PASPort®

CHEMIE

laboratorní cvičení č. 12

rev. 1.0

12 • CHEMIE

Stanovení obsahu fosforečnanů

Je ten prací prostředek opravdu „phosphate free"?

Obsah

Úvod 2
Cíle 2
Teoretický úvod 3
Motivace studentů 6
Doporučený postup 7
- Příprava úlohy 7
- Materiály pro studenty 8
- Záznam dat 8
- Analýza dat 8
- Syntéza a závěr 8
- Hodnocení 9
- Internetové odkazy 9

Pracovní návod 11
- Zadání úlohy 11
- Pomůcky 11
- Bezpečnost práce 12
- Teoretický úvod 12
- Příprava úlohy (praktická příprava) 15
- Postup práce 15
  - Nastavení HW a SW 15
  - Příprava měření 15
  - Vlastní měření (záznam dat) 17
  - Analýza naměřených dat 18

Pracovní list učitele 19
- Slovníček pojmů 19
- Teoretická příprava úlohy 20
- Vizualizace naměřených dat 21
- Vyhodnocení naměřených dat 21
- Závěr 22

Pracovní list studenta 23
- Slovníček pojmů 23
- Teoretická příprava úlohy 24
- Vizualizace naměřených dat 25
- Vyhodnocení naměřených dat 25
- Závěr 27

PASCO®

Zařazení do výuky

Experiment je vhodné zařadit v rámci učiva o sloučeninách fosforu, vlivu fosforečnanů na životní postředí – eutrofizace vod, ale např. také v rámci analytické chemie či biochemie.

Tip 1

Použitá metoda je velice citlivá a dovoluje stanovit i malá množství fosforečnanů. Fosforečnany můžete tím pádem stanovovat také v pitné vodě, vodě z vodních toků, atd. Nabízí se celá řada modifikací úlohy, a to především ve vztahu ke sledování určitého biologického faktoru, např. problematiky eutrofizace vod – sledování obsahu fosforečnanů na horním a dolním toku řek, před a za čističkou, před městem a za městem, ap.

Časová náročnost

Dvě hodiny (**2 × 45 min**).

Čas se vztahuje k základní uvedené variantě včetně úvodní diskuse a vyhodnocení výsledků. Základním předpokladem je rutiní zvládnutí laboratorních činností jako je příprava roztoků, odměřování roztoků, ředění roztoků. Pokud pracujete se skupinou která tyto laboratorní operace neovládá, je lépe koncipovat cvičení jako tříhodinové. V případě, že budou studenti používat již hotovou kalibrační křivku, je možné naopak koncipovat cvičení i jako jednohodinové.

Úvod

V následujícím laboratorním cvičení využijí studenti spektrofotometrické čidlo ke stanovení koncentrace fosforečnanů v parcích a mycích prostředcích. Fosforečnany je dnes naše životní prostředí poměrně silně kontaminováno. Tato kontaminace se projevuje také podstatným podílem na jevu, který je znám jako „eutrofizace vod". Úloha je ideální k zařazení v rámci chemicko-biologických průřezových témat.

Úloha úzce navazuje na základní seznámení se spekrofotometrickým stanovením koncentrace v úloze „Stanovení koncentrace látky v roztoku". Princip spektrofotometrického stanovení koncentrace určité látky v roztoku zde již není detailně znovu vysvětlován.

Cíle

Studenti by měli zvládnout:

- použít odpovídající instrumentální vybavení (jednoduchý spektrofotometr Pasco) ke stanovení koncentrace fosforečnanů v roztoku,
- pracovat čistě bez kontaminace roztoků fosforečnany ze špatně umytého chemického nádobí, odměrného skla, atd.,
- připravit kalibrační roztoky a sestavit kalibrační křivku,
- analyzovat naměřené hodnoty a vyvodit závěry v souvislosti s detekovaným množstvím fosforečnanů.

Teoretický úvod

Použitá kolorimetrická metoda je založena na **Lambertově-Beerově zákoně,** který definuje vztah mezi absorbcí světla a vlastnostmi určité látky, kterou světlo prochází. Tato závislost je vyjádřena matematicky následujícím vztahem:

$$A_\lambda = E_\lambda \cdot l \cdot c_M \qquad (1.0)$$

kde A_λ je absorbance světla, E_λ absorbční koeficient dané látky, l je dráha světla uražená v roztoku (délka dráhy), c_M je molární koncentrace látky v roztoku. Pro další potřeby si tento vztah označíme jako 1.0. Absorbční koeficient E_λ nabývá různých hodnot a je specifický pro danou látku. Jeho stanovení je většinou provedeno experimentálně. Uvedený matematický vztah (1.0) je znám jako ***Lambertův-Beerův zákon***.

Více teoretických informací naleznete v úloze „Stanovení koncentrace látky v roztoku".

V této úloze se zaměříme na aplikaci nabytých znalostí a dovedností z výše uvedené úlohy („Stanovení koncentrace látky v roztoku") při řešení konkrétního „výzkumného" úkolu. Naším cílem bude potvrzení či vyvrácení tvrzení výrobců pracích a čistících prostředků, že právě jejich prostředek je tzv. „bez fosfátový" (phosphate free). Použitá metoda je velice citlivá, a tak je nezbytné pracovat s nábobím, které je velice pečlivě umyto a vymyto destilovanou vodou. Ideální je použít jednorázové plastové nádobí, což opravdu doporučujeme. Zajistíte si tak nezkreslené výsledky, které budou mít skutečnou vypovídací hodnotu.

Použitá metoda stanovení fosforečnanů vychází z metody publikované v práci *„Ames, B. N. (1966) Assay of Inorganic Phosphate, Total Phosphate and Phosphatases. In: Methods in Enzymology, Vol. VIII: Complex Carbohydrates. E. Neufeld and V. Ginsburg, eds. (Academic Press, New York, NY), pp. 115–118*."

Chemikálie

- ***Kyselina askorbová*** **$C_6H_8O_6$**

Souhrn:
Nepříznivé účinky na zdraví člověka nejsou známé.

- ***Heptamolybdenan amonný*** **$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$**

R 36/37/38–52/53

S 26–36–61

Souhrn:
Dráždí oči, dýchací orgány a kůži. Škodlivý pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí (zabraňte úniku do kanalizace a spodních vod).
Při zdravotních potížích a v případě pochybností ohledně požití vyhledejte lékařskou pomoc.

Nebezpečnost: X_i

- ***dihydrogenfosforečnan sodný*** **NaH_2PO_4**

Souhrn:
Látka není považována za nebezpečnou. Protože se fosforečnany podílí na eutrofizaci vod, zabraňte úniku do kanalizace.

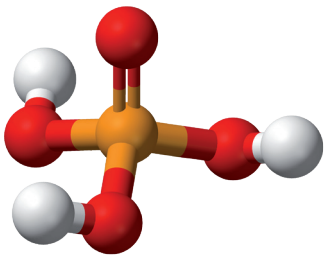
- ***kyselina sírová*** **H_2SO_4**

R 35

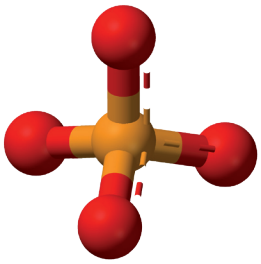
S 26–30–45

Souhrn:
Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc. K tomuto výrobku nikdy nepřidávejte vodu. V případě úrazu nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomocí.

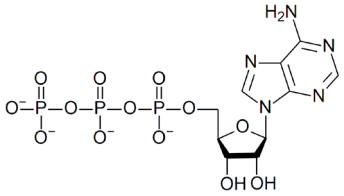
Nebezpečnost: C



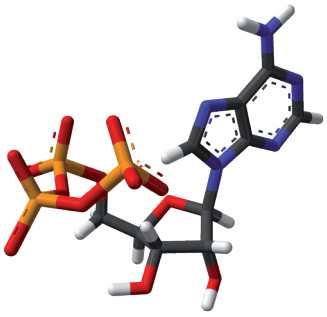
kyselina trihydrogenfosforečná



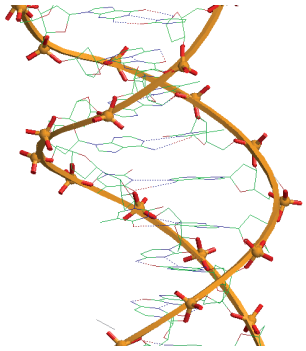
fosforečnanový aniont



ATP



3D model ATP



3D model dvoušroubovice DNA

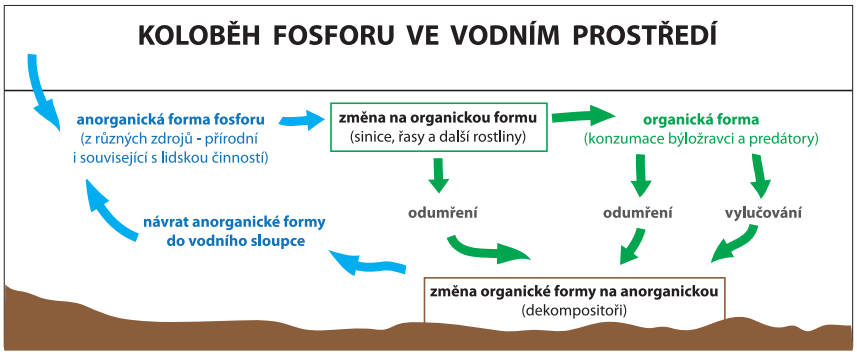
Obrázek 1

Sloučeniny fosforu jsou pro živé organizmy velice důležité. Jde především o ionty odvozené od kyseliny trihydrogenfosforečné – fosforečnanové a hydrogenfosforečnanové anionty. Ty jsou základní stavební součástí DNA a RNA, dále se podílí na stavbě kostí a zubů, hrají také nezastupitelnou roli při vnitrobuněčném přenosu signálu – aktivaci a deaktivaci určitých enzymů. V neposlední řadě jsou fosforečnanové ionty vázány v ATP (adenosintrisfosfátu), což je základní forma využitelné „chemické" energie v buňce. Buňka si v této formě skladuje energii získanou při odbourávání složitých látek typu sacharidů, lipidů či proteinů – tzv. katabolismus. Naopak při syntéze těchto látek – tzv. anabolismu – energii z ATP buňka využije. Také stahy svalů jsou možné díky využití energie, která je obsažena v ATP. A mohli bychom ve výčtu ještě dlouho pokračovat.

Fosforečnany hrají také důležitou roli v souvislosti s minerální výživou rostlin. Jsou totiž pro rostliny společně s dusičnany a draselnými (popř. vápenatými) solemi jedněmi ze základních rostlinných minerálních živin. Tím pádem jsou fosforečnany základní součástí různých „umělých" hnojivových směsí používaných v zemědělství – např. granuláty jako NPK, Cererit (NPKMg) a další.

Dalším místem, kde můžeme fosforečnany (polyfosforečnany) potkat jsou různé mycí, prací a čistící prostředky. Tam působí jednak jako tzv. změkčovadla vody (odstraní vápenaté a hořečnaté ionty z vody, čímž umožní podstatně lepší působení detergentů), ale také mírně posunují pH do zásadité oblasti, čímž je zase umožněno třeba lepší mytí nádobí (různých zbytků jídel). V dnešní době je celá řada prostředků, které jsou tzv. „bez fosfátů". Jejich působení je nahrazeno celou řadou látek, mimo jiné např. enzymy a zeolity. U některých těchto látek se ovšem časem ukázalo, že jsou z hlediska životního prostředí a člověka také problematické – vyvolávají u některých lidí alergické reakce, mohou působit jako analogy některých hormonů, vyvolávají sterilitu u obojživelníků, atd.

A proč je nadbytek fosforečnanů v našem životním prostředí tak problematický? Jedná se především o jev nazývaný **eutrofizace**.



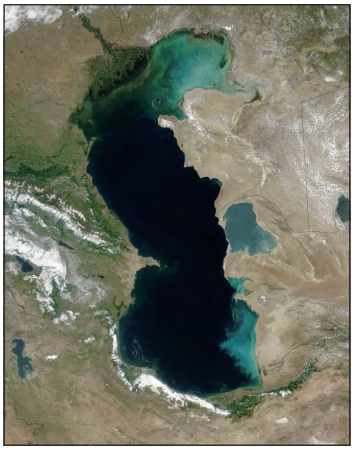
Obrázek 2

Eutrofizace je soubor přírodních a uměle vyvolaných procesů vedoucích ke zvyšování obsahu anorganických živin vod. Eutrofizace je přírodní děj, který v důsledku lidské činnosti přesáhl přirozené meze. Přírodní eutrofizace je způsobena uvolňováním sloučenin dusíku a fosforu, případně silikátů, z půdy, sedimentů a odumřelých vodních organizmů. Umělá eutrofizace je způsobena intenzivní zemědělskou výrobou, některými druhy průmyslových odpadních vod, používáním fosforečnanů v pracích, čistících a mycích prostředcích a zvýšenou produkcí komunálních odpadních vod a odpadů fekálního charakteru. Základním projevem eutrofizace je vznik masivního vodního květu, který produkuje často i toxické látky. Následuje celá řada komplexních jevů, které souvisí s kyslíkovým režimem vodního ekosystému. Výsledkem je odumírání určitých typů organizmů a tím pádem celková změna ekosystému. Jeden z dobře známých scénářů vede až k hromadnému vymírání většiny vodních organizmů a vzniku zapáchající „mrtvé" vody.

Eutrofizace – komplexní změna ekosystému

Nastává obvykle v letních měsících, kdy je dostatek tepla a slunečního světla. Nadměrný nárůst fytoplanktonu způsobuje problémy vyšším rostlinám a zapříčiňuje jejich úbytek. Jedním z důsledků je pak i snížená samočistící schopnost řek a jezer. Řasy a sinice, jež se shromažďují u hladiny, vytvářejí bariéru slunečním paprskům, které se nedostanou k organizmům ve větší hloubce. Velká koncentrace fytoplanktonu způsobuje úbytek citlivějších organizmů, jejichž místo pak zaujímají výhradně organizmy odolnější, které se v důsledku malého množství přirozených více citlivých konzumentů a predátorů přemnožují a způsobují další, mnohdy nevratné, změny v ekosystémech. Odolná makrofyta pak například rychlým a nelimitovaným růstem způsobují zarůstání toků či snižují retenční kapacitu nádrží. Bentické řasy nadměrnou produkcí biomasy snižují poréznost dnových sedimentů či např. štěrkových loží filtračních nádrží. Eutrofní vody jsou vysoce produktivní avšak podmínky v nich svědčí jen úzké škále organizmů. Takže čím více narůstá produktivita či biomasa, tím klesá biodiverzita. Zejména řasy a sinice jsou bezprostředně závislé na přísunu anorganických nutrientů a za určitých podmínek mohou v populaci převážit potenciálně nebezpečné druhy. Dalším negativním faktorem zvýšeného výskytu řas a sinic je narušení kyslíkového režimu. Při hladině se fotosyntetickou činností vytvářejí podmínky přesycené kyslíkem a narůstá

Obrázek 3
Eutrofizace Kaspického jezero



Slovníček pojmů

SPEKTROFOTOMETRIE
ABSORBANCE
FOSFOREČNANY
ATP
EUTROFIZACE
Viz pracovní list (učitel).

Přehled pomůcek

- počítač s USB portem
- PASPORT USB Link (Interface) nebo Xplorer
- PASPORT spektrofotometrické čidlo (v originálu Colorimetric sensor)
- software DataStudio
- destilovaná voda
- kyselina askorbová $C_6H_8O_6$
- $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$
- NaH_2PO_4 (c = 0,1 mol/l)
- H_2SO_4 (98%)
- zkumavky (14 ks), střední
- odměrná baňka 100 ml (1 ks)
- pipety s balónkem (3 ks), 1 ml , 5 ml, 10 ml
- popisovač zkumavek (lihový fix)
- stojánek na zkumavky
- *pracovní návod*
- *pracovní list*
- *ochranné pracovní pomůcky*

pH. Během dne sice autotrofní fytoplankton kyslík produkuje, v nočních hodinách však v důsledku jeho respirační aktivity dochází k úbytku rozpuštěného kyslíku. Ve vodě pak zejména v ranních hodinách vzniká anoxické prostředí nepřijatelné pro ostatní organizmy. V mořích a oceánech jsou anoxickými podmínkami postiženy přisedle žijící organizmy. Ryby, nepodaří-li se jim tyto tzv. „dead zones" v mořích opustit, rovněž hynou. K dalšímu úbytku kyslíku dochází mikrobiálním rozkladem velkého množství odumřelých sinic a řas. Po úhynu řas a sinic jejich biomasa klesne ke dnu. Zde pak vlivem činnosti bakterií rozkládajících řasovou hmotu dochází k úbytku rozpuštěného kyslíku a opět vznikají anoxické zóny, na což jsou citlivé zejména některé bentické organizmy.

Zvýšený obsah fosforečnanů působí komplikace vodárnám, protože zhoršuje upravitelnost vody. To je závažný problém zejména v našich podmínkách, kdy je zhruba 60 % zdrojů pitné vody získáváno z povrchových zdrojů. Fosforečnany se významně sorbují na dnových sedimentech. Za určitých podmínek může dojít k jejich uvolňování, což následně vede opět ke zvýšené koncentraci fosforečnanů ve vodách. Následkem je velká koncentrace řas a sinic ve zdrojích pitné vody způsobující problémy vodárenským provozům. Dochází zde k ucpávání filtrů, zhoršení organoleptických vlastností upravené vody, vzniku sekundárního mikrobiálního znečištění při rozkladu organizmů v rozvodné síti či k uvolňování hygienicky nepřijatelných látek do vody.

Mnohé druhy sinic produkují celou řadu toxických látek. Při jejich vyšší koncentraci se mohou u koupajících se osob, zvláště u dětí a citlivějších jedinců, projevit kožní vyrážky, otoky a záněty očních spojivek. Sleduje se toxické a karcinogenní působení toxinů produkovaných řasami a zejména sinicemi. V poslední době se zkoumá i alergenní působení různých druhů řas, tvořících v přírodních vodách hromadné populace. Zatím byl prokázán vliv přítomnosti částic uschlého vodního květu ve vzduchu v okolí rybníků na zvýšený výskyt průduškového astmatu u místních obyvatel (a rybářů). Nadměrný nárůst řas rovněž brání rozvoji dalších vodních živočichů. Kromě chronických účinků jsou v poslední době zaznamenávány i případy akutní intoxikace.

Podle množství „fosforu" obsaženého ve vodách lze rozlišit vody:

oligotrofní c („P") < 10 mg/l
oligo-mesotrofní c („P") 10–20 mg/l
mesotrofní c („P") 20–50 mg/l
eutrofní c („P") 50–100 mg/l
hypertrofní c („P") > 100 mg/l

(*Převzato z: Kočí, V., Burkhard, J., Maršálek, B.: Eutrofizace na přelomu tisíciletí. Eutrofizace 2000, 10. 10. 2000, Praha*)

Motivace studentů

Podle tématu, do kterého jsme cvičení zařadili je vhodné volit i úvodní motivační část. Jednou z možnotí je začít aktuálním ekologickým tématem eutrofizace. Vhodné je propojení se zeměpisem, v rámci kterého si studenti vyhledají družicové snímky velkých vodních ploch (např. s využitím Google maps). Vhodným kandidátem je Kaspické jezero (viz foto v úvodní části).

Navázat můžeme otázkou, jak vypadají vodní nádrže, které studenti znají, a s čím jejich stav asi souvisí. Na Vysočině je vhodným kandidátem např. vodní nádrž Vír, stejně jako celá řada dalších nádrží po celé republice. Tím plynule přejdeme k chemické podstatě eutrofizace a diskusi k problémům, které tento jev přináší.

Doporučený postup

1. Každá pracovní skupina obdrží „pracovní návod" a každý student dostane „pracovní list". Studenti si nejprve přečtou návod a teprve pak začnou s přípravou vlastního experimentu.
2. Dopoučujeme, aby každý člen pracovní skupiny dostal svůj spefický úkol. Pro tříčlennou skupinu například:
   - *student 1* – vedoucí týmu – ručí za to, že skupina bude při práci postupovat podle pracovního návodu, koordinuje vyplňování pracovních listů a vyplněné pracovní listy vybírá (každý student si vyplní svůj pracovní list), připravuje neznámé vzorky mycích prostředků ke spektrofotometrickému měření,
   - *student 2* – odměřuje/navažuje potřebná množství chemikálií, připravuje kalibrační roztoky,
   - *student 3* – zodpovídá za přípravu systému PASCO k měření absorbance (spuštění PC a SW DataStudio, kontrola připojení odpovídajícího čidla, ověření funkčnosti, ...), provádí odečet naměřených hodnot.
3. Připojte zařízení přes USB rozhraní k počítači (viz obrázek 4).

Obrázek 4

4. Vyberte odpovídající soubor DataStudia (**12_spektrofotometrie-fosforecnany.ds**) a pokračujte podle postupu uvedeného v „pracovním návodu".

Příprava úlohy

Nechte studenty vyplnit (za domácí úkol nebo, pokud máme dvouhodinové praktikum, na začátku práce) slovníček a přípravnou část úlohy v „pracovním listu". Je nezbytné, aby studenti tyto části vypracovali před vlastní experimentální činností.

Zjistěte, jak studenti přípravnou část úlohy vypracovali.

Tip 2

Pokud chcete se studenty prokázat přítomnost většího množství fosforečnanů, je vhodné zařadit mezi vzorky některý z klasických pracích prášků. Počítejte ale s tím, že při přípravě vzorku budete muset vycházet z mnohonásobně většího ředění.

Tip 3

Pro určení vhodného ředění konkrétních mycích prostředků je dobré do několika zkumavek připravit směs detekčních roztoků A + B (viz pracovní postup) a následně vhodit pár zrnek (nebo přidat několik kapek mycího prostředku). Pokud dojde během chvilky ke změně barvy v temně modrou (často absolutně neprůhlednou), obsahuje prostředek značné množství fosforečnanů. Takovýto prostředek budete muset mnohonásobně ředit. Sdělte studentům modifikaci ředění u jednotlivých neznámých vzorků (viz „pracovní návod").

Materiály pro studenty

„Pracovní návod" postupně provede studenty („krok za krokem") celou úlohou.

„Pracovní list" slouží studentům k zaznamenání získaných dat, jejich analýze a pochopení.

Záznam dat

Postup při zaznamenávání dat je popsán v „pracovním listu". Upozorněte studenty na to, že před vlastním započetím měření je třeba úloze opravdu porozumět.

Analýza dat

Naměřená data použijí studenti ke zodpovězení otázek v „pracovním listu".

Upozorněte studenty na souhrnné otázky. V učitelské verzi pracovního listu jsou uvedeny typické odpovědi studentů.

Syntéza a závěr

Po skončení experimentální činnosti shrneme získané poznatky o obsahu fosforečnanů ve stanovovaných vzorcích.

I bez použití spektrofotometru bylo většinou ihned vidět, díky zmodrání reakční směsi, zda vzorek fosforečnany obsahuje či ne. K seriózní kvantifikaci ovšem již potřebujeme spektrofotometr.

Výsledky mohou být často překvapivé. Ve většině případech totiž i v bezfosfátových přípravcích nějaké fosfáty zdetekujeme. V podkladech k této úloze neuvádíme ve výsledcích konkrétní přípravky, které byly použity, protože jejich složení se může průběžně měnit.

Na závěr můžeme nechat studenty sestavit žebříček mycích prostředků, s patřičným odůvodněním, tak, jak by je používali v domácnosti.

Tip 4

V případě, že se jedná o studenty nižších ročníků je vhodné připravit předem nejen roztoky A a B potřebné ke stanovení fosforečnanů, ale přímo jejich směs (viz pracovní postup). Tím pádem se studenti mohou soustředit v prvním kroku pouze na změření absorbance kalibračních roztoků a sestrojení kalibrační přímky.

Pro urychlení připadá v úvahu i varianta, kdy studentům již připravíte hotovou kalibrační přímku a studenti sami se budou věnovat stanovení koncentrace fosforečnanů v různých předložených vzorcích.

Tip 5

Protože je metoda velice citlivá, musíme mít při všech úkonech stále zařazen kontrolní „slepý vzorek" (blank), jedině tak si můžeme být jisti, že jsme do vašeho stanovení nedostali fosforečnany i jinou cestou, než z analyzovaného mycího prostředku.

Hodnocení

(Viz dříve uvedené cíle.)

- Sestavili a použili studenti laboratorní zařízení správně?
- Postupovali korektně podle pracovního postupu?
- Pochopili studenti princip spektrofotometrického stanovení koncentrace?
- Vypracovali studenti správně své pracovní listy?
- Stanovili studenti obsah fosforečnanů správně?
- Jsou studenti schopni zdůvodnit případné rozpory mezi teoretickým a skutečným výsledkem?

Internetové odkazy

Koloběh fosforu

http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphorus_cycle

Fosforečnany

http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphate

Adenosintrisfosfát (ATP)

http://en.wikipedia.org/wiki/Adenosine_triphosphate

http://cs.wikipedia.org/wiki/Adenosintrifosfát

Eutrofizace

http://en.wikipedia.org/wiki/Eutrophication

http://www.rmbel.info/Reports/Static/eutrophication.aspx

Trofická stádia jezer

http://www.rmbel.info/Reports/Static/trophicstates.aspx

Pasco zdroje

Na stránkách ***www.pasco.com*** a ***www.pasco.cz*** naleznete řadu dalších zdrojů.