

בנייה של עקומת כיול בעזרת ספקטרופוטומטר

הוראות בטיחות:

- יש לעבוד עם חלוק, נעליים סגורות וכפפות.
- יש לכתוב על כל בקבוק מה הוא מכיל בתחילת ההכנה.

ציוד/כלים דרושים:

- קיווטות
- פיפטה
- מבחנות
- מבחנות אפנדורף
- פיפטור 1000 מיקרוליטר + טיפים
- פיפטור 200 מיקרוליטר + טיפים

חומרים דרושים:

- מים
- תמיסת צבע מאכל כחול 0.1%
- תמיסת נעלם – תמיסת צבע מאכל כחול בריכוז לא ידוע

מהלך ההכנה:



1. הכנת 3 מ"ל תמיסת אם בריכוז 0.005%:
 - א. מדדו 150 מיקרוליטר תמיסת צבע מאכל כחול בריכוז 0.1% והעבירו למבחנה.
 - ב. השלימו עם מים לנפח סופי של 3 מ"ל.
2. הכנת תמיסות צבע מאכל (במבחנות אפנדורף) לעקומת כיוול:
 - א. תמיסת 0.003%: 600 מיקרוליטר מתמיסת האם + 400 מיקרוליטר מים.
 - ב. תמיסת 0.001%: 200 מיקרוליטר מתמיסת האם + 800 מיקרוליטר מים.
 - ג. תמיסת 0.0005%: 100 מיקרוליטר מתמיסת האם + 900 מיקרוליטר מים.

מהלך הדגמה/ניסוי:



1. הכניסו 1 מ"ל מים לתוך הקיווטה הראשונה עבור מדידת הבלנק / נקודת ייחוס.
2. הכניסו 1 מ"ל מתמיסת 0.005% לתוך הקיווטה השנייה.
3. הכניסו 1 מ"ל מתמיסת 0.003% לתוך הקיווטה השלישית.
4. הכניסו 1 מ"ל מתמיסת 0.001% לתוך הקיווטה הרביעית.
5. הכניסו 1 מ"ל מתמיסת 0.0005% לתוך הקיווטה החמישית.
6. הכניסו 1 מ"ל מתמיסת "הנעלם" לתוך הקיווטה השישית.
7. הכניסו את הקיווטות אל מכשיר הספקטרופוטומטר. אם יש במכשיר כמה תאי מדידה, הכניסו את כל הקיווטות בבת אחת לפי הסדר. אם יש תא מדידה אחד, הכניסו את הקיווטות אחת אחרי השנייה לפי הסדר. שימו לב, ישנן קיווטות בעלות שתי דפנות צלולות ושתי דפנות עכורות. יש להכניסן למכשיר כך שהדפנות הצלולות פונות לעבר פתחי המדידה של הספקטרופוטומטר.
8. בחרו באורך גל של 630 ננומטר.
9. בצעו מדידות של התמיסות השונות לפי הסדר.

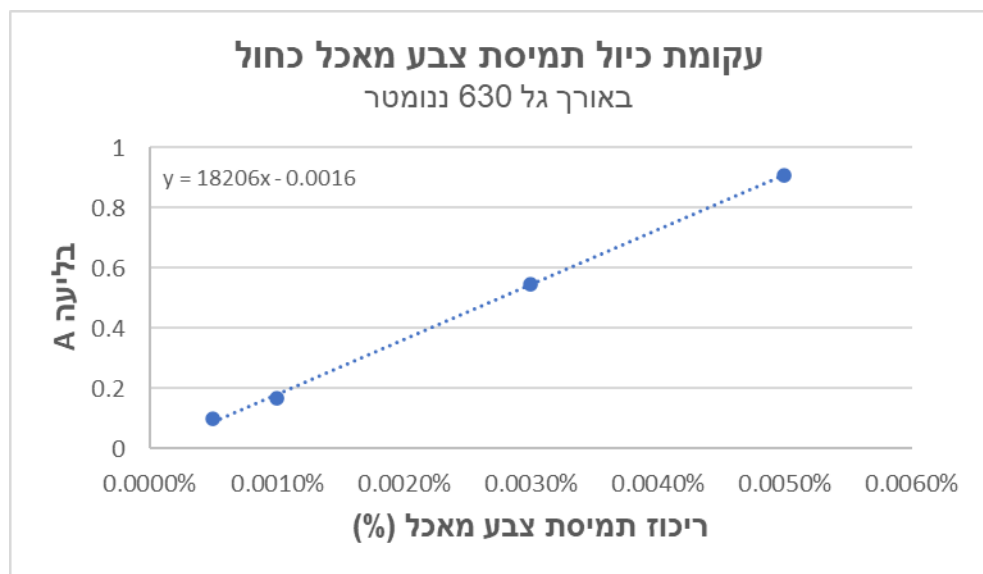
תוצאות צפויות:



- יתקבלו נתוני בליעה שונים לכל אחד מהריכוזים. לדוגמה:

ריכוז תמיסת צבע מאכל (%)	בליעה (A)
0.005%	0.908
0.003%	0.548
0.001%	0.169
0.0005%	0.098
נעלם (ריכוז לא ידוע)	0.751

- צרו עקומת כיוול בתוכנת excel או בתוכנה דומה לה מנתוני הריכוז והבליעה: כתבו את נתוני הריכוזים בציר ה-X ונתוני הבליעה בציר ה-Y. היעזרו בתוכנה כדי לקבל קו ישר שעובר בין הנקודות ואת הנוסחה המתארת אותו.



גרף א'. עקומת כיוול לתמיסת צבע מאכל כחול באורך גל 630 ננומטר

• משוואת הקו המופיעה בגרף $y = 18206x - 0.0016$

Y – בליעה

18206 – שיפוע הקו הישר

x – ריכוז תמיסת הנעלים

0.0016 – הבליעה כאשר ריכוז התמיסה הוא אפס

- באמצעות הצבת הבליעה של תמיסת הנעלים (0.751) במשוואת הקו, נוכל לחשב את ריכוז תמיסת הנעלים.

$$0.751 = 18206 * \text{ריכוז תמיסת נעלים} - 0.0016$$

$$\text{ריכוז תמיסת נעלים} = \frac{0.751 + 0.0016}{18206} = 0.00413\%$$

הסבר מדעי:



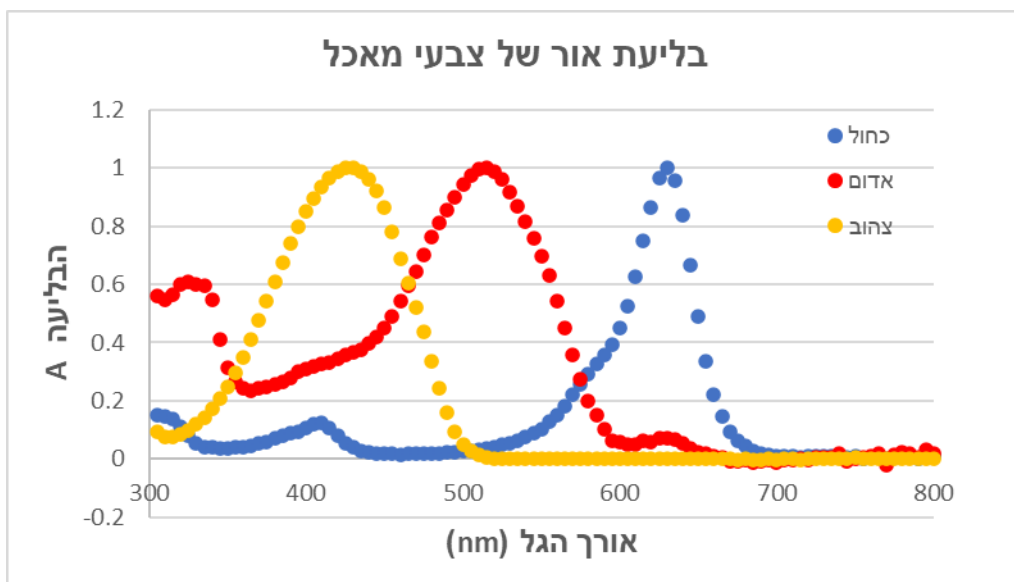
בתמיסות צבעוניות וצלולות מתקיים חוק בר-למברט, הקובע שבליעת האור הנמדדת היא ביחס ישר לריכוז החומר הבולע את האור (הצבען) בתמיסה.

$$A = \epsilon' * C$$

בליעה (A) = מקדם הבליעה מותאם של החומר (ϵ') * ריכוז הצבען בתמיסה (C).

- עקומת הכיול מאפשרת לנו לחשב את מקדם הבליעה (על ידי נוסחת הקו הישר).
- חוק בר-למברט אינו פועל בכל הריכוזים, אלא רק בריכוזים נמוכים יחסית שבהם הבליעה היא פחות מ-1. על כן, לבניית עקומת הכיול נבחר מספר ריכוזים ידועים בעלי בליעה נמוכה מ-1.
- חוק בר-למברט מתקיים רק באורך הגל שבו הבליעה מקסימלית.
- לכל צבע יש טווח אורכי גל שבו הוא בולע, כפי שניתן לראות בגרף ב'. את המדידות לעקומת הכיול ולתמיסת הנעלים יש לבצע באורך הגל שבו הבליעה מקסימלית.

- לכל חומר (לדוגמה צבע מאכל כחול או נחושת כלורית) יש אורך גל שונה שבו הבליעה מקסימלית, ולכן חשוב למצוא לכל חומר את אורך הגל המאפיין אותו. כפי שניתן לראות בגרף ב'.



גרף ב' - בליעת אור של צבע מאכל כחול, אדום וצהוב בטווח אורכי הגל 300 עד 800 ננומטר.

- אם המכשיר מחובר למחשב, אפשר למצוא את אורך הגל שבו הבליעה היא המקסימלית על ידי סריקה אוטומטית של טווח רחב של אורכי גל (300-800 ננומטר).
- אם המכשיר אינו מחובר למחשב, אפשר לחפש את אורך הגל שבו הבליעה מקסימלית באופן ידני על ידי מדידה של בליעה במספר אורכי גל (בקפיצות של 5-10 ננומטר) בתוך הטווחים המופיעים בטבלה הבאה:

טווח אורכי גל אפשרי של בליעה מקסימלית (ננומטר)	צבע התמיסה
435-380	ירוק צהבהב
480-435	צהוב

490–480		כתום
500–490		אדום
580–500		סגול
595–580		כחול
650–595		טורקיז (כחול ירקרק)
780–650		ירוק כחלחל

נתונים מתוך: Selim, Y., & Mohamed, A. (2017). Role of dyestuff in improving dye-sensitized solar cell performance. *Renewable Energy and Sustainable Development*, 3(1), 79–82.
<http://doi:10.21622/resd.2017.03.1.079>.

טיפים:

- כאשר הבליעה הנמדדת של תמיסת הנעלם (ריכוז לא ידוע) גבוהה מ-1 (מחוץ לטווח עקומת הכיול) יש למהול אותה ביחס ידוע, למדוד את הבליעה של התמיסה המהולה ולחשב את ריכוז התמיסה המהולה באמצעות משוואת הקו הישר. לאחר מכן יש להכפיל את ריכוז התמיסה המהולה ביחס שבו מהלנו כדי לקבל את ריכוז התמיסה המקורית.
- לפרוטוקול [מיהול מתמיסה באחוז משקלי לתמיסה באחוז משקלי](#)
- מכשיר הספקטרופוטומטר משמש גם לקביעת מידת העכירות של תמיסות לא צלולות, כמו תמיסה המכילה חיידיקים.

פינוי חומרים:

- מצורף קישור מתוך אתר משרד החינוך: [הבטחת הבטיחות במעבדות סעיף 2.9.6](#).