

LABORATORIUM FUNKCJONALIZACJI NANOMATERIAŁÓW

Ćwiczenie 4b – Reakcja charakterystyczna aminowej grupy funkcyjnej ligandu (v2.0)

1. Celem ćwiczenia jest:

- oszacowanie liczby ligandów przypadających na nanokryształ bazując na reakcji charakterystycznej grupy funkcyjnej ligandu i pomiarze widm absorbancji - oznaczenie kolorymetryczne.

2. Bezpieczeństwo

Przed przystąpieniem do wykonywania ćwiczenia:

- a. Upewnij się, że zapoznałeś się z zasadami bezpiecznej pracy w laboratorium
- b. Znasz zagrożenia wynikające z pracy z urządzeniami laboratoryjnymi oraz odczynnikami chemicznymi
- c. Ubierz:
 - fartuch laboratoryjny
 - okulary ochronne
 - jednorazowe rękawice nitrylowe

3. Odczynniki chemiczne

UWAGA: Unikaj kontaktu fizycznego z nanokryształami, gdyż materiał ten jest rakotwórczy.

- 0,03M roztwór D-penicilaminy (DPA) w DI
- 0,3M roztwór ninhydryny w etanolu (96%)
- NaOH 1M w DI
- DI – woda dejonizowana
- NCs – nanokryształy CdS z DPA

Karty charakterystyki substancji chemicznych w języku polskim można znaleźć na stronie producenta/sprzedawcy posługując się numerem katalogowym: <http://www.sigmaaldrich.com/poland.html>

Z kartami charakterystyki substancji chemicznych należy obowiązkowo zaznajomić się przed przystąpieniem do zajęć.

4. Aparatura i materiały

- pipeta automatyczna 100-1000 ul z końcówkami
- płyta grzejna z blokiem grzejnym
- statyw na fiolki
- fiolki 4 ml z zakrętkami x8
- statyw na kuwety
- kuwety fluorymetryczne PP x11
- stoper
- cienkopis
- wirówka
- pipety Pasteura + smoczek
- spektrofotometr (UV-VIS)
- pH-metr

5. Pomiary

Uruchomić płytę grzejną. Nastawić temperaturę na 95°C.

UWAGA: zachować ostrożność z uwagi na gorącą powierzchnię

Uruchomić spektrofotometr – szczegółowa instrukcja znajduje się na stanowisku.

Sprawdzić czy roztwory ninhydryny i **DPA** są jednorodne. Jeśli nie, to należy je zamieszać (można wykorzystać vortex).

5.1. Pomiar widm absorbancji ligandu **DPA**, ninhydryny oraz nanokryształów

Umieścić 2,0 ml DI w kuwecie fluorymetrycznej (R).

Użyć tą kuwetę do pomiaru referencji jasnej na spektrofotometrze.

W drugiej kuwecie fluorymetrycznej umieścić 1,9 ml DI oraz 100 μ l roztworu NCs.

W trzeciej kuwecie fluorymetrycznej umieścić 1,9 ml DI oraz 100 μ l roztworu **DPA**.

W czwartej kuwecie fluorymetrycznej umieścić 1,9 ml DI oraz 100 μ l roztworu ninhydryny.

Wyrównać stężenie w kuwetach dokładnie mieszając (np. poprzez kilkukrotne pobranie o wypuszczenie roztworu do/z pipety).

Zmierzyć i zapisać widmo absorbancji roztworów **DPA**, ninhydryny oraz NCs.

Przelać roztwór NCs z kuwety do próbówki i wykorzystać w punkcie 5.3.

5.2. Przygotowanie krzywej kalibracji w funkcji stężenia ligandów **DPA** w roztworze

Do 7 fiolek odmierzyć pipetą automatyczną odpowiednio: 0 (referencja); 100, 200, 400, 800, 1400, 2000 μ l roztworu **DPA**. Fiolki podpisać.

Wszystkie próbówki uzupełnić DI do objętości 2,0 ml (pipetą).

Następnie do każdej z nich dodać 1,0 M roztwór NaOH, w kolejności odpowiednio: 0, 5, 10, 20, 40, 70, 100 μ l.

Zawartość fiolek zamieszać na wortexie (minimalne obroty).

Następnie do każdej z nich dodać 500 μ l 0,3 M roztworu ninhydryny.

Zawartość zamieszać i **ostrożnie** ogrzewać na w bloku grzewczym przez 15 minut.

W próbkach można zaobserwować pojawienie się fioletowoniebieskiego produktu (purpura Ruhemanna).

Fiolki zakręcić, umieścić w wirówce i odwirować 6000 rpm przez 10 sekund.

Zawartość wszystkich próbek przenieść pipetą Pasteura do kuwet fluorymetrycznych.

Wykonać zdjęcie kuwet ustawionych w kolejności stężenia ligandu.

Wykonać pomiar widm absorbancji roztworów produktów reakcji **DPA** z ninhydryną (próbka z 0 ml **DPA** służy jako referencja jasna).

5.3. Wyznaczenie stężenia ligandów **DPA** w roztworze NCs

Do próbówki zawierającej NCs dodać 50 μ l 1,0 M roztworu NaOH.

Zawartość próbówki zamieszać na wortexie (minimalne obroty).

Następnie dodać 500 μ l 0,3 M roztworu ninhydryny.

Zawartość zamieszać i **ostrożnie** ogrzewać na w bloku grzewczym przez 15 minut.

Pipetą Pasteura przenieść roztwór do kuwety fluorymetrycznej i wykonać pomiar widm absorbancji roztworu (próbka z 0 ml **DPA** służy jako referencja jasna).

6. Opracowanie wyników – zadania

1. Sporządzić wykres absorbancji NCs, **DPA** i ninhydryny. Opisać występujące pasma absorpcji.
2. Na podstawie widma absorbancji nanokryształów CdSe oszacować ich stężenie w DI.

W tym celu skorzystać z przybliżonego wzoru empirycznego mówiącego, iż molowy współczynnik ekstynkcji dla długości fali 300 nm wynosi $\varepsilon = 31\,700 \cdot d^3$ ($\text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$), gdzie d – średnica nanokryształów wyrażona w nm, a zależność przerwy energetycznej E_g wyrażonej w eV i średnicy d wyraża się:

$$E_g = 1.74 + \frac{1}{0.89 - 0.36d + 0.22d^2} \quad [\text{ref. 1}].$$

3. Sporządzić wykres przedstawiający widma absorbancji roztworów DPA poddanych reakcji z ninhydriną. Wyjaśnić pochodzenia pasma absorpcji przy 570 nm.
4. Na podstawie wykresów sporządzić krzywą kalibracyjną uzależniającą wartość absorbancji przy 570 nm od ilości (wyrażonej w molach) użytego DPA.
5. Na sporządzonej krzywej kalibracji nanieść wartość absorbancji przy 570 nm dla roztworu NCs poddanego reakcji z ninhydriną.
6. Z krzywej kalibracji odczytać stężenie ligandów DPA w roztworze NCs.
7. Oszacować liczbę ligandów DPA przypadających na 1 NCs.

7. Referencje

1. R. K. Capek, I. Moreels, K. Lambert, D. De Muynck, Q. Zhao, A. Van Tomme, F. Vanhaecke, and Z. Hens, *Optical Properties of Zincblende Cadmium Selenide Quantum Dots*, J. Phys. Chem. C **2010**, 114, 6371