úlohe kyselina salicylová reaguje v kyslom prostredí so železitými iónmi Fe^{3+} za vzniku **fialového komplexu**, ktorý absorbuje svetlo pri určitej vlnovej dĺžke (λ_{max}). Absorbancia tohto komplexu je priamo úmerná koncentrácii kyseliny salicylovej podľa Lambertovho–Beerovho zákona, z ktorého sa vypočíta koncentrácia vo vzorke.

Spektrofotometria patrí medzi optické analytické metódy. Je založená na meraní pohltienia svetelného žiarenia roztokom. Keď svetlo prechádza roztokom, časť energie svetla sa absorbuje. Miera absorpcie sa vyjadruje **absorbanciou (A)**.

Vzťah medzi absorbanciou a koncentráciou opisuje **Lambertov–Beerov zákon**:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

kde:

A – absorbancia,

 ε – molárny absorpčný koeficient,

l – dĺžka kyvety (cm),

c – koncentrácia roztoku ($\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$).

Na meranie sa používa **monochromatické žiarenie** s vlnovou dĺžkou rovnou λ_{max} , pri ktorej má látka najväčšiu absorbanciu. Meranie sa vykonáva na **spektrofotometri**

Tableta Acylpyrínu obsahuje **kyselinu acetylsalicylovú**, ktorá môže **hydrolyzovať** na **kyselinu salicylovú** – tá je v lieku považovaná za **nečistotu**. Kyselina salicylová v **kyslom prostredí** reaguje so **železitými iónmi Fe^{3+}** podľa reakcie:

kyselina salicylová + Fe^{3+} → fialový komplex

Tento **farebný komplex** umožňuje jej stanovenie pomocou spektrofotometra pri určitej vlnovej dĺžke.

Cieľ

Stanoviť množstvo (hmotnostný zlomok) zvyškového množstva kyseliny salicylovej v tablete Acylpyrínu pomocou spektrofotometrie vytvorením farebného komplexu so železitými iónmi.

Prístroje a pomôcky

spektrofotometer
kyvety (1 cm)
odmerné banky (25 ml, 50 ml, 250 ml)
pipety (2 ml, 5 ml, 10 ml)
byreta
trecia miska a tĺčik
lievik a filtračný papier
sklenená tyčinka

Chemikálie

kyselina salicylová (štandard)
etanol
roztok $Fe(NO_3)_3$ ($10\text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$)
deionizovaná voda
tableta Acylpyrín alebo Algirin

Bezpečnostné pokyny

Pracujte v ochrannom plášti a používajte okuliare.
Chemikálie neochutnávajte, nepracujte blízko úst.
Roztok $Fe(NO_3)_3$ je **korozívny** – zabráňte kontaktu s pokožkou.
Etanol je **horľavina** – držte ho ďalej od zdrojov tepla.
Po práci si dôkladne umyte ruky.

Postup**1. Príprava štandardného roztoku kyseliny salicylovej**

1. Odvážte približne 0,20 g kyseliny salicylovej.
2. Rozpusťte v malom množstve etanolu.

3. Prelejte do **25 ml** odmernej banky a doplňte po rysku etanolom.
4. Odoberte **2,5 ml** tohto roztoku a preneste do **250 ml** odmernej banky.
5. Doplňte deionizovanou vodou po rysku.

2. Príprava roztoku $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$

Z rovnakej banky pripravte **100 ml roztoku $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$** s koncentráciou **$10 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$** (vypočíta sa v protokole).

3. Určenie rezonančnej vlnovej dĺžky λ_{max}

1. Do 50 ml odmernej banky odmerajte 30 ml štandardného roztoku.
2. Pridajte 5 ml roztoku $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, doplňte vodou.
3. Zmerajte **absorpčné spektrum 450–600 nm**.
4. Z krivky určte λ_{max} .

4. Kalibračná krivka

1. Pripravte sériu 5 kalibračných roztokov s rastúcou koncentráciou.
2. Do každej banky pridajte **5 ml $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$** .
3. Zmerajte absorbancie pri λ_{max} .
4. Zostrojte graf **$A = f(c)$** .

5. Meranie vzorky Acylpyrínu

1. Rozdrvte tabletu v trecej miske a rozpustite v 20 ml vody.
2. Premiešajte 20 minút, prefiltrujte do 50 ml banky.
3. Doplňte na 50 ml vodou, pridajte 5 ml $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$.
4. Zmerajte absorbanciu pri λ_{max} .
5. Určte koncentráciu kyseliny salicylovej z kalibračnej krivky.
6. Prepočítajte obsah v **mg na tabletu**.

Pozorovanie**Určenie λ_{max} (absorpčné spektrum)**

Do tabuľky zapíšte hodnoty absorbancie A pri rôznych vlnových dĺžkach λ .

λ (nm)	450	470	490	510	530	550	570	580	590	600
A										

Z nameraných údajov určte $\lambda_{\text{max}} = \underline{\hspace{2cm}} \text{ nm}$

Kalibračná krivka kyseliny salicylovej

Roztok	Odobratý objem štandardu (ml)	Koncentrácia ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$)	Absorbancia A
1	5		
2	10		
3	15		

4	20		
5	25		
6	30		

✓ **Úloha:** zostrojte graf $A = f(c)$ (kalibračná krivka).

Graf nakreslite a priložte osobitne.

Meranie neznámej vzorky (Acylpyrín)

Názov vzorky	Absorbancia A	Koncentrácia podľa grafu ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$)
Tableta Acylpyrínu		

Výpočet obsahu kyseliny salicylovej v tablete

Vzorec:

$$m = c \cdot V$$

kde:

m – hmotnosť kyseliny salicylovej (mg)

c – koncentrácia ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$) z kalibračnej krivky

V – objem roztoku po úprave (l)

Výpočet:

$$m = ____ \cdot 0,050 = ____ \text{ mg v 1 tablete}$$

Záver

Obsah kyseliny salicylovej v tablete Acylpyrínu je _____ mg

Porovnanie s limitom (max. povolené množstvo v lieku je **0,3 %**):

Hodnotenie výsledku:

Príloha č.2: Pracovný list pre žiaka

Pracovný list pre žiaka

Téma: Spektrofotometrické stanovenie kyseliny salicylovej v Acylpyríne

Meno: _____ Dátum: _____



1. Teoretické otázky

- a) Čo je spektrofotometria a na akom princípe je založené meranie absorbancie?

- b) Čo vyjadruje Lambertov–Beerov zákon?

- c) Prečo sa v tabletách Acylpyrínu považuje kyselina salicylová za nežiaducu nečistotu?

- d) Prečo sa meranie vykonáva pri vlnovej dĺžke absorbancie $\lambda_{\max}$?

 2. Testové otázky – vyber správnu odpoveď (A, B alebo C)

1. Lambertov–Beerov zákon vyjadruje vzťah medzi:
 - A) absorbanciou a pH
 - B) absorbanciou a koncentráciou
 - C) absorbanciou a teplotou
2. Aká je jednotka koncentrácie?
 - A) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$
 - B) kg
 - C) $\text{mol} \cdot \text{K}$
3. Aký zdroj svetla používa spektrofotometer vo viditeľnej oblasti?
 - A) laser
 - B) volfrámovú žiarovku
 - C) slnečné svetlo
4. Kyselina acetylsalicylová je hlavná zložka lieku:
 - A) Paralen
 - B) Acylpyrín
 - C) Jódová tinktúra
5. Komplex kyseliny salicylovej s Fe^{3+} má farbu:
 - A) modrú
 - B) hnedú
 - C) fialovú

 3. Spájanie pojmov – priradiť správne dvojice

Pojem	Význam
Absorbancia	a) dĺžka kyvety pri meraní
ϵ (epsilon)	b) koncentrácia roztoku
l	c) molárny absorpčný koeficient
c	d) miera pohlteneho svetla

💡 4. Význam a využitie metódy

Doplň odpovede:

a) Na čo slúži spektrofotometria v chémii a farmácii?

.....

b) Prečo je potrebné kontrolovať obsah kyseliny salicylovej v liekoch ako Acylpyrín?

.....

😊 5. Niečo na pobavenie

A) Mini kvíz – rýchlovka

1. Ako sa inak nazýva kyselina acetylsalicylová?

- A) Aspirín B) Ocot C) Kyselina sírová

2. Keď rozpustíš tabletku Acylpyrínu vo vode, roztok bude:

- A) bezfarebný B) zelený C) fialový

B) Chemický humor 😎

Prečo nemajú chemici bolesti hlavy?

Lebo majú dost' _____.

C) Mini úloha na pozornosť

Po zmiešaní kyseliny salicylovej s roztokom Fe^{3+} vznikne:

- ☐ Nič sa nestane
- ☐ Fialové sfarbenie
- ☐ Výbuch 

Príloha č.3: Pracovný list pre učiteľa**Pracovný list – verzia pre učiteľa**

Téma: Spektrofotometrické stanovenie kyseliny salicylovej v tablete Acylpyrínu

 1. Teoretické otázky – vzorové odpovede

a) **Čo je spektrofotometria a na akom princípe je založené meranie absorbancie?**

Spektrofotometria je analytická metóda založená na meraní absorbancie svetla v roztoku.

Množstvo absorbovaného svetla závisí od koncentrácie látky v roztoku.

b) **Čo vyjadruje Lambertov–Beerov zákon?**

Lambertov–Beerov zákon udáva vzťah medzi absorbanciou a koncentráciou roztoku:

$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$, kde A je absorbancia, ε molárny absorpčný koeficient, l dĺžka kyvety, c koncentrácia.

c) **Prečo sa v tabletách Acylpyrínu považuje kyselina salicylová za nežiaducu nečistotu?**

Kyselina salicylová dráždi žalúdok a sliznice, preto je v liekoch nežiaduca a jej množstvo sa musí kontrolovať.

d) **Prečo sa meranie vykonáva pri vlnovej dĺžke absorbancie λ_{max} ?**

Pri λ_{max} dosahuje látka najvyššiu absorbanciu – meranie je najcitlivejšie a najpresnejšie.

 2. Testové otázky – správne odpovede

1/B 2/A 3/B 4/B 5/C

 3. Spájanie pojmov – riešenie**Pojem Správne spojenie**

1. Absorbancia d

2. ϵ (epsilon) c

3. l a

4. c b

 4. Význam a využitie metódy – vzorové odpovede

a) Spektrofotometria sa používa na určovanie koncentrácie látok podľa absorbancie. Využíva sa vo farmácii, chémii, biológii aj potravinárstve.

b) Kontroluje sa kvôli bezpečnosti – kyselina salicylová je nežiaduca nečistota a jej obsah musí byť nízky podľa normy.

 5. Niečo na pobavenie – riešenia**A) Mini kvíz**

1. A) Aspirín

2. A) bezfarebný

B) Chemický humor Lebo majú dosť Acylpyrínu.**C) Mini úloha na pozornosť**  Fialové sfarbenie