

# Bionanostruktury 1 – Laboratorium

## Ćwiczenie nr 4

### Wyznaczanie współczynnika podziału metodą spektrofotometryczną

---

#### Wymagane pojęcia

Absorbancja, prawo Lamberta-Beera, lepkość, współczynnik podziału.

#### Aparatura i odczynniki

1. Aparatura: spektrofotometr, wirówka laboratoryjna.

2. Sprzęt:

- cylinder miarowy 50ml,
- rozdzielacze gruszkowe 250ml 3 szt.,
- probówki typu falcon 7 szt.
- kuwety plastikowe 10 szt.,
- pipety miarowe.

3. Odczynniki:

- wodny roztwór barwnika Nile Blue: 0.1 mg/ml,
- olej słonecznikowy

#### 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 logP badanego związku.

#### Wykonanie ćwiczenia

1. *Przygotowanie roztworów do pomiarów współczynnika podziału.* Do trzech probówek typu falcon (A, B, C) przenieść po 20 ml oleju. Następnie dodać do nich po 20 ml roztworów barwnika o stężeniach: A – 0.5  $\mu\text{g/ml}$ , B – 1  $\mu\text{g/ml}$ , C – 1.5  $\mu\text{g/ml}$ . W razie potrzeby skonsultować obliczenia z prowadzącym.
2. Tak przygotowane próbki wytrząsać przez ok. 10 minut, a następnie odstawić do statywu.
3. *Roztwory do krzywej wzorcowej.* Należy przygotować minimum 6 roztworów barwnika o stężeniach dobranych w taki sposób, by przy pomocy krzywej można było oznaczyć stężenie barwnika w fazie wodnej po wytrząsaniu. Minimalna objętość wymagana do pomiaru spektrofotometrycznego to 2 ml.
4. Przygotowane mieszaniny oleju i wody z dodatkiem barwnika odwirować – 10min 3500rpm – i przenieść (ostrożnie) do rozdzielaczy. Pozostawić na statywie do rozdzielania.
5. Wykonać pomiary roztworów przygotowanych do wyznaczenia krzywej wzorcowej (absorbancja przy długości fali 635nm).
6. Do osobnych probówek pobrać z rozdzielaczy ok. 10 ml z dolnej fazy. Pobrać po 3ml tak uzyskanego roztworu barwnika i oznaczyć jego absorbancję.

## Opracowanie wyników

1. Sporządzić wykres zależności absorbancji wodnych roztworów Nile Blue od ich stężenia (krzywa wzorcowa). 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:

$$V^w c_i^w + V^{org} c_i^{org} = V^w c_i^{pocz} \quad (1)$$

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 współczynnik podziału badanego związku dla poszczególnych roztworów:

$$P = \frac{c_i^{org}}{c_i^w} = const. \quad (2)$$

5. Biorąc pod uwagę uzyskane wartości  $P$ , oraz  $\log P$ , skomentować czy spełnione zostały warunki poprawnego ich wyznaczenia.

Instrukcję opracował:  
Mgr inż. Marek Kaczyński