



Přírodovědecká  
fakulta

# Cvičení z instrumentálních metod

Prozatímní studijní text

KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE



**David MILDE**  
**Jana SKOPALOVÁ**

2015

# Předmluva

---

Tento studijní text vznikl díky finanční podpoře Univerzity Palackého v Olomouci (v rámci projektu FRUP\_2014\_2\_036) a je aktualizovanou kompilací návodů k úlohám pro laboratorní cvičení studentů bakalářského studia chemie. Je určen pro studenty předmětů Cvičení z instrumentálních metod (ACH/IMC) a Chemická instrumentace (ACH/CHI).

Na tvorbě návodů k úlohám se podílel řešitelský tým projektu FRUP ve složení: David Milde, Jana Skopalová, Lenka Veverková a Jana Prešerová.

© David Milde a Jana Skopalová, 2015

## Obsah

---

1. POLARIMETRICKÉ A REFRAKTOMETRICKÉ STANOVENÍ CUKRŮ V NÁPOJÍCH.....	2
2. STANOVENÍ DVOU LÁTEK VEDLE SEBE ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIÍ.....	10
3. STANOVENÍ MAKROPRVKŮ VE VLASECH METODOU AAS .....	12
4. STANOVENÍ ALKALICKÝCH KOVŮ V MLÉČE PLAMENOVOU FOTOMETRIÍ.....	15
5. STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU V OVOCNÉM DESTILÁTU .....	20
6. ANALÝZA TABLET ANTIPYRETIKA METODOU HPLC .....	21
7. PRŮKAZ ALKALOIDŮ TROPANOVÉ ŘADY POMOCÍ TENKOVRSŤVÉ CHROMATOGRFIE .....	23
8. SRÁŽENÍ TITRACE – ARGENTOMETRIE S VIZUÁLNÍ A POTENCIOMETRICKOU INDIKACÍ ....	26
9. PŘÍMÁ POTENCIOMETRIE S FLUORIDOVOU IONTOVĚ-SELEKTIVNÍ ELEKTRODOU.....	29
10. COULOMETRIE ZA KONSTANTNÍHO PROUDU (COULOMETRICKÁ TITRACE).....	33
11. NEUTRALIZAČNÍ TITRACE S POTENCIOMETRICKOU A KONDUKTOMETRICKOU INDIKACÍ	36
12. POLAROGRAFIE A VOLTAMETRIE.....	41
13. CHARAKTERIZACE NANOČÁSTIC STŘÍBRA ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIÍ.....	46
14. ANALÝZA VOD POMOCÍ ICP-MS .....	50

# 1. Polarimetrické a refraktometrické stanovení cukrů v nápojích

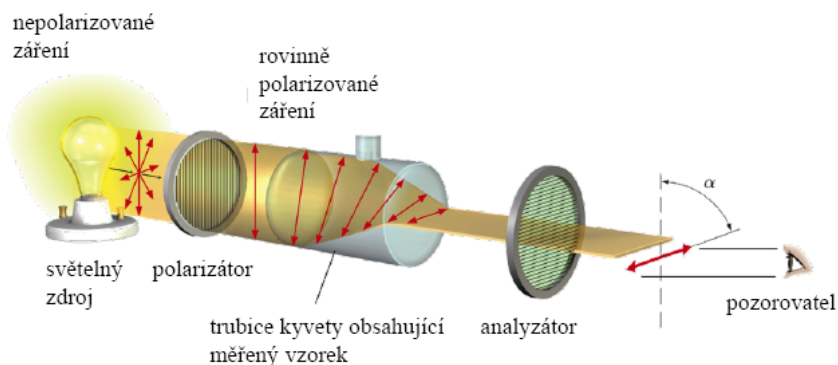
## POLARIMETRIE

### Úvod

Polarimetrie je optická analytická metoda založená na měření optické otáčivosti (= optické aktivity). Optická otáčivost je schopnost některých látek stáčet (otáčet) rovinu polarizovaného světla. Světelný paprsek lze popsat jako vlnu kmitající ve všech rovinách. Lineárně (rovinně) polarizované světlo kmitá v jedné rovině proložené paprskem, které vzniká ze světla normálního v polarizátoru. Látky s optickou aktivitou neboli látky chirální mají ve své molekule přítomné centrum chiralit (asymetrický uhlík), na kterém jsou navázány čtyři různé substituenty. Molekuly těchto látek tvoří v prostoru dvě možné varianty, které jsou si vzájemným zrcadlovým obrazem (enantiomery). Tyto dva izomery se nazývají „optické antipody“, kdy jeden stáčí rovinu polarizovaného světla doprava (ozn. D, +), druhý doleva (ozn. L, -). V dnešním názvosloví se začala používat označení R a S, které závisí na prostorové orientaci substituentů, nikoliv na směru otáčivosti. Mezi opticky aktivní látky patří například cukry, aminokyseliny, peptidy, alkaloidy, antibiotika. Polarimetrie se používá ke kvantitativní i kvalitativní analýze v cukrovarnictví, v potravinářském průmyslu (stanovení koncentrace sacharidů) a farmaceutickém průmyslu (stanovení steroidů, vitamínů, alkaloidů, atd.), v biochemii (stanovení bílkovin v moči) a také ke kontrole čistoty směsí chirálních látek.

### Princip

Principem polarimetrie je měření úhlu otočení roviny polarizovaného světla, které vzniká průchodem světelného paprsku přes Nikolovy hranoly. K měření optické otáčivosti resp. úhlu se používají polarimetry (Obr.1-1). Princip měření spočívá v tom, že polarimetrickou trubicí naplněnou analyzovaným roztokem vložíme do dráhy rovinně polarizovaného světla, které se při průchodu touto trubicí odkloní a světlo pak pokračuje do druhého polarizačního hranolu – analyzátoru. Analyzátozem otočíme tak, aby světlo opět propustil (nová rovina polarizace). Úhel, o který jsme pootočili analyzátor proti původnímu postavení, se označuje  $\alpha$  (vyjadřuje se ve stupních), odpovídá úhlu otočení roviny polarizovaného světla při průchodu roztokem analyzované látky. Analyzovaná látka může otočit rovinu světla doleva - levotočivá (proti směru pohybu hodinových ručiček) nebo doprava - pravotočivá (ve směru pohybu hodinových ručiček).



**Obrázek 1-1:** Schéma polarimetru<sup>1</sup>

Velikost optické aktivity závisí na povaze analyzované látky, síle vrstvy, přes kterou prochází polarizované světlo, vlnové délce použitého světla, koncentraci roztoku, teplotě roztoku a měrné (specifické) hmotnosti roztoku (hustota).

**Měrná otáčivost**  $\alpha$  se měří v stupních a je dána vztahem:

$$\alpha = [\alpha]_D^{20} l c, \quad (1)$$

kde  $\alpha$ , úhel otočení roviny polarizovaného světla;  $l$ , tloušťka vrstvy opticky aktivní látky v dm;  $c$ , koncentrace látky v  $\text{g cm}^{-3}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$ , specifická optická otáčivost. Optická otáčivost je přímo úměrná koncentraci a tloušťce vrstvy a nepřímo úměrná vlnové délce a teplotě.

Abychom mohli porovnávat optickou otáčivost jednotlivých sloučenin (Tab. 1), byla definována **specifická optická otáčivost**  $[\alpha]_D^{20}$ , což je otáčivost měřená při délce kyvety  $l = 1$  dm, koncentraci  $1 \text{ g cm}^{-3}$ , vlnové délce D- linie sodíkového světla  $589,3 \text{ nm}$  a při teplotě  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l c} \quad (2)$$

Jelikož se koncentrace analyzované látky vyjadřuje v jednotkách g na 100 ml, pak platí vztah:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{l c} \quad (3)$$

**Tabulka 1:** Specifická optická otáčivost některých organických sloučenin

Sloučenina	$[\alpha]_D^{20} (^\circ)$	Sloučenina	$[\alpha]_D^{20} (^\circ)$
sacharosa	+66,47	penicilin V	+233
D-glukóza	+52,64	morfin	-132
D-fruktóza	-93,68	kafr	+44,26
Škrob	+196,4	cholesterol	-31,5

## Úkol

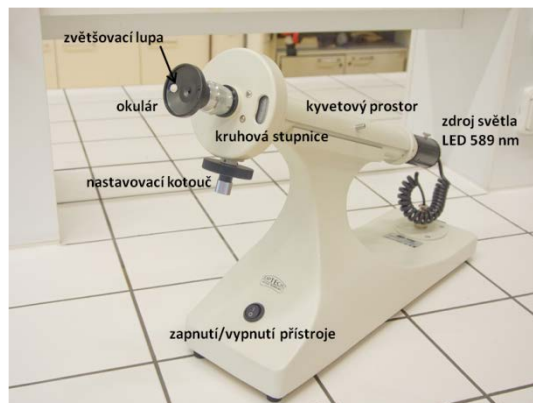
Stanovte koncentraci cukrů (sacharóza, glukóza, fruktóza) v nápojích pomocí polarimetrie.

- Zjistěte specifickou otáčivost u standardních roztoků jednotlivých cukrů.
- Zjistěte koncentraci jednotlivých cukrů v neznámých vzorcích.
- Zjistěte koncentraci cukrů v libovolném nápoji (juice, sirup, šťáva, ...), porovnejte s deklarovaným množstvím uvedeným na obalu.

## Přístroje a chemikálie

Optech Polarimetr PL1 LED (Fisher Scientific, Pardubice) (Obr. 1-2)

Laboratorní sklo – odměrné baňky, kádinky, pipeta, balónek, buničina, lodička, lab. lžička  
Sacharóza p.a., glukóza p.a., fruktóza p.a., nápoj



Obrázek 1-2: Optech Polarimetr PL1 LED

## Pracovní postup

- Připravte standardní roztoky sacharózy, glukózy a fruktózy o koncentraci 20 g/100 ml do odměrné baňky.
- Změřte optickou otáčivost standardních roztoků a zjistěte specifickou optickou otáčivost. Každý roztok změřte 3krát.
- Do 50 ml odměrných baněk připravte sadu kalibračních roztoků pro jednotlivé cukry v rozmezí koncentrací 2 – 10 g/100 ml ředěním standardních roztoků.
- Změřte optickou otáčivost  $\alpha$  kalibračních roztoků cukrů.
- Změřte optickou otáčivost  $\alpha$  neznámých vzorků a nápoje. Každý vzorek změřte 3x.
- Vyhodnoťte koncentrace cukrů u neznámých vzorků a nápoje.

## Práce s polarimetrem

- Zapněte polarimetr a nechte ho před měřením v provozu cca 5 minut (stabilizace světelného toku)

### Plnění polarimetrické trubice

- Kruhová sklíčka polarimetrické trubice musí být čistá a suchá. Nejdříve uzavřeme jeden konec polarimetrické trubice pomocí sklíčka a těsnění a zášrubu. Poté naplníme trubicí kapalinou tak, aby nad jejím okrajem vyčnívala kapka kapaliny (Obr. 1-3), kterou pak seřízíme sklíčkem, tak by se do trubice nedostal vzduch (Obr. 1-4, 1-5). Trubicí uzavřeme opět pomocí těsnění a zášrubu (Obr. 1-6 až 1-8). Před vložením do kyvetového prostoru, zkontrolujte, zda nemáte v trubici bubliny, zda máte suchá a čistá sklíčka. Samotnou trubicí vkládejte do kyvetového prostoru čistou a suchou.



Obrázek 1-3



Obrázek 1-4



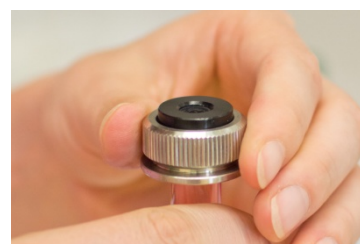
Obrázek 1-5



Obrázek 1-6



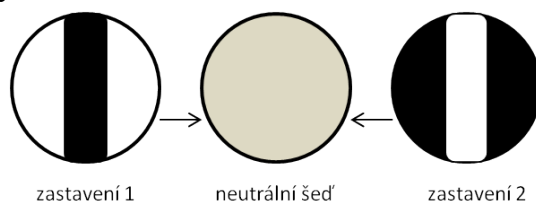
Obrázek 1-7



Obrázek 1-8

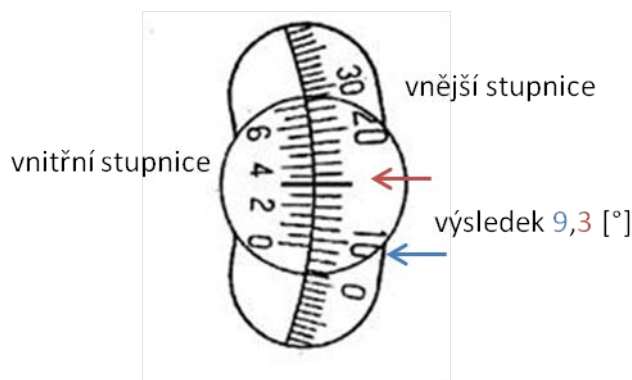
### Měření polarimetrem

- Zkontrolujte, zda máte na pravé stupnici polarimetru ve středu vnější stupnice "0", pokud ne, tak ji nastavte.
- Naplňte polarimetrickou trubici destilovanou vodou, vložte ji do květového prostoru polarimetru a proveďte nastavení polarimetru na "0". Otáčejte nastavovacím kotoučem, až uvidíte „zastavení 1“ (tmavý pruh na světlém poli). Otáčejte dále, až uvidíte „zastavení 2“ (světlý pruh na tmavém poli). Nyní otáčejte nastavovacím kotoučem zpět, až bude celá plocha pokryta neutrální šedí, bez náznaku pruhu. V této pozici odečteme výslednou hodnotu.



### Odečítání hodnot

- Hodnoty úhlu otočení polarizovaného světla odečítáme na kruhové stupnici, která je rozdělena na 360 dílů. Pravá stupnice je rozdělena na stupnici vnější a vnitřní. (Obr.1-9).
- Hodnota "0" vnitřní stupnice ukazuje jednotky stupňů, odečítáme na vnější stupnici.
- Stupeň vnitřní stupnice, který je přesně proti stupni na vnější stupnici vyjadřuje desetiny či setiny stupně, odečítáme na stupnici vnitřní.
- Kruhová stupnice je zobrazena na obrázku 1-9, kde je výsledná hodnota  $9,3^\circ$ .



**Obrázek 1-9:** Kruhovú stupnice polarimetru

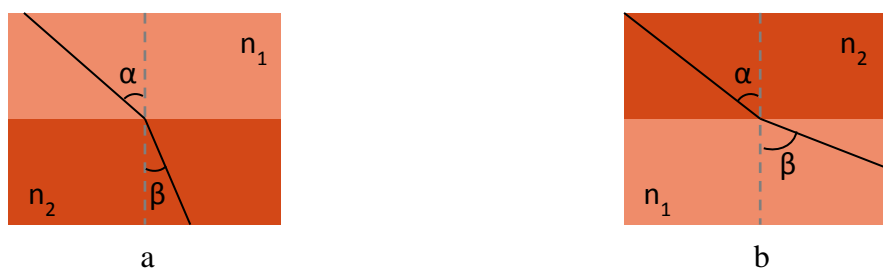
### Zpracování výsledků

- Vypočítejte specifickou optickou otáčivost jednotlivých cukrů (sacharóza, glukóza, fruktóza) v našich experimentálních podmínkách a porovnejte je s tabelovanými hodnotami uvedenými v tabulkách.
- Sestrojte kalibrační grafy a vypočítejte koncentraci cukrů v neznámých vzorcích a nápoji pomocí regresní rovnice.
- Vypočítejte koncentrace cukrů v neznámých vzorcích a nápoji podle vzorce 3 a porovnejte s koncentracemi získanými pomocí kalibrační křivky. Výsledky uveďte v g/100 ml.

## REFRAKTOMETRIE

### Úvod

Refraktometrie je optická analytická metoda založená na měření indexu lomu látek. Dopadá-li paprsek elektromagnetického záření na fázové rozhraní, mohou nastat dva jevy: reflexe (odraz), kdy úhel dopadu paprsku  $\alpha$  se rovná úhlu odrazu  $\alpha'$ , nebo refrakce (lom), prochází-li paprsek z jednoho prostředí do druhého, mění se na fázovém rozhraní obou prostředí jeho průniková rychlost a směr pronikání. Lom paprsku závisí na tom, v jakém poměru jsou hustoty obou prostředí: lom ke kolmici – úhel lomu  $\beta$  je menší než úhel dopadu  $\alpha$  tehdy, když paprsek přechází z prostředí opticky řidšího (vakuum, vzduch) do prostředí opticky hustšího (voda, roztok); lom od kolmice – úhel lomu  $\beta$  je větší než úhel dopadu  $\alpha$  tehdy, pokud paprsek prochází z prostředí opticky hustšího do prostředí řidšího (Obr. 1-10).



**Obrázek 1-10:** Lom světla na rozhraní dvou různých optických prostředí: a – lom ke kolmici, b – lom od kolmice,  $n_1$  – opticky řidší prostředí,  $n_2$  – opticky hustší prostředí

Index lomu ( $n$ ) se vyjadřuje jako poměr rychlostí světla ( $c_1, c_2$ ) v obou fázích (prostředích):

$$n = \frac{c_1}{c_2} \quad (1-1)$$

Rozeznáváme absolutní index lomu ( $N$ ), který definujeme jako poměr rychlosti světelného paprsku ve vakuu ( $c$ ) k rychlosti v měřeném prostředí ( $v$ ):  $N = \frac{c}{v}$ .  $N$  se přibližně rovná relativnímu indexu lomu  $n_{1,2} = \frac{v_1}{v_2}$ , kde  $v_1$  je rychlost šíření světla ve fázi 1 a  $v_2$  je rychlost světla ve fázi 2.

Index lomu je bezrozměrná relativní veličina, která se řídí Snellovým zákonem – podíl sinů úhlů dopadu a lomu světelného paprsku je pro dvě daná prostředí stálá veličina určená podílem fázových rychlostí světla v obou prostředích:

$$n = \frac{c_1}{c_2} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} \quad (1-2)$$

Hodnota indexu lomu závisí na povaze látky, koncentraci roztoku, vlnové délce světla, teplotě, tlaku vzduchu. V tabulkách se uvádí index lomu pro danou teplotu (25 °C) a vlnovou délku (obvykle D-linie sodíkového světla):  $n_D^{25}$ .

Refraktometrie se používá ke kvalitativní i kvantitativní analýze látek a jejich směsí, k ověření čistoty látek a chemikálií. V potravinářském průmyslu se tato metoda používá ke stanovení obsahu sacharózy v plodech (kiwi, grepy). Ve farmacii se využívá ke zkouškám totožnosti a zkouškám na čistotu (glycerol, methanol, anýzová silice, ...).

## Princip

Princip refraktometrie spočívá v měření tzv. mezního úhlu. Zvětšuje-li se úhel dopadu ( $\alpha$ ), zvětšuje se také úhel lomu ( $\beta$ ). Úhel dopadu může nabýt maximální hodnoty  $\alpha_{\max} = 90^\circ$ , kterému odpovídá určitý maximální, tzv. mezní úhel lomu (v zorném poli okulár refraktometru se jeví mezní úhel jako rozhraní světla a stínu):  $n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{1}{\sin \beta_{\max}}$  ( $\sin 90^\circ = 1$ ). Měření indexu lomu látky se provádí pomocí refraktometrů, které se podle konstrukce rozdělují do dvou skupin – suchý refraktometr – Abbeův refraktometr (lomný hranol a dalekohled přístroje jsou pohyblivé) a ponorný refraktometr (lomný hranol a dalekohled zaujímají vzájemně stálou polohu).

*Princip Abbeova refraktometru:* Zkoumaná látka tvoří tenkou vrstvu mezei dvěma hranoly – hranolem měrným (lámavým) s hladkou ploškou a hranolem pomocným s matnou ploškou. Oba hranoly mají zbroušenou plošku a jsou vsazeny do kovových plášťů, kterými může protékat temperovaná voda z ultratermostatu. Svazek paprsků světla dopadá na lomnou plošku měrného hranolu; a lomené a lomem rozložené světlo vstupuje do dalekohledu, v jehož tubusu je umístěn kompenzátor disperze. Při správném nastavení je v okuláru ostré rozhraní světla a stínu. V zorném poli je nitkovitý kříž, na jehož střed se zaměřuje světelné rozhraní. Dalekohled je spřažen s lupou zaostřenou na stupnici refraktometru.

## Úkol

Stanovte koncentraci cukrů (sacharózy, glukózy a fruktózy) v modelových vzorcích pomocí refraktometrie.



## Přístroje a chemikálie

Univerzální refraktometr RL (PZO, Warszawa) (Obr. 1-11)

Sacharóza p.a., glukóza p.a., fruktóza p.a., nápoj



Obrázek 1-11: Univerzální refraktometr RL

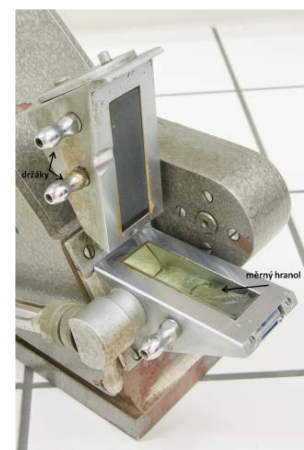
## Pracovní postup

- Standardní a kalibrační roztoky cukrů použijte z předchozí úlohy (viz polarimetrie).
- Změřte index lomu standardního roztoku a jednotlivých kalibračních roztoků. Každý roztok změřte 3krát.
- Změřte index lomu předložených modelových vzorků a nápoje. Každý vzorek změřte 3krát.
- Vyhodnoťte koncentraci cukrů v modelových vzorcích a nápoji.

## Práce s refraktometrem

### Měření refraktometrem

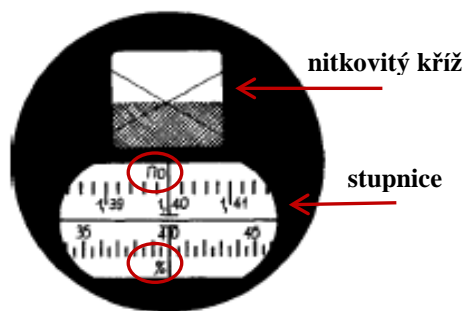
- Otevřete hranolovou komoru tahem nahoru za držáky (Obr. 1-12)
- Hranoly očistěte buničitou vatou pomocí destilované vody a ethanolu a utřete do sucha
- Nakápněte na měrný hranol roztoky pomocí pipety a zavřete hranolovou komoru
- Otevřete páčku na osvětlení.
- Levým šroubem (šroub 1) pohybujeme rozhraním "světla a stínu", tak až umístíme toto rozhraní na střed nitkovitého kříže. (Obr. 1-13) V případě potřeby lze rozhraní "světla a stínu" zaostřit pravým šroubem (šroub 2).



Obrázek 1-12:  
Otevřená hranolová komora

### Odečítání hodnot

- Provedeme odečet hodnoty indexu lomu na stupnici, která je umístěna v dolní části zorného pole okuláru (dalekohledu).
- Na horní stupnici odečítáme hodnoty indexu lomu a na dolní stupnici odečítáme hodnoty v procentech (Obr. 1-13).



**Obrázek 1-13:** Zorné pole okuláru (dalekohledu)

### Zpracování výsledků

- Uveďte v protokolu hodnotu indexu lomu standardního roztoku cukrů a porovnejte ji s tabelovanými hodnotami v tabulkách.
- Sestrojte kalibračních grafy a vypočítejte hmotnostní koncentraci cukrů v modelových vzorcích a nápoji. Výsledky uveďte v g/100 ml vzorku.
- Porovnejte obě optické metody stanovení cukrů (polarimetrie, refraktometrie).

### Literatura

1. McMurry J.: *Organická chemie*, VŠCHT, Praha 2007.
2. <http://anl.zshk.cz/vyuka/polarimetrie.aspx>.
3. Klouda P.: *Moderní analytické metody*, Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 2003.
4. Fisher scientific: Polarimetr PL1 LeD- Optech polarimetr -návod k použití. Fisher Scientific, Pardubice 2013.
5. <http://cit.vfu.cz/biochemie/web%20OPVK2/refraktometrie.html>.
6. Zýka J. a kol.: *Analytická příručka 2*, SNTL/Alfa, Praha 1980.

### Kontrolní otázky

1. Vysvětlete základní princip polarimetrie a refraktometrie.
2. Vysvětlete pojem specifická optická rotace, jak ji experimentálně změříme?
3. Vysvětlete Snellův zákon a pojem mezní úhel.
4. Popište polarimetr a refraktometr.
5. Nakreslete vzorec sacharózy a fruktózy ve Fischerově projekci společně s vyznačením asymetrického centra.

## 2. Stanovení dvou látek vedle sebe absorpční spektrofotometrií

Úvod a princip není v prozatímní verzi zahrnut.

### Úkol

Stanovte koncentrace dvou barviv v jejich směsi

- Zhotovte absorpční křivky dvou barevných látek.
- Vypočtete molární dekadické absorpční koeficienty
- Sestavte rovnice pro výpočet a stanovení obou látek ve směsi.

### Přístroje a chemikálie

- UV/Vis spektrofotometr Perkin Elmer -25
- pH metr InoLab WTW Level-1
- dimethylaminoazobenzen-*p*-sulfonan sodný,  $M = 327,33 \text{ g mol}^{-1}$
- tetrabromsulfoftalein,  $M = 669,99 \text{ g mol}^{-1}$
- ethanol denaturovaný methanolem
- základní Britton-Robinsonův tlumivý roztok (pH cca 2)

### Pracovní postup

- Připravte 250 ml vodného roztoku methyloranže o koncentraci  $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (*dimethylaminoazobenzen-*p*-sulfonan sodný*).
- Připravte 250 ml roztoku bromfenolové modři o koncentraci  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (*tetrabromsulfoftalein*). Navážku rozpust'ete nejdříve v 10 ml ethanolu (denaturovaného methanolem).
- Oba indikátory navažujte přesně a dokonale rozpust'ete (pro kvantitativní analýzu je nutné znát přesnou koncentraci)!
- Připravte cca 250 ml Britton-Robinsonova tlumivého roztoku o pH 7,00.
- Do dvou 50 ml odměrných baněk odměřte 25 ml tlumivého roztoku o pH 7,00 a 3 ml příslušného barviva.
- Zhotovte absorpční spektra obou látek ve viditelné oblasti, odečtete hodnoty maxim (vlnové délky a absorbance).
- Zvolte vhodnou koncentraci obou barviv tak, aby absorbance v maximu byla v rozsahu 0,6 – 0,9, připravte nové roztoky o známé koncentraci barviva (včetně tlumivého roztoku).
- Neznámé vzorky po přidání 25 ml tlumivého roztoku doplňte po rysku destilovanou vodou.
- Pro zvolené vlnové délky maxim jednotlivých barviv proměřte všechny připravené roztoky.

### Zpracování výsledků

- Vypočtete molární dekadické absorpční koeficienty obou barevných indikátorů.

- Vyhodnoťte koncentrace barviva v neznámých vzorcích. U směsného vzorku využijte aditivních vlastností Lambert-Beerova zákona a řešte soustavou dvou rovnic o dvou neznámých.
- V protokolu výsledek vyjádřete v mg barviva ve vzorku (50 ml)!

### **Kontrolní otázky**

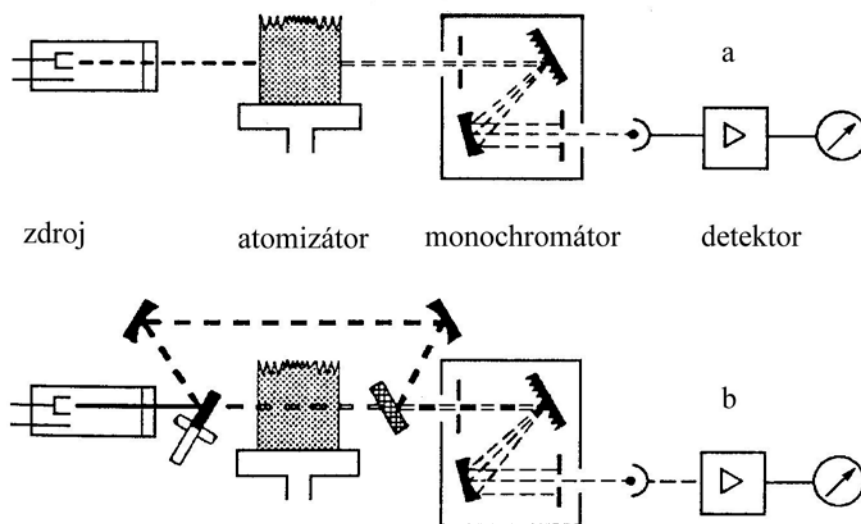
1. Napište a vysvětlete Lambert-Beerův zákon a odchylky od něj.
2. Co je to molární absorpční dekadický koeficient a jaký má význam?
3. Vysvětlete pojmy: chromofor, auxochrom, bathochromní posun, hypsochromní posun.
4. Vyjmenujte a popište funkci základních částí UV/Vis spektrofotometru.
5. Co je to absorpční spektrum? Jaké veličiny a v jakých jednotkách se vynášejí na osy?

### 3. Stanovení makroprvků ve vlasech metodou AAS

#### Úvod

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) byla popsána v roce 1955 sirem Alanem Walshem a od té doby se stala jednou z nejrozšířenějších metod anorganické prvkové analýzy. Je však potřeba podotknout, že emisní metody využívající indukčně vázané plazma (ICP) se díky možnosti simultánního stanovení v praxi prosazují čím dál více. AAS využívá jako analytickou vlastnost absorpci záření volnými atomy sledovaného prvku.

Měření absorpce záření provádíme pomocí atomových absorpčních spektrometrů, které dělíme podle optického uspořádání na jednopaprskové a dvoupaprskové. Základní části atomového absorpčního spektrometru jsou zdroj záření, atomizátor, monochromátor a detektor. Jako zdroj monochromatického rezonančního záření se nejvíce používá výbojka s dutou katodou. Nejdůležitější částí spektrometru je atomizátor, který slouží jednak jako zdroj a rezervoár volných atomů a také jako absorpční prostředí. Ke generaci volných atomů se využívají dva základní typy atomizace – plamenová a elektrotermická. Plamenová atomizace využívá k atomizaci laminárně předmíchané plameny, které se skládají z paliva (téměř výhradně  $C_2H_2$ ) a oxidovadla (vzduch nebo  $N_2O$ ). Nejčastěji používaným plamenem je směs acetylén – vzduch, který dosahuje teploty okolo  $2200\text{ }^\circ\text{C}$ . Elektrotermická atomizace využívá k atomizaci nejčastěji grafitovou kyvetu, která je zahřívána na teplotu potřebnou pro vznik volných atomů pomocí elektrického proudu. Dalším méně používaným typem atomizace je generování těkavých sloučenin. Po atomizátoru následuje mřížkový monochromátor, který slouží k izolaci záření vhodné vlnové délky. Jako detektor se využívá fotonásobič, u novějších přístrojů CCD (Charged Coupled Devices) detektory.



**Obrázek 3-1:** Schéma AA spektrometru s plamenovou atomizací  
a) jednopaprskový, b) dvoupaprskový

V reálných vzorcích přicházejících k analýze se obvykle vyskytuje sledovaný prvek spolu s dalšími prvky nebo sloučeninami, které mohou významně ovlivnit hodnotu absorpce.

Proto je důležité věnovat pozornost tzv. interferencím neboli rušivým vlivům. Interference rozlišujeme na spektrální (souhrnně označované jako absorpce pozadí) a nespektrální (např.: ovlivnění disociačních a ionizačních rovnováh, změny viskozity či hustoty vzorků). Spektrální interference jsou v dnešní době řešeny pomocí korekčních systémů, které jsou součástí atomového absorpčního spektrometru. Eliminace nespektrálních interferencí vyžaduje značné zkušenosti analytika. Stručně se dá uvést, že složení kalibračních roztoků by mělo co nejlépe odpovídat složení reálných vzorků.

## Princip

Principem metody AAS je absorpce záření volnými atomy v plynném stavu. Měří se úbytek intenzity elektromagnetického záření (absorbance) způsobený absorpcí volnými atomy v plynném stavu. Úbytek primárního záření je mírou koncentrace volných atomů prvku, který záření absorboval a matematicky se popisuje Bougher-Lambertovým a Beerovým zákonem (3-1). Rozdíly energií mezi jednotlivými elektronovými stavy atomu jsou charakteristické pro každý prvek.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (3-1)$$

$A$  – absorbance,  $\varepsilon$  – molární absorpční dekadický koeficient ( $l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ),  $c$  – koncentrace ( $\text{mol l}^{-1}$ ) a  $l$  – tloušťka absorpční vrstvy (cm)

V rámci této úlohy se seznámíte s plamenovou atomizací, jejíž princip spočívá v nasávání a převedení roztoku vzorku na aerosol pomocí zmlžovače. Aerosol je dále veden do laminárně předmíchaného plamene. Základní části plamenového atomizátoru jsou zmlžovač, mlžná komora a hořák.

## Úkol

Stanovte koncentraci Ca a Mg ve vlasech pomocí AAS s plamenovou atomizací.

## Přístroje, chemikálie

- Atomový absorpční spektrometr GBC SavantAA
- Standardní roztoky Ca a Mg (oba o koncentraci  $1 \text{ g l}^{-1}$ )

## Pracovní postup

### 1) Příprava vzorku

Před rozkladem vzorků je nutné odstranit možnou externí kontaminaci. Vlasy se nastříhají nůžkami na kousky o délce asi 2 cm. Vlasy se promyjí redestilovanou vodou, následně 2x acetonem a nakonec redestilovanou vodou (lze provést ve filtrační nálevce se skládaným filtračním papírem). Vzorek vlasů zbavený vody se naváží s přesností na desetiny miligramu. Proveďte 2 paralelní navážky 0,15 – 0,30 g.

### 2) Mineralizace vzorku

Vzorek se převede do vysoké kádinky, předem důkladně vypláchnuté destilovanou vodou (objem asi 100 ml je dostačující, je možné navažovat přímo do kádinky) a ke vzorku se přidá 10 ml kyseliny dusičné p.a. (podle velikosti navážky). Kyselinu není třeba přesně odměřovat, je nutné, aby vlasy byly ponořeny. Vzorek se **OPATRNĚ** zahřívá. V okamžiku rozkladu

dochází ke zpěnění a hrozí, že vzorek přeteče přes okraj kádinky! Tím by byla celá analýza znehodnocena. Po rozložení se kyselina odpaří téměř do sucha. Přídavek menšího objemu  $\text{HNO}_3$  ještě jednou až dvakrát opakujeme a vzorek opět odpaříme do sucha. Souběžně s rozkladem vzorku připravíme slepý pokus („mineralizujeme“ samotnou kyselinu dusičnou o stejném objemu, který jsme přidávali ke vzorku)! Po odpaření převedeme kvantitativně zbytek z kádinky do 25 ml odměrné baňky a destilovanou vodou doplníme po rysku.

### 3) Příprava kalibračních roztoků

Kalibrační roztoky Ca a Mg připravíme ředěním ze zásobních roztoků o koncentraci  $1 \text{ g l}^{-1}$ . Maximální ředění v jednom kroku je 100x !!! (Je možné připravit směsné kalibrační roztoky, vypočtený objem Mg a Ca odpipetujeme do jedné odměrné baňky). Připravíme následující řadu kalibračních roztoků do 25 ml odměrných baněk, hmotnostní koncentrace jsou v tabulce 2 udávány v  $\text{mg l}^{-1}$ :

**Tabulka 2:** Hmotnostní koncentrace Ca a Mg ve směsných kalibračních standardech.

Prvek	1. standard	2. standard	3. standard	4. standard	5. standard
Ca	1	2	5	8	10
Mg	0,05	0,1	0,25	0,5	0,75

### 4) Měření metodou AAS

Stanovení koncentrace Ca a Mg se provede s využitím plamenové atomizace v plameni acetylen-vzduch na atomovém absorpčním spektrometru GBC SavantAA.

#### Zpracování výsledků

Vyhodnocení koncentrace ve vzorcích proveďte metodou kalibrační křivky, kalibrační grafy sestrojte například pomocí programu Microsoft Excel. Je potřeba provést přepočítání na 1 g vzorku vlasů. V protokolu výsledek uveďte v  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

Výsledky lze porovnat s hladinami těchto kovů pro „zdravou“ populaci: Ca 146 – 3190  $\mu\text{g g}^{-1}$  vlasů, Mg 19 – 163  $\mu\text{g g}^{-1}$  (a pro Zn 99 – 450  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Pozn.: u barvených vlasů se nalezené koncentrace kovů mohou od těchto hladin výrazně odlišovat.

#### Kontrolní otázky

1. Popište princip metody atomové absorpční spektrometrie (AAS).
2. Popište základní prvky atomového absorpčního spektrometru.
3. Jaké atomizátory se v AAS používají a proč se používají různé atomizátory?
4. Popište plamenovou atomizaci (zmlžovač, hořák, používané plameny).
5. Co jsou to a jaké interference se v AAS objevují? Jak je lze eliminovat?

## 4. Stanovení alkalických kovů v mléce plamenovou fotometrií

### Úvod

Plamenová fotometrie je analytická technika patřící mezi metody optické emisní spektrometrie (OES). OES se zabývá zkoumáním a využitím záření vysílaného volnými excitovanými atomy, případně ionty prvků, v plynném stavu. Základní části optického emisního spektrometru jsou budící zdroj, monochromátor a detektor. Úkolem budícího zdroje je dodat energii potřebnou pro vyvolání emise záření atomy vzorku. Jako budící zdroj se používá plamen (plamenová fotometrie), elektrické zdroje (elektrický oblouk a jiskra), plazmové zdroje (plazmová spektrometrie, nejčastěji indukčně vázané plazma - ICP) a dále také buzení laserem či doutnavým výbojem. Monochromátor slouží k izolaci úzkého pásu vlnových délek z polychromatického záření, jako disperzní prvek se používá mřížka a u jednodušších spektrometrů optický filtr. K detekci emitovaného záření se v počátcích OES využívala fotografická detekce. Dnes se běžně používá fotoelektrická detekce (fotonka, fotonásobič, fotodiody a CCD (Charged Coupled Devices) detektory). Analytickým výstupem je emisní čárové spektrum, ve kterém poloha čáry charakterizuje kvalitativní složení vzorku a intenzita čáry charakterizuje kvalitativní složení vzorku. Plamenová fotometrie se používá ke stanovení obsahu prvků 1. a 2. A skupiny periodické tabulky, neboť energie potřebná k excitaci jejich valenčních elektronů není tak vysoká jako u jiných prvků a postačuje k ní tedy teplota plamene.

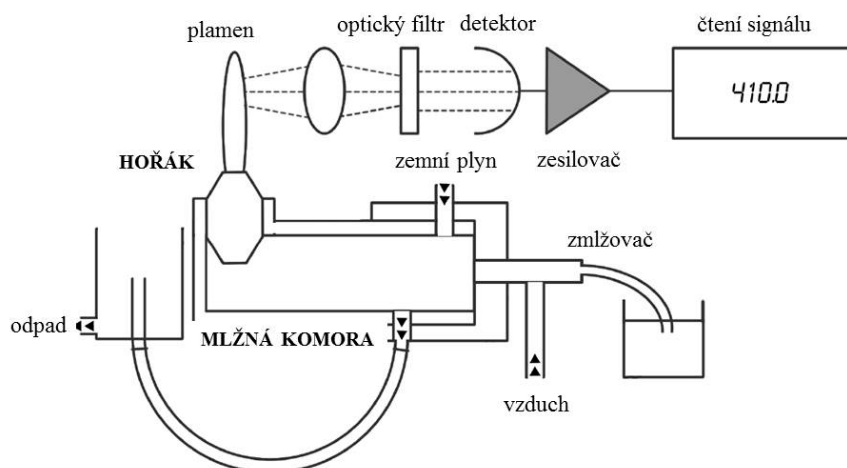
### Princip

Principem metody je nasávání vzorku ve formě roztoku do proudu oxidovadla ve zmlžovači, které se dále mísí s plynným palivem v míchací mlžné komoře. Směs je vedena do hořáku tj. laminárního plamene (např. plamen zemní plyn + vzduch ( $t = 1900\text{ °C}$ ), acetylén + vzduch ( $t = 2300\text{ °C}$ )), kde dochází k atomizaci a excitaci valenčních elektronů na vyšší energetické hladiny. Excitované elektrony při návratu na nižší energetické hladiny emitují záření, které je dále vedeno do monochromátoru a detektoru.



Obrázek 4-1. Plamenový fotometr BWB-XP





**Obrázek 4-2.** Schéma plamenového fotometru

## Úkol

1. Stanovte koncentraci sodíku a draslíku v mléce pomocí plamenové fotometrie.
2. Stanovte koncentraci sodíku a draslíku v modelových vzorcích pomocí plamenové fotometrie.
3. Porovnejte výsledné hodnoty koncentrací ve vzorku mléka s deklarovanými hodnotami.

## Přístroje, chemikálie

- plamenový fotometr BWB-XP
- chlorid sodný, chlorid draselný, 5-% roztok trichloroctové kyseliny

## Pracovní postup

### Příprava vzorku

Pro měření na plamenovém fotometru je vhodné mít čirý roztok, proto musíme mléko upravit denurací. Do kádinky si odměříme 50 ml mléka odměrným válcem. K mléku přidáme 15 ml 5-% trichloroctové kyseliny a důkladně promícháme. Vzniklou sraženinu bílkovin přefiltrujeme přes filtrační papír. Z filtrátu odpipetujeme přesně 25 ml do 50 ml odměrné baňky a doplníme destilovanou vodou po rysku.

### Příprava kalibračních roztoků

- Připravíme standardní roztok NaCl tak, aby 1 litr roztoku obsahoval 1 g sodíku a roztok KCl tak, aby 1 litr roztoku obsahoval 2 g draslíku.
- Z takto připravených standardních roztoků zhotovíme sérii kalibračních roztoků:
  - Sodík: 100, 200, 300, 400, 500 mg v 1 litru
  - Draslík: 200, 400, 600, 800, 1000 mg v 1 litru

## Zpracování výsledků

Vyhodnocení koncentrace sodíku a draslíku ve vzorcích provedeme z kalibračních grafů, které zkonstruujeme proložením kalibračních bodů vhodným regresním modelem. Výsledky v protokolu uveďte v mg v litru.

## Literatura

1. Opekar F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z.: *Základní analytická chemie*. Karolinum, Praha 2010.
2. BWB Technologies: A guide to flame photometer analysis. BWB Technologies 2006.

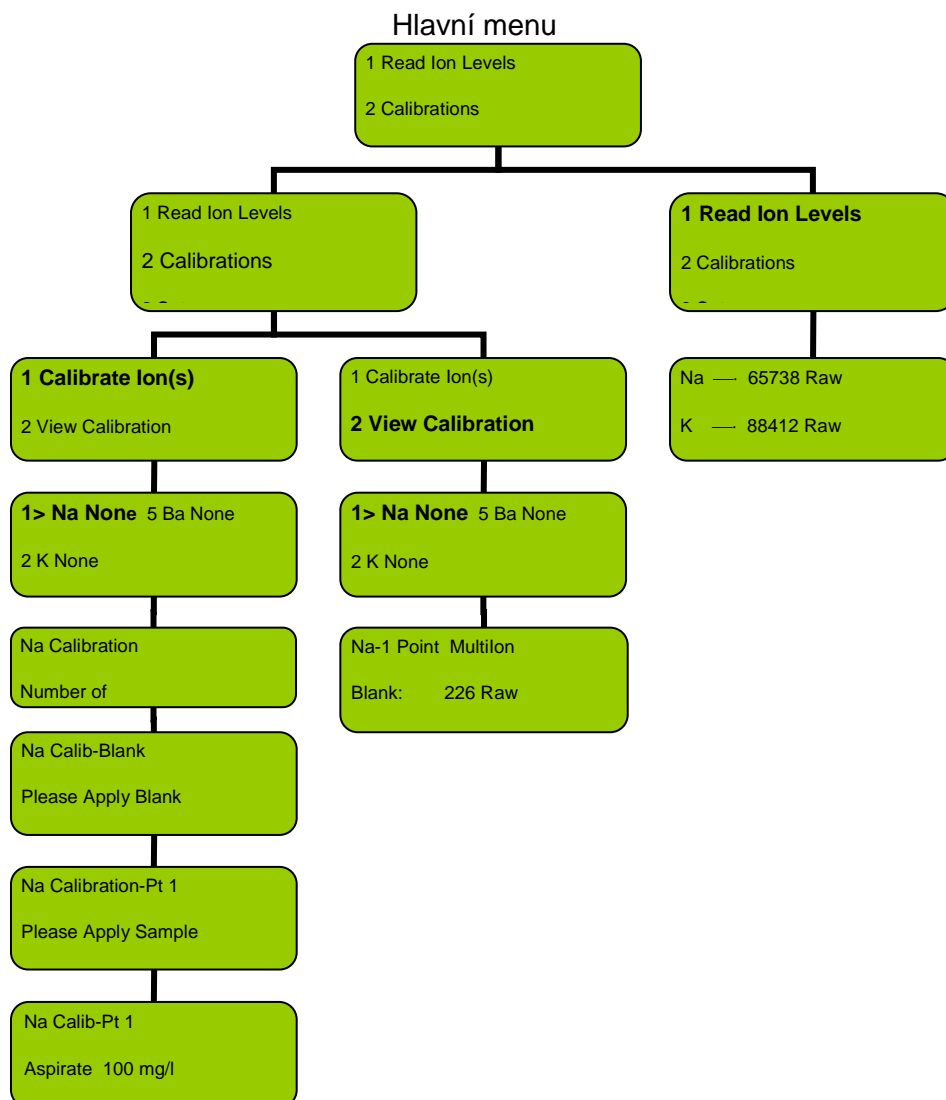
## Kontrolní otázky

- |  |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Jak se liší plamenová fotometrie (optická emisní spektrometrie) od AAS?</li><li>2. Jaké zdroje buzení se používají v OES? Stručně je charakterizujte.</li><li>3. Uveďte a popište zmlžovače a plameny používané v plamenové fotometrii.</li><li>4. Jaké disperzní systémy se používají v OES.</li><li>5. Interference v plamenové fotometrii.</li></ol> |
|--|

## NÁVOD k měření na plamenovém fotometru BWB-XP

- Zapneme plamenový fotometr BWB-XP (provede vedoucí cvičení), zapálíme plamen pod dozorem vedoucího cvičení a necháme asi 15 minut stabilizovat při současném nasávání destilované vody.
- Kalibrace
  - V hlavním menu (Viz Blokové schéma) zvolíme položku “Calibrations“ pomocí šipek a stiskneme “Accept“ (nebo stiskneme číslo 2).
  - V následujícím okně zvolíme položku “Calibrate Ion“ a stiskneme “Accept“ (nebo stiskneme číslo 1).
  - Zvolíme požadovaný ion “> Na“ a stiskneme “Accept“ (nebo stiskneme číslo 1).
  - V dalším okně zadáme počet bodů kalibrace stisknutím číselných tlačítek a stiskneme “Accept“.
  - Dále se na displeji zobrazí okno s hlášením “Apply Blank“ (měření blanku). Ponoříme hadičku do roztoku blanku (destilovaná voda), necháme nasávat roztok, dokud se signál neustálí. Signál je ustálen (stabilizován) tehdy, když se v dolní části displeje zobrazí “— .“ (vodorovná čárka a jeden bod). Poté stiskneme “Blank“, čímž spustíme měření blanku. Hodnotu blanku přístroj automaticky uloží.
  - V následujícím okně zadáme koncentraci kalibračního standardu stisknutím číselných tlačítek a stiskneme “Accept“. Poté ponoříme hadičku do kelímku s kalibračním standardem, necháme nasávat roztok standardu, dokud se signál neustálí “— .“ a stiskneme “Accept“. Na displeji se zobrazí hlášení “Flushing Chamber“, poté se kalibrační bod uloží do paměti. Dále se zobrazí okno pro zadání koncentrace následujícího standardu. Zadáme koncentraci, potvrdíme stisknutím “Accept“, ponoříme hadičku do kelímku s příslušnou koncentrací standardu a po ustálení signálu “— .“ spustíme měření stisknutím “Accept“. Tímto způsobem proměříme všechny kalibrační roztoky.
  - Po ukončení měření posledního kalibračního standardu a jeho uložení do paměti dojde automaticky k návratu do Hlavního menu.
  - V hlavním menu zvolíme položku “Calibrations“ a stiskneme “Accept“ (nebo stiskneme číslo 2). V následujícím okně zvolíme položku “View Calibration“ a stiskneme “Accept“ (nebo stiskneme číslo 2). Poté zvolíme měřený kov “> Na“ a stiskneme “Accept“. V posledním otevřeném okně jsou uvedeny hodnoty emise pro blank a pro jednotlivé kalibrační standardy (přepínání mezi jednotlivými standardy pomocí šipek).
  - Stiskneme opakovaně tlačítko “Back“ pro návrat do Hlavního menu.
- Vzorek
  - V hlavním menu zvolíme položku “Read Ion Levels“ a stiskneme “Accept“ (nebo stiskneme číslo 1). Do měřicího modu se též dostaneme stisknutím tlačítka “Read“.
  - Hadičku ponoříme do kelímku se vzorkem a necháme nasávat. Po ustálení signálu “— .“ odečteme hodnotu signálu emise u měřeného kovu.
  - Po změření vzorku stiskneme “Back“ pro návrat do Hlavního menu.

## Blokové schéma



## 5. Stanovení obsahu methanolu v ovocném destilátu

Úvod a princip není v prozatímní verzi zahrnut.

### Úkol

Stanovte obsah methanolu v předloženém vzorku destilátu plynovou chromatografií.

### Přístroje a pomůcky

- plynový chromatograf HP 5890 serie II ovládaný pomocí chromatografického software Clarity™
- kovová náplňová kolona: 2 m x 1/8", náplň Porapak Q 0,18 – 0,20 mm
- nosný plyn: N<sub>2</sub>, 25 ml min<sup>-1</sup>
- detektor: plamenově ionizační (FID; vodík 30 ml min<sup>-1</sup>; vzduch 500 ml min<sup>-1</sup>)

Teplota: kolona izotermicky 180 °C; detektor 180 °C a nástřik 200 °C

Dávkovaný objem: 1 µl stříkačkou Hamilton

### Pracovní postup (metoda přímého srovnání)

- Po ustálení provozních teplot plynového chromatografu provedeme nástřik 1 µl standardu methanolu v 50% (v/v) ethanolu o koncentraci přibližně 4 g l<sup>-1</sup> (přesná koncentrace uvedena na vialce). Po nástřiku je nutné vyčkat, až se signál detektoru po vyeluování všech složek standardu vrátí na základní linii (alespoň 5 min).
- Nástřik standardu opakujte 3x.
- Poté proveďte nástřik 1 µl předloženého vzorku destilátu a opět proveďte 3x. Při analýze reálného vzorku destilátu je třeba počítat s možnou přítomností výše-vroucích složek (ethylacetát, *isobutanol*, butanol, *isoamylalkohol*, 2-methyl-1-butanol, amylalkohol, ...) a dobu analýzy přiměřeně prodloužit (cca 20-25 min.)
- Po skončení analýzy reálného vzorku je nutné zopakovat analýzu standardu o koncentraci cca 4 g l<sup>-1</sup> pro ověření dávkování.
- Pro vyhodnocení obsahu methanolu v reálném vzorku použijte metodu přímého srovnání ploch a vypočtete obsah methanolu v předloženém vzorku.
- Stanovený obsah methanolu v destilátu srovnejte s příslušnou Vyhláškou Ministerstva zemědělství o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu a rozhodněte, zda předložený destilát tuto vyhlášku splňuje.

### Kontrolní otázky

1. Co je to plynová chromatografie? Popište princip metody a základní části plynového chromatografu.
2. Jaké detektory pro plynovou chromatografii znáte?
3. Jak se provádí identifikace složek v plynové chromatografii?
4. Jak se určí kvantitativní zastoupení analytu při analýze plynovou chromatografií?
5. Pro které látky je plynová chromatografie nevhodná?

## 6. Analýza tablet antipyretika metodou HPLC

### Úvod

Nejběžnější látkou s antipyretickými a analgetickými účinky je acetylsalicylová kyselina. Je součástí celé řady léčiv a často jsou její účinky potencovány v kombinaci s jinými látkami. Např. se jedná o kofein, paracetamol, kyselinu askorbovou, chinin a další.

Acetylsalicylová kyselina je nestabilní látka, která snadno podléhá hydrolyze a odštěpuje acetyl, již působením vzdušné vlhkosti. Produkt hydrolyzy, kyselina salicylová, je v preparátu nežádoucí a její nejvyšší přípustná mez v určitém preparátu je udána v čs. lékopise.

Testovaným léčivem je komerčně prodáváný ACYLPYRIN s vitamínem C nebo jiný preparát, jehož hlavní účinnou složkou je acetylsalicylová kyselina. Obsah kyseliny v jedné tabletě je vždy uveden na krabičce od preparátu, anebo v příbalovém letáku.

### Princip není v prozatímní verzi zahrnut

### Přístroje a pomůcky

Kapalinový chromatograf ECOM Sapphire 800 s UV-Vis detektorem.

#### Chromatografické podmínky

- kolona: 205 × 4 i.d. 5 μm Tessek Separon C18
- mobilní fáze: CH<sub>3</sub>OH (gradient grade):voda:CH<sub>3</sub>COOH (55:44:1)
- detekce: UV absorpce při 236 nm
- nástřik: 10 μl
- průtoková rychlost: 0,5 ml min<sup>-1</sup>

### Postup

- asi 10 mg standardu kyseliny acetylsalicylové, kyseliny salicylové a kyseliny askorbové se přesně naváží do tří 50 ml odměrných baněk a rozpustí se v roztoku o stejném složení jako má mobilní fáze a doplní se přesně po rysku.
- přesně zvážená tableta léčiva se rozdrtí a kvantitativně převede do 100 ml Erlenmeyerovy baňky a následně se extrahuje přesně 50 ml methanolu 10 minut v ultrazvukové lázni. Asi 2 ml extraktu se přefiltrují přes diskový mikrofiltr nasazený na injekční stříkačce a z filtrátu se odpipetuje přesně 1 ml do 50 ml odměrné baňky a doplní se roztokem o stejném složení, jako má mobilní fáze přesně po rysku.

### Zpracování výsledků

- píky se integrují a vyhodnotí se plochy účinné látky ve vzorcích a standardech. Z údajů se vypočítá metodou vnějšího standardu obsah účinné látky v jedné tabletě a srovná se s deklarovaným obsahem (mg v 1 tbl.). Obsah acetylsalicylové kyseliny ve standardu považujeme za 99,5 %.
- obsah kyseliny askorbové se vypočte stejným postupem jako u acetylsalicylové kyseliny. Čistota standardu je 100 %.
- obsah hydrolytických produktů hlavní složky (kyselina salicylová) se stanoví metodou vnitřní normalizace přímo odečtením procent plochy píku z celkové plochy všech píků.

- do protokolu uveďte obsah kyseliny acetylsalicylové a kyseliny askorbové v mg/tabletu. Obsah kyseliny salicylové v %/tabletu. Dále vypočtete procentuální obsah kyseliny acetylsalicylové a kyseliny askorbové v tabletě.

### **Kontrolní otázky**

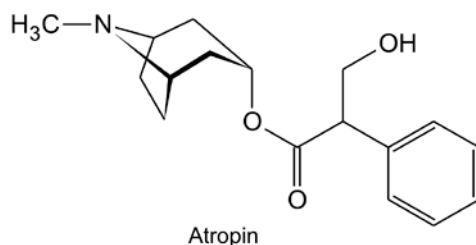
1. Popište princip HPLC (podstata metody, základní části kapalinového chromatografu).
2. Vyjmenujte detektory pro HPLC a popište hlavní rozdíly v jejich použití.
3. Vysvětlete pojmy „mrtvý čas“ a „retenční čas“.
4. Jaký je princip metody vnějšího standardu a metody vnitřního standardu?
5. Vysvětlete zásadní rozdíly mezi HPLC a GC.

## 7. Průkaz alkaloidů tropanové řady pomocí tenkovrstvé chromatografie

### Úvod

Alkaloidy jsou dusíkaté látky vznikající metabolickou přeměnou aminokyselin, popř. i jiných prekurzorů (pseudoalkaloidy) především v organismu rostlin a hub. Jeden nebo i více atomů dusíku aminového typu jsou buď zabudovány v heterocyklickém kruhu nebo v alifatickém řetězci. Většina alkaloidů vykazuje výraznou biologickou aktivitu. Řada z nich se využívá terapeuticky, některé jsou významné jedy. Tropanové alkaloidy mají ve své struktuře typický bicyklický pyrrolidin-piperidinový skelet – azabicyklo[3,2,1] oktan.

Mezi nejvýznamnější alkaloidy tropanové řady patří atropin, hyoscyamin, kokain a skopolamin. Jejich zdrojem v přírodě jsou zejména rostliny z čeledi lilkovitých (durmany, ruřík zlomocný a blín).



Průkazem alkaloidů v rostlinném materiálu se rozumí jejich identifikace některou z analytických technik, jako jsou infračervená spektrometrie, hmotnostní spektrometrie. Mezi nejméně náročné techniky identifikace patří i tenkovrstvá chromatografie (TLC). Aby mohl být proveden průkaz alkaloidu v rostlinném materiálu (listy, plody apod.), je nutné nejdříve provést jejich extrakci a ve většině případů také jejich zakoncentrování. Extrakce slouží k odstranění dalších látek, které rostlinný materiál obsahuje, a které by při další analýze působily rušivě. Zakoncentrování je ve většině případů nutné, protože obsah alkaloidů je v rostlinách velmi malý.

TLC pak slouží k rychlému a účinnému rozdělení jednotlivých extrahovaných a zakoncentrovaných látek. Pro detekci rozdělených látek na chromatografické desce se využívá kombinace UV-detekce a postřik jednotlivých separovaných látek detekčními činidly. Srovnáním separace a detekce se standardy prokazovaných látek je možné potvrdit jejich přítomnost ve studovaném rostlinném materiálu.

### Princip

Alkaloidy tropanové řady je možné z rostlinného materiálu izolovat extrakcí do diethyletheru v bazickém prostředí, kdy jsou alkaloidy neutrální. Po odpaření diethyletheru se vzorek rozpustí v 1 ml ethanolu a nanese se na chromatografickou desku, kde dojde k separaci složek vzorku. Po vyvíjení se provede detekce pomocí UV-záření a postřikem činidly. Dragendorffovo činidlo tvoří s alkaloidy hnědo-oranžové sraženiny příslušných tetrajodobizmutitanů.



## Pomůcky a chemikálie

- Chromatografická vana s krycím sklem, pipety, Erlenmayerovy baňky, kádinky, porcelánová odpařovací miska, vakuová sušárna, dělicí nálevka, mikrozkušavka typu Eppendorf, tenkostěnné kapilárky nebo mikropipeta, tužka a pravítko, rozprašovač, UV-lampa (254 a 366 nm)
- Diethylether, NaOH (50%, w/v), HCl (1:1, v/v), bezvodý Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Vyvíjecí soustava: ethylacetát - methanol - koncentrovaný amoniak (32 : 4 : 2)
- Detekční činidla: roztok jódu v chloroformu, Dragendorffovo činidlo (tetrajodobizmutitan draselný)

## Postup

- Předložený vzorek (1 – 3 g) vysušeného rostlinného materiálu rozetřete v třecí misce na prášek a převedte do dělicí nálevky. Přidejte 20 ml destilované vody, 20 ml diethyletheru a několik kapek 50% NaOH.
- Směs v dělicí nálevce třepejte asi 5 minut. Po úplném oddělení fází (lze podpořit odstředěním směsi přenesené do centrifugační zkumavky) odeberte opatrně pipetou horní organickou fázi a přeneste ji do Erlenmayerovy baňky se 2 lžičkami bezvodého síranu sodného.
- K vodné fázi v dělicí nálevce přidejte dalších 20 ml diethyletheru a extrakci opakujte. Etherické extrakty spojte, přelijte do odpařovací misky a přidejte 3 kapky HCl (1:1). Extrakt odpařte do sucha ve vakuové sušárně při teplotě 94 °C.
- Odparek na porcelánové misce rozpustěte v 1 ml ethanolu a převedte do mikrozkušavky.
- Do chromatografické vany nalijte čerstvě připravenou mobilní fázi o složení ethylacetát : methanol : amoniak (34 : 4 : 2), přikryjte krycím sklem a nechejte minimálně 15 minut chromatografickou komoru nasytit parami mobilní fáze.
- Podle pokynů vedoucího cvičení připravte TLC desku a naneste na tužkou označená místa startů standardy alkaloidů (jsou již dopředu připraveny).
- Naneste vyextrahovaný vzorek rostlinného materiálu (pozor: nanášet 10x opakovaně, aby došlo ke zkoncentrování).
- Chromatografickou desku vložte do chromatografické komory (hladina vyvíjecí lázně musí být pod startem a s ním rovnoběžná) a nechejte vzestupně vyvíjet. Při vyvíjení je dobře patrný postup čela rozpouštědla. Nechejte vyvíjet tak dlouho, až čelo rozpouštědla dosáhne vzdálenosti asi 1 cm od horního okraje.
- V průběhu vyvíjení chromatogramu připravte Dragendorffovo činidlo: rozpustěte na špičku špachtle dusičnanu bizmutitého v co nejmenším nadbytku 3% vodného roztoku jodidu draselného. Nejprve vzniká tmavá sraženina jodidu bizmutitého, která se v nadbytku jodidu rozpouští na pomerančově zbarvený tetrajodobizmutitan.
- Chromatogram vytáhněte z komory, rychle zaznačte tužkou čelo rozpouštědla a přebytečné rozpouštědlo nechte volně odpařit.
- Po odpaření rozpouštědla vložte chromatogram pod UV-lampu a při vlnových délkách 254 nm a 366 nm sledujte zhášení fluorescence tenké vrstvy a případnou fluorescenci skvrn standardů i extraktu. Skvrny, které zháší fluorescenci nebo samy fluoreskují, zakroužkujte tužkou.
- Postříkejte chromatografickou desku Dragendorffovým činidlem a poté jodem rozpuštěným v chloroformu. Pozitivní reakcí jsou hnědé skvrny na žlutém pozadí.

### **Zpracování výsledků**

- Odečtete vzdálenosti středů skvrn a čela rozpouštědla od startu a vypočtete retenční (retardační) faktory  $R_f$  standardů a složek vzorku.
- Na základě porovnání hodnot  $R_f$  vzorku a standardů provedte identifikaci složek směsi.
- Chromatogram překreslete v poměru 1:1 na papír nebo vyfoťte a přiložte k protokolu.

### **Kontrolní otázky**

1. Popište princip TLC (podstata metody, používané sorbenty).
2. Uveďte způsoby identifikace analytů v TLC.
3. Proč se při extrakci bazických či kyselých analytů upravuje pH?
4. Jaké jsou možnosti kvantitativního vyhodnocení v TLC?
5. Popište princip prováděné úlohy.

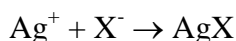
## 8. Srážení titrace – argentometrie s vizuální a potenciometrickou indikací

### Úvod

Potenciometrie je instrumentální metoda velmi často používaná v odměrné analýze (volumetrii) k objektivní indikaci bodu ekvivalence. Sleduje se závislost rovnovážného napětí elektrochemického článku tvořeného vhodnou indikační a referentní elektrodou, které jsou ponořeny do titrovaného roztoku, na objemu přidávaného odměrného roztoku. Měřená závislost má tvar sigmoidy, jejíž inflexní bod odpovídá bodu ekvivalence. Potenciometricky lze indikovat všechny typy titrací, včetně titrací srážecích, u nichž vznik zákalu nebrání spolehlivému určení bodu ekvivalence. Ze srážecích titrací nejčastěji prováděné jsou titrace argentometrické, tedy titrace stříbrnými ionty, jimiž lze stanovit halogenidy (chloridy, bromidy a jodidy), kyanidy, thiokyanatany, sulfidy a řadu dalších aniontů.

### Princip

Argentometrické stanovení halogenidů je založeno na reakci iontů  $\text{Ag}^+$  s ionty halogenidu  $\text{X}^-$  za vzniku málo rozpustného halogenidu stříbrného:



V bodě ekvivalence je koncentrace obou iontů dána součinem rozpustnosti  $K_S(\text{AgX})$  vzniklé soli. Titrčním činidlem bývá nejčastěji odměrný roztok  $\text{AgNO}_3$ . Základní látkou, na kterou se určuje titr odměrného roztoku, je  $\text{NaCl}$ .

Při **vizuální indikaci dle Mohra** se používá jako indikátor roztok  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ . Koncentrace indikátoru musí být taková, aby se  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  začal srážet až v okamžiku, kdy koncentrace iontů  $\text{Ag}^+$  dosáhla hodnoty odpovídající bodu ekvivalence. Konec titrace je indikován vznikem červenohnědé sraženiny chromanu stříbrného:



Tato metoda je vhodná pro stanovení **chloridů**, méně vhodná pro stanovení bromidů a nevhodná pro jodidy.

Argentometrické titrace lze indikovat také **potenciometricky se stříbrnou indikační elektrodou**, jejíž potenciál  $E$  závisí na koncentraci stříbrných a halogenidových iontů podle Nernstovy rovnice (pro  $25^\circ\text{C}$ ):

$$E = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 + 0,059 \log[\text{Ag}^+] = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 + 0,059 \log K_S(\text{AgX}) - 0,059 \log[\text{X}^-]$$

Jako referentní se používá merkurosulfátová elektroda. Při potenciometrické titraci směsi halogenidů se na titrační křivce objeví odpovídající počet inflexních bodů vzhledem k rozdílným hodnotám součinů rozpustnosti:

$$K_S(\text{AgCl}) = 1,78 \cdot 10^{-10}$$

$$K_S(\text{AgI}) = 8,32 \cdot 10^{-17}$$

### Úkol

Argentometrickou titrací s vizuální a potenciometrickou indikací stanovte obsah:

1. chloridů v modelovém vzorku
2. chloridů a jodidů v modelové směsi

## Přístroje a chemikálie

- digitální voltmetr, indikační stříbrná elektroda, referentní merkurosulfátová elektroda, magnetická míchačka
- byreta, odměrná baňka, titrační baňky, nálevka, váženka, stříčka, pipety, míchadlo, kádinky
- pevný NaCl čistoty p.a., přibližně 0,01M-AgNO<sub>3</sub>, 5% roztok K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>

## Pracovní postup

### 1. Příprava standardního roztoku NaCl (50 ml)

S přesností na 0,1 mg navažte takové množství NaCl, aby po převedení navážky do 50 ml odměrné baňky, doplnění destilovanou po značku a odpipetování 5 ml tohoto roztoku do titrační baňky odpovídalo množství chloridů spotřebě přibližně 5 ml odměrného roztoku 0,01M-AgNO<sub>3</sub>.

$$M(\text{NaCl}) = 58,443 \text{ g mol}^{-1}$$

### 2. Standardizace odměrného roztoku AgNO<sub>3</sub>

Do titrační baňky odměřte 5 ml standardního roztoku NaCl, přidejte 0,5 ml 5% roztoku K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> a objem roztoku v titrační baňce doplňte na 30 ml. Za stálého míchání titrujte odměrným roztokem AgNO<sub>3</sub>. Titraci ukončete, když se směs trvale zbarví do slabě červenohněda (ostrý žlutý tón přejde na teplejší odstín vznikem malého množství červenohnědé sraženiny Ag<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>) a tento odstín nezmizí ani po míchání. Titraci opakujte nejméně třikrát.

### 3. Stanovení chloridů v modelovém vzorku (dle Mohra)

Předložený vzorek chloridů v 50 ml odměrné baňce doplňte destilovanou vodou po rysku a proveďte titraci podílu 5 ml vzorku postupem uvedeným v bodě 2.

### 4. Argentometrické stanovení iodidů a chloridů vedle sebe s potenciometrickou indikací

Indikační a referentní elektrodu upevněte do držáku u stojánku míchačky a připojte je k voltmetru. Do kádinky odpipetujte 5 ml roztoku vzorku směsi chloridů a jodidů, vložte míchadlo. Kádinku postavte na míchačku a objem vzorku v kádince doplňte destilovanou vodou tak, aby byly obě elektrody ponořeny. Titrujte odměrným roztokem AgNO<sub>3</sub> po 0,5 ml, v okolí bodu ekvivalence pak po 0,2 ml. Po každém přidavku titračního činidla směs promíchejte, vypněte míchačku a po 1 minutě odečtěte potenciál. Stejným postupem pak titrujte 5 ml standardního roztoku NaCl pro kontrolu titru odměrného roztoku AgNO<sub>3</sub>.

## Zpracování výsledků

### Standardizace odměrného roztoku:

Z průměrné spotřeby titračního činidla v bodě ekvivalence a stechiometrie reakce vypočtete molární koncentraci odměrného roztoku AgNO<sub>3</sub> v mol l<sup>-1</sup> s přesností na 4 desetinná místa.

### Stanovení chloridů dle Mohra:

Z průměrné spotřeby titračního činidla v bodě ekvivalence a stechiometrie reakce vypočtete hmotnost chloridů v předloženém vzorku. Výsledek vyjádřete v mg Cl<sup>-</sup> na 50 ml vzorku.

### Stanovení směsi halogenidů potenciometricky:

Z naměřených hodnot napětí v závislosti na objemu titračního činidla sestrojte titrační křivku. Inflexní body odpovídající bodům ekvivalence pro jednotlivé halogenidy určíte buď derivací titrační křivky (první nebo druhou derivací pH podle objemu, např. pomocí software Origin) nebo počteně z druhých diferencí:

$$V_x = V^+ + \Delta V \frac{\Delta^2 E^+}{\Delta^2 E^+ + |\Delta^2 E^-|}$$

kde  $V_x$  je hledaný objem činidla,  $V^+$  – objem činidla odpovídající poslední kladné druhé diferencí  $E$ ,  $\Delta V$  – konstantní přírůstek činidla, který se přidává v okolí ekvivalence,  $\Delta^2 E^+$  a  $\Delta^2 E^-$  – poslední kladná a první záporná druhá diference  $E$ .

Podobně zpracujte i data z titrace roztoku NaCl. Ze spotřeby v bodě ekvivalence vypočítejte titer odměrného roztoku a porovnejte ho s titrem určeným metodou podle Mohra. Pro větší správnost použijte k výpočtu obsahu chloridů a jodidů ve vzorku titer určený potenciometricky.

Výsledky vyjádřete v mg  $\text{Cl}^-$  a  $\text{I}^-$  na 50 ml vzorku.

$$M(\text{Cl}^-) = 35,453 \text{ g mol}^{-1}$$

$$M(\text{I}^-) = 126,904 \text{ g mol}^{-1}$$

### **Literatura**

1. Barek J., Opekar F., Štulík K.: Elektroanalytická chemie. Karolinum, Praha 2005.
2. Holzbecher Z., Churáček J.: Analytická chemie. SNTL, Praha 1987.
3. Vytřas K.: Kapitoly ze současné potenciometrie, druhé doplněné vydání. Univerzita Pardubice, Alit, Praha 1997.

### **Kontrolní otázky**

1. Vysvětlete princip argentometrických titrací a popište způsoby vizuální indikace bodu ekvivalence.
2. Které instrumentální techniky se používají k indikaci bodu ekvivalence u srážecích titrací?
3. Jak je definován potenciál stříbrné elektrody v prostředí halogenidů?
4. Které referentní elektrody lze použít pro potenciometrickou indikaci argentometrického stanovení halogenidů a proč?
5. Popište způsoby vyhodnocení potenciometrické titrační křivky.

## 9. Přímá potenciometrie s fluoridovou iontově-selektivní elektrodou

### Úvod

Potenciometrie je jednoduchá elektroanalytická metoda používaná v praxi především pro měření pH a stanovení iontových složek různých kapalných vzorků. Je založena na měření rovnovážného napětí elektrochemického článku tvořeného dvěma elektrodami – indikační a referentní – ponořenými do analyzovaného roztoku. Napětí se měří za podmínek, kdy elektrochemickým článkem neprochází elektrický proud, tzn. že neprobíhají elektrochemické reakce, při nichž by se měnilo chemické složení analyzovaného roztoku.

Potenciometrická analýza se v praxi provádí ve dvou základních variantách: přímá potenciometrie a potenciometrické titrace. V přímé potenciometrii se analyt stanovuje z hodnot změřeného napětí, a to buď výpočtem, nebo častěji z kalibrační křivky, příp. metodou standardního přídávku. Potenciál indikačních elektrod je logaritmickou funkcí aktivity látek účastnících se příslušné redoxní či výměnné reakce. Aby bylo možno v rovnicích pro potenciál nahradit aktivitu koncentrací, která je pro chemickou analýzu důležitější, nesmí se aktivní koeficient analytu měnit s jeho koncentrací. Toho se dosahuje přidávkem indiferentního elektrolytu, který zajišťuje konstantní iontovou sílu roztoku a tím i konstantní aktivní koeficienty. Vhodnými elektrolyty jsou např. komerčně dostupné roztoky označované jako TISAB (total ionic strength adjustment buffer), které udržují v analyzovaných roztocích jak konstantní iontovou sílu, tak i pH.

Pro přímou potenciometrii mají největší význam membránové elektrody, které jsou základem iontově selektivních elektrod (ISE). Pomocí ISE lze stanovit ty ionty, které se účastní rovnovážné výměny mezi roztokem a membránou. Nejstarší a v praxi nejpoužívanější je ISE se skleněnou membránou pro měření pH. Druhou nejspolehlivější je fluoridová elektroda (F-ISE). Stanovení fluoridů pomocí F-ISE je velmi selektivní. Jediným interferujícím iontem je  $\text{OH}^-$  (koeficient selektivity  $k_{\text{F}^-, \text{OH}^-} = 0,1$ ).

### Princip

Koncentrace fluoridových iontů v roztoku se zjišťuje z rovnovážného potenciálu elektrochemického článku tvořeného indikační F-ISE a referentní nasycenou kalomelovou elektrodou (SCE). F-ISE je tvořena membránou – krystalem  $\text{LaF}_3$  s malou příměsí  $\text{EuF}_2$ , který zvyšuje vodivost membrány. Tato membrána odděluje vnitřní standardní roztok 0,1M-NaF s vnitřní referentní Ag/AgCl elektrodou a vnější měřený roztok. Membránový potenciál je výsledkem rozdílné rozpustnosti  $\text{LaF}_3$  na protilehlých stranách membrány a je dán vztahem:

$$E = K - \frac{RT}{F} \log([\text{F}^-] + 0,1 [\text{OH}^-])$$

kde  $K$  je konstanta zahrnující potenciály obou referentních elektrod (vnitřní Ag/AgCl a vnější SCE), kapalinové potenciály, asymetrický potenciál a aktivitu  $\text{F}^-$  ve vnitřním roztoku. Vzhledem k interferenci iontů  $\text{OH}^-$  je nutné udržovat kyselé pH měřeného roztoku, optimálně kolem hodnoty pH 5,6.

### Úkol

Stanovte obsah fluoridů v předloženém modelovém vzorku, minerální vodě a zubní pastě.

## Přístroje a chemikálie

- digitální pH/mV-metr s fluoridovou iontově-selektivní elektrodou (obr. 9-1), nasycená kalomelová elektroda, magnetická míchačka, ultrazvuková lázeň
- přenosný pH-metr H138 miniLab ISFET (obr. 9-2)
- 50 ml PE-odměrné baňky, 50 ml PE-kádinky, pipeta 5 ml (nedělaná), pipeta 5 ml (dělená), teflonové míchadlo, skleněná tyčinka, čtverečky buničiny, stříčka s destilovanou vodou
- zásobní roztok 0,05M-NaF, octanový pufr pH 5,6, kalibrační pufrы pH = 4,0 a pH = 7,0



Obrázek 9-1: Fluoridová iontově selektivní elektroda (Monokrystaly, Turnov)

## Pracovní postup

### 1. Příprava kalibračních roztoků

Ze standardního roztoku 0,0500M-NaF připravte do označených odměrných baněk o objemu 50 ml řadu šesti kalibračních roztoků s výslednou koncentrací fluoridových iontů v mol l<sup>-1</sup>:

$$1 \cdot 10^{-2} \quad 1 \cdot 10^{-3} \quad 1 \cdot 10^{-4} \quad 1 \cdot 10^{-5} \quad 3 \cdot 10^{-6} \quad 1 \cdot 10^{-6}$$

Roztoky připravte metodou postupného ředění. Vzhledem k nutnosti udržovat optimální rozmezí pH při měření s F-ISE musí každý z kalibračních roztoků obsahovat **5 ml octanového pufru** o pH = 5,6 (OP). Během přípravy a ředění nezapomeňte jednotlivé kalibrační roztoky v odměrných baňkách dobře promíchat!

### 2. Příprava vzorků k analýze

Modelový vzorek: K předloženému modelovému vzorku přidejte 5 ml OP a doplňte destilovanou vodou po rysku.

Minerální voda: Předložený vzorek přelijte do kádinky a na ultrazvukové lázni jej zbavte rozpuštěného CO<sub>2</sub>. Do připravené 50 ml odměrné baňky pak odpipetujte 40 ml odplyněného vzorku, přidejte 5 ml OP a doplňte vodou na požadovaný objem.

Zubní pasta: Do připravené kádinky navažte (pomocí kopisti) s analytickou přesností asi 1 g zubní pasty. Do kádinky pak přidejte 5 ml OP a maximálně 20 ml vody. Intenzivním mícháním skleněnou tyčinkou a působením ultrazvuku převed'te veškerou pastu do suspendovaného stavu (mléčné konzistence), až v kádince nezůstanou viditelné kousky nerozmíchané pasty. Poté, až usedne vytvořená pěna, suspenzi kvantitativně převed'te do označené odměrné baňky o objemu 50 ml a doplňte vodou po rysku.

### Měření pH:

- U všech připravených roztoků zkontrolujte pH pomocí přenosného pH-metru ISFET (obr. 9-1).
- Nejprve pH-metr nakalibrujte: kapku kalibračního roztoku pH = 7 naneste na membránu ISFETu tak, aby smáčela fritu referentní elektrody, zapněte pH-metr a

stiskněte tlačítko CAL1. Vyčkejte, až se na displeji ustálí hodnota pH 7,00. Pak čidlo pH-metru opláchněte destilovanou vodou, jemně osušte čtverečkem buničiny a naneste na něj kapku kalibračního roztoku pH = 4. Po stisknutí tlačítka CAL2 vyčkejte ustálení hodnoty pH 4,00.

- Nakalibrovaným pH-metrem postupně změřte pH všech připravených kalibračních roztoků a roztoků vzorků. Hodnota pH by měla být v rozmezí  $5,6 \pm 0,2$ .
- Pro případnou úpravu pH použijte roztoky 0,2 M-CH<sub>3</sub>COOH resp. 0,2 M-CH<sub>3</sub>COONa, které podle potřeby dávkujte dělenou pipetou do jednotlivých roztoků za stálého míchání a kontroly pH čidlem pH-metru ponořeným do roztoku. Objem roztoků CH<sub>3</sub>COOH nebo CH<sub>3</sub>COONa přidaných k roztokům analytických vzorků přičtete k jejich celkovému objemu a tento objem použijete při přepočtu obsahu analytu v původním vzorku.
- Po ukončení měření pH-metr vypněte a čidlo zakrytujte.



**Obrázek 9-2.** pH-metr H138 miniLab ISFET

### 3. Měření kalibračních roztoků a analýza vzorků

- Zapněte pH/mV-metr hlavním spínačem a tlačítkem M nastavte měření potenciálu v mV.
- Obě elektrody, indikační F-ISE a referentní SCE upevněné ve stojanu, ponořte do prvního kalibračního roztoku ( $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1} \text{ F}^-$ ). Elektrody ponechte asi 3 min v prvním kalibračním roztoku pro nutnou regeneraci membrány F-ISE.
- Poté elektrody vyjměte, důkladně opláchněte vodou a opatrně osušte čtverečkem buničiny (vyhněte se dotyku s membránou).
- Postupně proměřte za stálého míchání všechny kalibrační roztoky (postupujete od nejnižší k nejvyšší koncentraci). Příslušnou hodnotu potenciálu (mV) odečítejte v míchaných roztocích až v ustáleném stavu, jehož dosažení, zejména u velmi zředěných roztoků, může trvat i několik minut. Při výměně jednotlivých roztoků nezapomeňte opláchnout a osušit obě elektrody.
- Roztoky vzorků změřte stejným postupem jako kalibrační roztoky.
- Po ukončení měření elektrody důkladně opláchněte destilovanou vodou a osušte.

### **Zpracování výsledků**

- Sestrojte kalibrační křivku  $E$  vs.  $-\log c_{\text{F}^-}$  (pF) pro dané koncentrace použitých



kalibračních

roztoků. Z podílu zvolených úseků  $\Delta E$  a  $\Delta pF$  odpovídajících lineární části kalibrační závislosti vypočtete směrnici a porovnejte ji s teoretickou hodnotou ( $-0,059$  V pro  $25^\circ\text{C}$ ).

- Kalibrační křivku využijte k určení koncentrace fluoridů v předložených vzorcích: z naměřených hodnot potenciálu  $E_x$  vypočítáte z rovnice kalibrační přímky příslušnou hodnotu  $pF_x$  a z ní  $c_{F^-}$ . Pokud odezva vzorku  $E_x$  leží v nelineární části kalibrační křivky, použijte k výpočtu  $c_{F^-}$  rovnici přímky proložené dvěma okolními kalibračními body.
- Výsledný obsah fluoridů ve vzorcích vyjádřete v **mg  $F^-$  na 50 ml** modelového vzorku, v **mg  $F^-$  na litr** minerálky a hmotnostním zlomkem v **ppm** nebo **%  $F^-$**  v zubní pastě.

$$A(F) = 18,99 \text{ g mol}^{-1}$$

### Literatura

1. Barek J., Opekar F., Štulík K.: Elektroanalytická chemie. Karolinum, Praha 2005.
2. Skopalová J., Kotouček M., Adamovský P.: Výpočty z elektroanalytických metod. <http://ach.upol.cz/ucebnice2/>.

### Kontrolní otázky

1. Vysvětlete princip rovnovážné potenciometrie, způsoby a podmínky měření potenciálu.
2. Popište uspořádání elektrochemického článku pro potenciometrická měření.
3. Které typy elektrod se používají v potenciometrii?
4. Co jsou iontově selektivní elektrody a jak je definován jejich potenciál?
5. Jaké pH musí mít vzorek pro měření fluoridů pomocí F-ISE a proč?

## 10. Coulometrie za konstantního proudu (coulometrická titrace)

### Úvod

Coulometrie je elektroanalytická metoda, při níž dochází ke kvantitativní přeměně stanovované látky v roztoku v důsledku elektrolýzy probíhající na pracovní elektrodě. Analytickou informací je elektrický náboj potřebný k úplné přeměně analytu v roztoku. Coulometrickou analýzu lze provádět buď za konstantního potenciálu udržovaného na pracovní elektrodě pomocí potenciostatu (potenciostatická coulometrie) nebo za konstantního proudu udržovaného v elektrolytickém článku galvanostatem (galvanostatická coulometrie).

Galvanostatické metody se nejvíce využívá k tzv. coulometrickým titracím, při nichž se za vhodných podmínek konstantním proudem generuje titrační činidlo, s nímž stanovovaná látka kvantitativně reaguje. Coulometricky lze provádět titrace acidobazické (titračním činidlem jsou  $H^+$  nebo  $OH^-$  ionty generované elektrolýzou vody), srážecí (např. argentometrické, titrační činidlo  $Ag^+$  se tvoří anodickou oxidací stříbrné elektrody), komplexotvorné (činidlem je např. EDTA generovaná redukcí  $HgNH_3EDTA^{2-}$  na Hg katodě) a redoxní, a to jak oxidimetrické (např. titrace generovaným  $Br_2$ ,  $I_2$ ), tak i reduktometrické (činidla jsou např.  $Ti^{3+}$ ,  $Sn^{2+}$ ).

Stejně jako u volumetrie je u coulometrických titrací nutné indikovat bod ekvivalence. To lze provést vizuálně pomocí barevných indikátorů nebo instrumentálně - spektrofotometricky, potenciometricky, amperometricky, bipotenciometricky či biamperometricky. Při potenciometrické indikaci redoxních titrací se nejčastěji využívá indikační Pt elektroda a referentní, např. kalomelová elektroda.

Výhodou coulometrických titrací v porovnání s volumetrií jsou menší stanovitelná množství analytu, možnost titrovat těkavými a málo stálými činidly, činidla není nutno standardizovat a snadná automatizovatelnost titrací.

V praxi se coulometrické titrace často využívají v automatických titrátorech, často specializovaných na určitou aplikaci. Příkladem jsou analyzátory obsahu vody metodou Karl Fischera, analyzátory chloridů nebo analyzátory celkového obsahu síry.

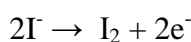
### Princip

Při coulometrické titraci vzniká na generační elektrodě, polarizované konstantním proudem, titrační činidlo elektrochemickou reakcí z vhodného elektrolytu. Vzniklé činidlo se okamžitě spotřebovává reakcí se stanovovanou látkou. Náboj  $Q$  prošlý elektrolytem do okamžiku ekvivalence je dán součinem intenzity generačního proudu a času ( $Q = I \cdot t$ ) a pomocí Faradayova zákona jej lze přepočítat na ekvivalentní množství stanovované látky:

$$m = \frac{M_r \cdot I \cdot t}{n \cdot F},$$

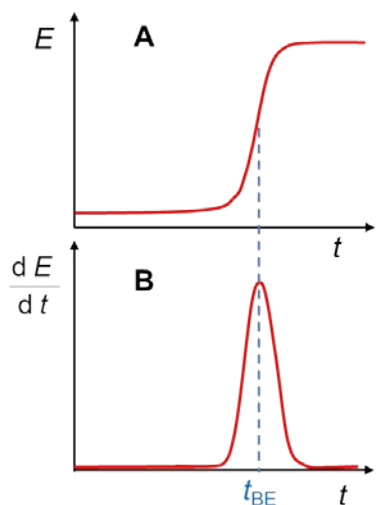
kde  $m$  je množství analytu v gramech,  $I$  proud v ampérech,  $t$  čas v sekundách,  $n$  počet elektronů a  $F = 96\,484,56 \text{ C mol}^{-1}$ .

Při jodometrické titraci se titrační činidlo, jód, generuje oxidací z roztoku KI na anodě:



Konec titrace se indikuje potenciometricky s indikační Pt a referentní nasycenou kalomelovou elektrodou (SCE). V bodě ekvivalence se registruje náhlá změna potenciálu (obr. 10-1A). Bod

ekvivalence leží v inflexním bodě, který se určí z maxima první derivace  $E - t$  křivky (obr. 10-1B).



**Obrázek 10-1.** A – potenciometrická titrační křivka, B – první derivace titrační křivky

## Úkol

V předloženém vzorku stanovte obsah  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  titrací jódem, generovaným anodickou oxidací jodidu.

## Přístroje a chemikálie

- Potenciostat/galvanostat OH-405 s dvojicí Pt generačních elektrod, sestava ISES s modulem voltmetru, Pt indikační elektroda, SCE, elektromagnetická míchačka
- Coulometrická dvoukomorová cela, míchadlo, pipety, kádinky
- Roztoky 0,5M-KI, 0,2M- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,1M-KCl, vzorek  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

## Pracovní postup

- Hlavními vypínači zapněte zdroj konstantního proudu (galvanostat) a PC, kde spusťte program WIN-ISES (ikona na ploše). V programu vyberte zařízení voltmetr a jeho rozsah nastavte přibližně od 0,2 do 0,8V. Dále zvolte vhodnou dobu měření, např. 400 s. Spouštění měření nastavte na manuální.
- Podle návodu nejprve zkontrolujte nastavení nulové polohy potenciostatu a potom nastavte potenciometrem hodnotu generačního proudu. Přepínač SELECTOR je v poloze STANDBY.
- Vzorek thiosíranu v odměrné bance doplňte destilovanou vodou po rysku a důkladně promíchejte. Do širší anodické části elektrolytické nádoby odměřte 10 ml 0,5M-KI, 10 ml 0,2M- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 30 ml destilované vody a 1 ml vzorku thiosíranu. Do úzké části nádoby nalijte roztok 0,1M-KCl tak, aby hladiny v obou nádobkách byly ve stejné výši (aby nedocházelo k nežádoucí difúzi roztoků oddělených fritou).
- Do úzké katodové části coulometrické nádoby ponořte do roztoku 0,1 M-KCl Pt-katodu. V anodické části do analyzovaného roztoku vložte zbývající elektrody - generační, indikační a srovnávací. Aby nedocházelo k nežádoucí difúzi roztoků v obou částech oddělených fritou, doplňte analyzovaný roztok vodou tak, aby hladiny v obou částech

byly ve stejné výši. Pak zapněte elektromagnetické míchání a asi 5 min. počkejte, aby se ustálil potenciál indikační elektrody.

- Referentní elektrodu připojte na (–)pól modulu voltmetru ISES a indikační platinovou elektrodu na (+) pól.
- Pro spuštění vlastní analýzy současně zapněte přívod proudu na generační elektrody (přepínačem SELECTOR na  $I_2$  - pozor na nastavený poměr převodu E/I) a ručně klávesou ENTER odstartujte měření. Na miliampérmetru zdroje zkontrolujte hodnotu generačního proudu, případně ji upravte jemným otáčením potenciometru.
- Ekvivalence se projeví náhlým skokem na  $E - t$  křivce. V elektrolýze pokračujte ještě asi 2 min, dokud se analyzovaný roztok nezačne barvit vyloučeným jódem. Poté ukončete sběr dat kliknutím na ikonu STOP na horní liště okna programu ISES. Před odstartováním dalšího měření inicializujte program kombinací kláves Alt+F9.
- Stanovení opakujte popsáním způsobem nejméně čtyřikrát při různých hodnotách proudu v rozmezí 10 až 4 mA.

### Zpracování výsledků

- Bod ekvivalence vyhodnoťte v programu ISES – zpracování křivek: naměřené křivky derivujte, ukazatelem myši v grafu najedte na maximum na křivce první derivace a odečtěte hodnotu  $x$ -ové souřadnice (čas v bodě ekvivalence). Obsah thiosíranu v celkovém objemu předloženého vzorku vypočtete z Faradayova zákona s použitím hodnot  $t_{BE}$  a příslušného generačního proudu.
- Do protokolu uveďte nalezený obsah  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  v **mg/50 ml vzorku**, který spočítáte jako průměr ze všech paralelních stanovení. Přesnost stanovení udejte relativní směrodatnou odchylkou a intervalem spolehlivosti na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

$$M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 158,114 \text{ g mol}^{-1}$$

### Literatura

1. Berek J., Opekar F., Štulík K.: Elektroanalytická chemie. Karolinum, Praha 2005.
2. Skopalová J., Kotouček M., Adamovský P.: Výpočty z elektroanalytických metod. <http://ach.upol.cz/ucebnice2/>.

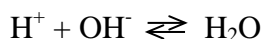
### Kontrolní otázky

- |  |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Co je coulometrie a na čem je založena?</li><li>2. Která základní pracovní uspořádání coulometrie znáte?</li><li>3. Vysvětlete pojem "proudový výtěžek" elektrodové reakce.</li><li>4. Vysvětlete způsoby určení bodu ekvivalence u coulometrických titrací.</li><li>5. Popište podstatu prováděné úlohy.</li></ol> |
|--|

## 11. Neutralizační titrace s potenciometrickou a konduktometrickou indikací

### Úvod

Neutralizační titrace jsou metodami odměrné analýzy (volumetrie) používanými pro stanovení kyselin a zásad. Při stanovení kyselin se zjišťuje objem odměrného roztoku zásady o přesně známé koncentraci (titru), který je třeba přidat ke vzorku, aby bylo dosaženo chemické ekvivalence. Tato metoda se nazývá alkalimetrie. Při stanovení zásad se titruje odměrným roztokem kyseliny, proto se metoda nazývá acidimetrie. Podstatou všech neutralizačních titrací je reakce:



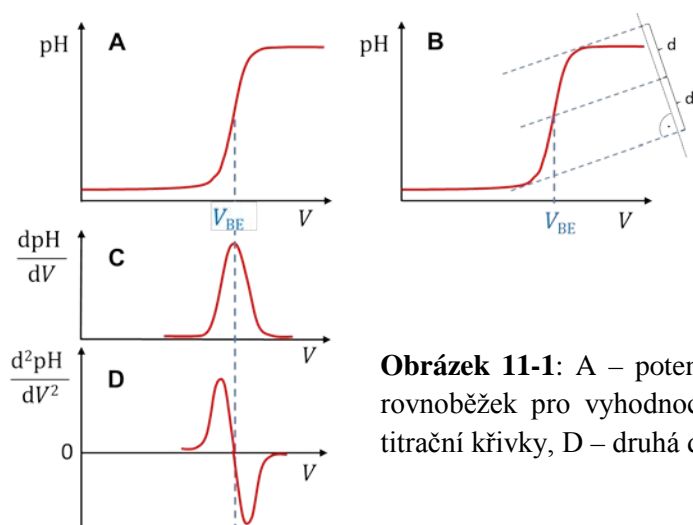
Při neutralizačních titracích se v okolí bodu ekvivalence výrazně mění pH titrovaného roztoku. Proto lze k určení bodu ekvivalence využít potenciometrické měření pH. Při neutralizačních reakcích se také výrazně mění koncentrace iontů s různou pohyblivostí a elektrickou vodivostí, zejména iontů oxoniových a hydroxidových. Tyto změny je možné sledovat konduktometricky a lze je rovněž využít k určení bodu ekvivalence.

### Princip

#### 1. Potenciometrické titrace

Změny pH při neutralizačních titracích lze sledovat potenciometrickým článkem tvořeným vhodnou indikační pH-měrnou elektrodou a referentní (srovnávací) elektrodou. Nejčastěji se jako indikační používá skleněná membránová elektroda, jejíž potenciál závisí na aktivitě oxoniových či hydroxidových iontů v roztoku. Potenciál referentní elektrody je konstantní, nezávislý na změnách pH titrovaného roztoku. Při potenciometrické titraci se sleduje závislost napětí mezi oběma elektrodami na objemu přidávaného titračního činidla. Tato závislost má tvar sigmoidy (obr. 11-1A) s inflexním bodem odpovídajícím bodu ekvivalence.

K vyhodnocení bodu ekvivalence se používají různé metody. Nejčastěji používanou grafickou metodou je metoda tří rovnoběžek (obr. 11-1B). Bod ekvivalence lze velmi přesně určit z maxima první derivace titrační křivky (obr. 11-1C) nebo z druhé derivace jako průsečík křivky s osou  $x$  (obr. 11-1D).



**Obrázek 11-1:** A – potenciometrická titrační křivka, B – metoda tří rovnoběžek pro vyhodnocení bodu ekvivalence, C – první derivace titrační křivky, D – druhá derivace titrační křivky

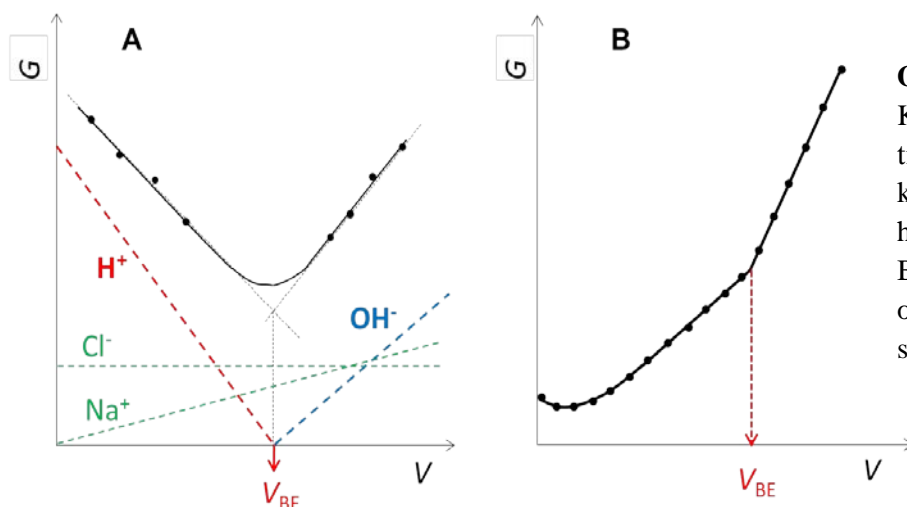
Objem činidla v bodě ekvivalence ( $V_{BE}$ ) se může zjistit také početně z naměřených hodnot pH pro dané objemy přídatku titračního činidla. Využije se druhých diferencí hodnot pH podle vztahu:

$$V_{BE} = V^+ + \Delta V \frac{\Delta^2 \text{pH}^+}{\Delta^2 \text{pH}^+ + |\Delta^2 \text{pH}^-|}$$

kde  $V_{BE}$  je hledaný objem činidla v bodě ekvivalence,  $V^+$  – objem činidla odpovídající poslední kladné druhé diferencí pH,  $\Delta V$  – konstantní přídavek činidla,  $\Delta^2 \text{pH}^+$  a  $\Delta^2 \text{pH}^-$  – poslední kladná a první záporná druhá diference pH.

## 2. Konduktometrické titrace

Konduktometrické titrace jsou založeny na měření změn vodivosti titrovaného roztoku v průběhu titrace. U neutralizačních titrací se využívá několikanásobně větší vodivosti iontů oxoniových a hydroxidových ve vodných roztocích v porovnání s jinými ionty. Při titraci roztoku silné kyseliny silnou zásadou (např. NaOH) je zpočátku vodivost značná v důsledku přítomnosti disociovaných iontů  $\text{H}^+$ . Při titraci jsou velmi vodivé  $\text{H}^+$  ionty vyměňovány za méně vodivé ionty  $\text{Na}^+$  z titračního činidla. Proto vodivost roztoku klesá až do bodu ekvivalence (obr. 11-2A). Po dosažení ekvivalence vodivost titrovaného roztoku opět značně roste v důsledku přídatku vodivých  $\text{OH}^-$  iontů titračního činidla (obr. 11-2A). Bod ekvivalence se určí z průsečíku přímek proložených větvemi titrační křivky před a za bodem ekvivalence (obr. 11-2A).



**Obrázek 11-2:**  
Konduktometrické  
titrační křivky: A - titrace  
kyseliny chlorovodíkové  
hydroxidem sodným;  
B - titrace kyseliny  
octové hydroxidem  
sodným

Při titraci slabé kyseliny (obr. 11-2B) je vodivost na počátku malá, neboť slabé kyseliny jsou v roztoku pouze velmi málo disociované. Vodivost roztoku při titraci pozvolna roste vlivem tvorby soli, která je úplně disociovaná. Po dosažení ekvivalence vodivost roste strměji v důsledku přídatků velmi vodivých  $\text{OH}^-$  iontů, podobně jako při titraci silné kyseliny.

Při titraci směsi silné a slabé kyseliny se potenciometrická a konduktometrická indikace velmi dobře doplňují. Změna pH je po vytitrování silné kyseliny poměrně malá neboť titrovaný roztok je stále kyselý. Proto je skok na titrační křivce nevýrazný. Na konduktometrické titrační křivce se konec titrace silné kyseliny projeví ostrým zlomem. Naproti tomu bod ekvivalence pro slabou kyselinu je na potenciometrické křivce vyznačen strmým skokem, kdežto na vodivostním záznamu je úhel průsečíku obou větví konduktometrické křivky tupý. Pro standardizaci odměrného roztoku NaOH na kyselinu šťavelovou se používá pouze potenciometrická indikace.

## Úkol

Alkalimetrickou titrací se současnou potenciometrickou a konduktometrickou indikací stanovte obsahy kyselin:

- chlorovodíkové v modelovém vzorku
- chlorovodíkové a octové v modelové směsi
- octové v prodejním octu

## Přístroje a chemikálie

- pH-metr s kombinovanou skleněnou elektrodou, konduktometr s vodivostní celou, magnetická míchačka
- byreta (louhovka), 100 ml odměrná baňka, nálevka, váženka, 100 ml odměrný válec, stříčka, pipety, míchadlo, kádinky
- NaOH p.a., 20% roztok  $\text{CaCl}_2$ , roztok kyseliny šťavelové přesné koncentrace na standardizaci odměrného roztoku NaOH

## Pracovní postup

### 1. Příprava odměrného roztoku 0,5M-NaOH (100 ml)

Do kádinky navažte vypočtené množství pevného hydroxidu (navýšené asi o 10 % jako korekce na obsah uhlíčitanu a vody), rozpusťte v menším množství destilované vody, přelijte do 100 ml odměrné baňky a doplňte dest. vodou po značku.

$$M(\text{NaOH}) = 40,00 \text{ g mol}^{-1}$$

### 2. Kalibrace pH-metru

Zapněte pH metr síťovým spínačem. Kombinovanou skleněnou elektrodu upevněte ve stojanu, opláchněte ji destilovanou vodou, jemně osušte tělo elektrody čtverečkem buničiny (**pozor, nedotýkejte se skleněné membrány!**) a ponořte ji do polyethylenové nádoby s pufrům o  $\text{pH} = 7$ . Na přístroji stiskněte tlačítko **CAL** (na displeji se objeví „Ct1“) a pak tlačítko **RUN ENTER**. Vyčkejte, až se na displeji objeví „Ct2“. Poté elektrodu vyjměte z roztoku, opláchněte ji, osušte a ponořte do pufru o  $\text{pH} = 4$ . Opět stiskněte tlačítko **RUN ENTER**. Po zkalibrování se na displeji zobrazí hodnota směrnice závislosti  $E - \text{pH}$  (teroreticky 59 mV při 25 °C). Stisknutím tlačítka **M** přepněte přístroj do režimu měření.

**Pozor!** Skleněnou elektrodu nenechávejte na suchu ani v destilované vodě. Pokud s ní neměříte, ponořte ji do roztoku 3M-KCl.

### 3. Stanovení titru odměrného roztoku 0,5M-NaOH

Nedělenou pipetou odměřte do kádinky předem vypočítaný objem standardního roztoku kyseliny šťavelové (přesná koncentrace kyseliny je udána na zásobní lahvi, spotřeba hydroxidu by měla činit polovinu až dvě třetiny celkového objemu byrety), zřed'te potřebným množstvím vody tak, aby membrána a teplotní čidlo skleněné elektrody byly ponořené v roztoku a přidejte 5 ml 20%  $\text{CaCl}_2$ . Vložte míchadlo a za stálého míchání titrujte odměrným roztokem NaOH z byrety po 0,2 ml. Po každém přidavku zaznamenejte hodnotu pH. Vodivost v tomto případě není třeba sledovat, protože v důsledku vysoké koncentrace  $\text{CaCl}_2$  jsou změny vodivosti nevýrazné.

#### 4. Příprava měření vodivosti

Vodivostní celu upevněte do stojanu vedle kombinované skleněné elektrody. Konduktometr zapněte tlačítkem **ON**. Pro měření stiskněte tlačítko **READ**. Hodnotu vodivosti zaznamenejte po pípnutí (přestane blikat desetinná tečka a v levém horním rohu se objeví symbol  $\sqrt{A}$ ).

#### 5. Stanovení obsahu HCl ve vzorku titrací s potenciometrickou a konduktometrickou indikací

Odměrnou baňku (50 ml) s předloženým vzorkem doplňte destilovanou vodou po rysku a důkladně promíchejte. Do měrné kádinky odpipetujte **5 ml** roztoku vzorku a zřeďte 95 ml destilované vody (odměřte válcem). Kádinku postavte na elektromagnetickou míchačku, vložte míchadlo a opatrně ponořte kombinovanou skleněnou elektrodu a vodivostní celu. Spusťte míchání (**míchadlo nesmí narážet do elektrod!**). Titrujte odměrným roztokem po 0,2 ml za neustálého míchání. Po každém přidavku činidla vyčkejte ustálení hodnot pH a vodivosti na displejích a zapište si je do laboratorního deníku. Po ukončení titrace pečlivě opláchněte skleněnou elektrodu i konduktometrickou celu!

#### 6. Stanovení obsahu HCl a CH<sub>3</sub>COOH ve směsi

Postupujte stejně jako v bodě 5.

#### 7. Stanovení CH<sub>3</sub>COOH v octu

K titraci odměřte do kádinky **2 ml** vzorku octa a nařeďte na 100 ml destilovanou vodou. Dále postupujte stejně jako v bodech 5 a 6.

### **Zpracování výsledků**

Titř odměrného roztoku NaOH ( $\text{mol l}^{-1}$ ) určete s přesností na 4 desetinná místa.

Pro jednotlivá stanovení sestrojte z naměřených hodnot titrační křivky:

$$\text{pH} = f(V_{\text{NaOH}})$$

$$G_{\text{kor}} = f(V_{\text{NaOH}})$$

kde  $G_{\text{kor}} = G \cdot \frac{V_{\text{NaOH}} + V_0}{V_0}$  je korigovaná vodivost,  $V_0$  – počáteční objem titrovaného roztoku.

U potenciometrické indikace určete spotřebu činidla v bodě ekvivalence  $V_{\text{BE}}$  početně z druhých diferencí:

$$V_{\text{BE}} = V^+ + \Delta V \frac{\Delta^2 \text{pH}^+}{\Delta^2 \text{pH}^+ + |\Delta^2 \text{pH}^-|}$$

kde  $V_{\text{BE}}$  je hledaný objem činidla,  $V^+$  – objem činidla odpovídající poslední kladné druhé diferencí pH,  $\Delta V$  – konstantní přidavek činidla,  $\Delta^2 \text{pH}^+$  a  $\Delta^2 \text{pH}^-$  – poslední kladná a první záporná druhá diference pH.

U konduktometrické indikace určíte bod ekvivalence jako průsečík přímků proložených lineárními úseky titrační křivky před a za bodem ekvivalence.

Obsah HCl a CH<sub>3</sub>COOH v modelových vzorcích vyjádřete v **mg/50 ml**. Obsah CH<sub>3</sub>COOH v octu vyjádřete **hmotnostním zlomkem (%)**. Uvažujte hustotu octa  $1 \text{ g cm}^{-3}$ .

$$M(\text{HCl}) = 36,465 \text{ g mol}^{-1}$$

$$M(\text{CH}_3\text{COOH}) = 60,054 \text{ g mol}^{-1}$$



## Literatura

1. Holzbecher Z., Churáček J.: Analytická chemie. SNTL, Praha 1987.
2. Zýka J. a kol.: Analytická příručka, díl I. SNTL, Praha 1988.

## Kontrolní otázky

1. Vysvětlete pojem pH a princip jeho měření.
2. Jak funguje skleněná elektroda? Vysvětlete pojmy "asymetrický potenciál", alkalická a kyselá chyba skleněné elektrody.
3. Proč a jak se kalibruje pH-metr?
4. Vysvětlete princip a uveďte příklady využití vodivostních měření.
5. Popište průběhy potenciometrických a konduktometrických titračních křivek pro různé acidobazické systémy a způsoby vyhodnocení bodu ekvivalence.

## 12. Polarografie a voltametrie

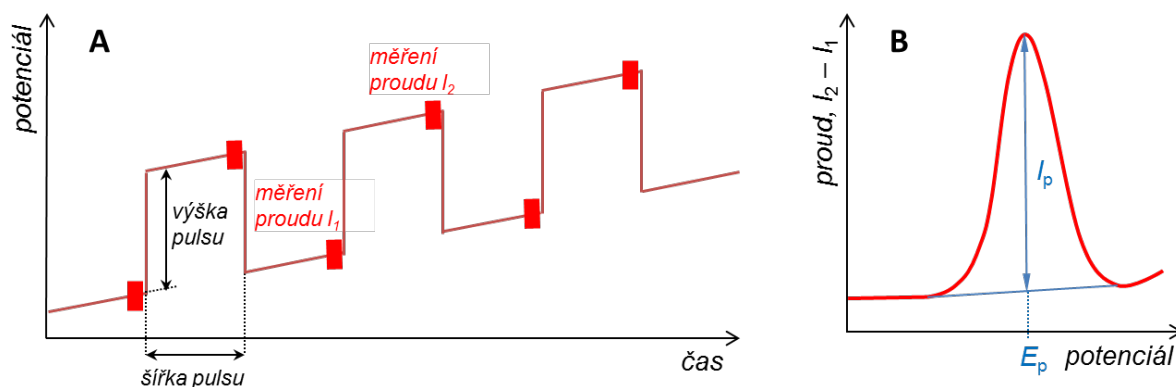
### Úvod

Polarografie a voltametrie jsou analytické metody, při nichž se sleduje proud procházející pracovní elektrodou ponořenou do analyzovaného roztoku v závislosti na potenciálu, který se na tuto elektrodu vkládá z vnějšího zdroje. V přítomnosti analytu při vhodném potenciálu, charakteristickém pro daný analyt, prochází elektrodou elektrolytický proud, jehož velikost je přímo úměrná koncentraci analytu v roztoku. Název polarografie náleží voltametrickým metodám, které používají jako pracovní kapající rtuťovou elektrodu.

Objev polarografie Jaroslavem Heyrovským se datuje k 10. 2. 1922. Za rozvoj této metody, která byla až do konce 50. let minulého století jednou z nejdůležitějších metod v analytické chemii, obdržel prof. Heyrovský Nobelovu cenu (1959). V současnosti se již klasická polarografie nevyužívá k analytickým účelům, neboť není pro většinu dnešních aplikací dostatečně citlivá. Stala se však základem dnes používaných velmi citlivých metod, z nichž zejména rozpouštěcí voltametrie patří k nejcitlivějším analytickým metodám. Diferenční pulsní anodická rozpouštěcí voltametrie (DPASV – differential pulse anodic stripping voltammetry) umožňuje stanovit v roztocích stopová množství iontů kovů (v řádu  $\text{nmol l}^{-1}$ ).

### Princip

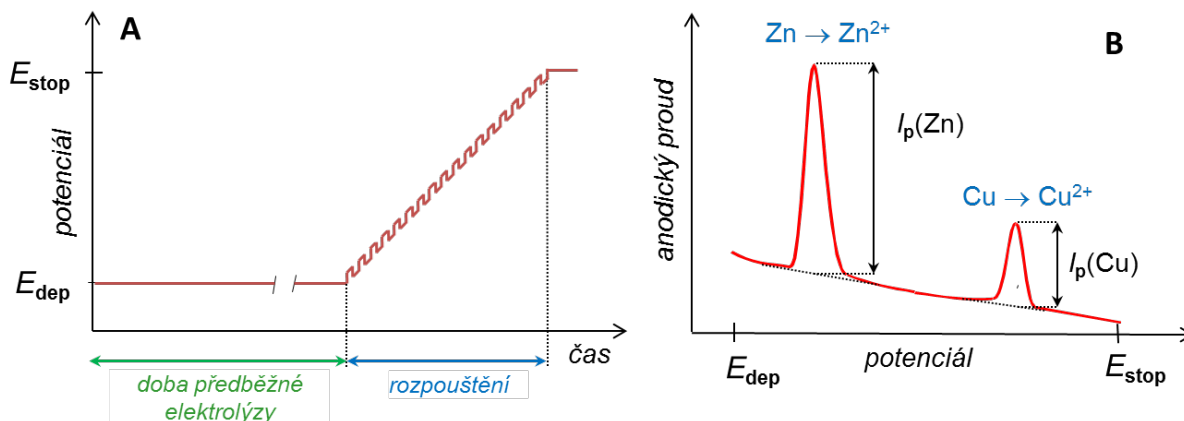
V diferenční pulsní voltametii (DPV) je na pracovní elektrodu aplikován potenciál lineárně se měnící s časem a na něj se vkládají potenciálové pulsy s konstantní výškou (obr. 12-1A). Proud se snímá v krátkých časových intervalech těsně před vložením pulsu a před koncem pulsu. Registrují se rozdíly proudových hodnot ( $\Delta I = I_2 - I_1$ ) a vynášejí se proti hodnotám lineárně se měnícího potenciálu (potenciálové rampy). Takto získaný voltamogram má tvar píku (obr. 12-1B), jehož výška (proud píky  $I_p$ ) je přímo úměrná koncentraci odpovídajícího analytu. Potenciál píku ( $E_p$ ) je údajem kvalitativním, který lze použít k identifikaci analytu.



**Obrázek 12-1.** Diferenční pulsní voltametrie. A – schématické znázornění potenciálových pulsů a intervalů měření proudu. B – diferenční pulsní voltamogram.

Metody rozpouštěcí voltametrie (SV – stripping voltammetry) dosahují velmi nízkých mezí detekce, neboť využívají předběžného nahromadění analytu na elektrodě. V anodické rozpouštěcí voltametii (ASV), která je vhodná pro stanovení stopových množství kovových iontů, je analyt nahromaděn na pracovní elektrodě předběžnou elektrolýzou za konstantního potenciálu  $E_{\text{dep}}$  (obr. 12-2A). Potenciál je volen tak, aby při něm docházelo ke kvantitativní redukci iontů, tedy v oblasti limitního proudu pro daný ion. Doba předběžné elektrolýzy

závisí na množství analytu: čím menší je jeho koncentrace, tím delší doba elektrolýzy se volí. Po předběžné elektrolýze je nahromaděný analyt (kov) rozpouštěn zpět do roztoku anodickou polarizací metodou DPV (obr. 12-2A) a zaznamenává se příslušný voltamogram (obr. 12-2B).



**Obrázek 12-2.** Anodická rozpouštěcí diferenční pulsní voltametrie. A – potenciálový program; B – proudová odezva (voltamogram).

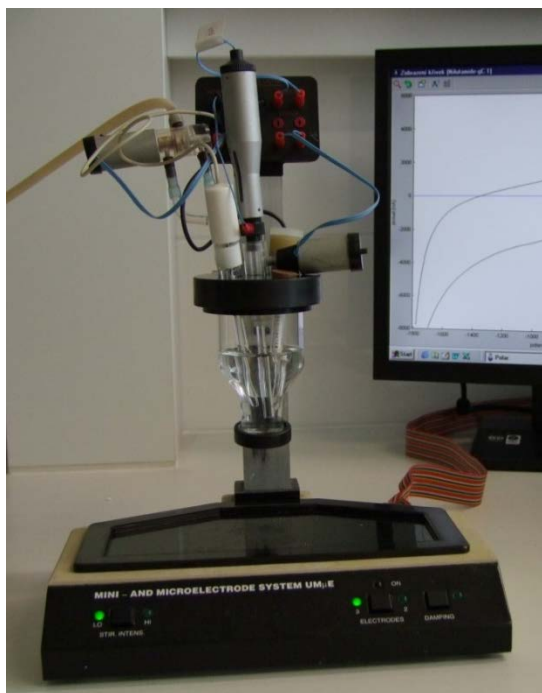
Stanovení iontů Zn a Cu se provádí v kyselém prostředí metodou standardního přídávku. V případě vína je možné provést přímé stanovení ve vzorku naředěném redestilovanou vodou bez přídávku základního elektrolytu. Potřebnou vodivost zajišťují složky matrice vzorku, zejm. kyseliny a minerální látky (např. fosforečnany, sírany, ionty sodné, hořečnaté, draselné). Přibližné potenciály píků analytů (proti nasycené kalomelové elektrodě, SCE) jsou -1000 mV (Zn) a 0 mV (Cu). Při současném stanovení Zn a Cu na rtuťových elektrodách dochází k tvorbě intermetalické sloučeniny Cu-Zn-Hg, která vzniká během předběžné elektrolýzy. Za těchto podmínek se většinou získají nižší výsledky pro Zn a vyšší pro Cu, neboť elektrochemické rozpouštění intermediátu Cu-Zn probíhá při potenciálu velice blízkém rozpouštěcímu potenciálu Cu a oba signály nelze rozlišit. Vzniku této sloučeniny lze zabránit přidávkem iontů Ga, které tvoří s mědí intermetalickou sloučeninu Cu-Ga, která je mnohem stabilnější než Cu-Zn. Samotné ionty Ga se projeví anodickým rozpouštěcím píkem při potenciálu kolem -800 V. Pro stanovení velmi nízkých koncentrací Zn je nutné provést slepý pokus.

## Úkol

Stanovte obsah Zn a Cu v předloženém vzorku vína metodou diferenčně pulsní anodické rozpouštěcí voltametrie s visící rtuťovou kapkovou elektrodou.

## Přístroje, pomůcky a chemikálie

- Eko-Tribo polarograf (EkoTrend Plus, Praha) v tříelektrodovém zapojení s pracovní rtuťovou tužkovou elektrodou, referentní nasycenou kalomelovou elektrodou (SCE) a pomocnou platinovou elektrodou (obr. 12-3), míchadlo
- polarografické nádoby, odměrná baňka 100 ml, pipety 20 ml (nedělené), mikropipety, špičky
- standardní roztoky Zn ( $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ , tj.  $6,54 \text{ mg l}^{-1}$ ) a Cu ( $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ , tj.  $6,35 \text{ mg l}^{-1}$ ), roztok Ga ( $10 \text{ mg l}^{-1}$ ), vzorek vína, redestilovaná voda, dusík



Obrázek 12-3. Stojánek Eko-Tribo polarografu s třielektrodovou celou

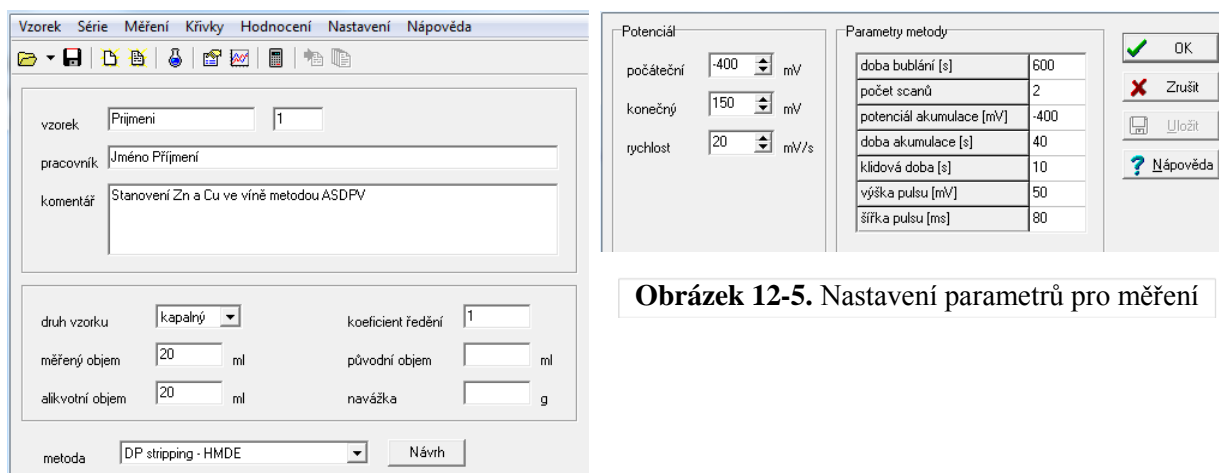
## Pracovní postup

### Příprava analytického vzorku

Objem 10 ml vzorku vína převed'te do 100 ml odměrné baňky a doplňte redestilovanou vodou po rysku.



### ASDPV měření

- Objem 20 ml analytického vzorku převed'te do polarografické nádoby. Nádobku upevněte do stojánku polarografu (obr. 12-3) a roztok odvzdušněte pětiminutovým bubláním souvislým proudem dusíku.
- Během bublání spus'te na počítači program Polar. V hlavním okně zadejte popis vzorku podle obrázku 12-4 a vyberte metodu **DP stripping – HMDE**. Z menu na horní liště vyberte **Měření** a po kliknutí na ikonu **P** nastavte parametry pro měření Cu podle obrázku 12-5.



Obrázek 12-5. Nastavení parametrů pro měření

Obrázek 12-4: Hlavní okno programu Polar

- c) Po probublání roztoku přepněte otočením kohoutu o **180°** přívod dusíku nad roztok, stisknutím tlačítka  obnovte povrch rtuťové kapky a tlačítkem  spusťte měření. Po skončení záznamu křivky **uložte**.
- d) Ke vzorku v polarografické nádobce otvorem pro referentní elektrodu nadávkujte přídavek standardního roztoku Cu ( $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ ). Objem přídávku (obvykle mezi 40 až 100  $\mu\text{l}$ ) závisí na výšce voltametrického píku příslušného iontu ve vzorku. Po krátkém probublání roztoku v nádobce (1 min) změřte voltamogram a křivky uložte.
- e) Bod d) opakujte se stejným objemem přídávku ještě dvakrát (celkem dáte 3 přídávky standardního roztoku).
- f) Ke stejnému vzorku v nádobce, v němž jste stanovovali Cu, přidejte 1 ml roztoku Ga ( $10 \text{ mg l}^{-1}$ ) a krátce probublejte dusíkem. Během bublání nastavte v programu parametry pro měření Zn podle obrázku 12-6.

Potenciál		Parametry metody		OK	
počáteční	-1200 mV	doba bublání [s]	600	<input type="checkbox"/>	OK
konečný	-700 mV	počet scanů	2	<input checked="" type="checkbox"/>	Zrušit
rychlost	20 mV/s	potenciál akumulace [mV]	-1200	<input type="checkbox"/>	Uložit
		doba akumulace [s]	40	<input type="checkbox"/>	Nápověda
		klidová doba [s]	10		
		výška pulsu [mV]	50		
		šířka pulsu [ms]	80		

**Obrázek 12-6.** Nastavení parametrů pro měření

- g) Změřte voltamogram Zn, křivky uložte. Poté změřte a uložte voltamogramy třech přídávků standardního roztoku Zn ( $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ ), stejně jako při měření Cu (body d) – e)).
- h) Po ukončení měření Zn roztok z nádobky vylejte do odpadní láhve (obsahuje Hg!) a elektrody i nádobku důkladně opláchněte proudem destilované vody.
- i) Stanovení Cu a Zn v analytickém vzorku opakujte ještě aspoň dvakrát vždy s novým podílem 20 ml vzorku. Při každé výměně roztoku pečlivě opláchněte elektrody i nádobku destilovanou vodou.
- j) Na závěr proveďte slepý pokus: Do čisté nádobky odměřte 20 ml redestilované vody a 1 ml roztoku Ga ( $10 \text{ mg l}^{-1}$ ). Roztok probublejte 5 min dusíkem. Mezitím nastavte parametry pro stanovení Zn (obr. 12-6). Po probublání zaznamenejte voltamogram a proveďte stanovení Zn opět se třemi přídávky standardního roztoku Zn ( $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ ).
- k) Po ukončení měření roztok z nádobky vylíjete do odpadní nádoby a elektrody důkladně opláchněte destilovanou vodou.

### Zpracování výsledků

- V hlavním menu programu Polar zvolte **Hodnocení**, zadejte **název látky** (např. Zn) a vyberte **Metodu: standardní přídavek**, potvrďte **OK**.
- V následujícím okně zadejte **koncentraci** a **objem** standardního přídávku v příslušných jednotkách. U jednotlivých křivek zvolte typ (blank, vzorek nebo číslo přídávku).
- Kliknutím do okna ve sloupci I[nA] se otevře záznam křivky. Na horní liště aktivujte tlačítko s ikonou „Základní linie I“ a kliknutím a tažením myši proložte nulovou linií tak, aby se dotýkala pat píku na jeho počátku a konci.
- Změřte proud píku v maximu (kliknutím na vrchol píku se objeví červená osa a v pravém okně příslušné hodnoty potenciálu a proudu). Stisknutím **OK** se vrátíte zpět do okna hodnocení, kde se automaticky zobrazí u zpracovávané křivky změřený proud.

- Po zpracování všech křivek (blank, vzorek, přídavky 1, 2 a 3) se kliknutím do grafu zobrazí závislost výšky píku na koncentraci včetně parametrů regresní přímky a současně v horním řádku **Vzorek-výsledek** množství analytu nalezené v polarografické nádobce (tj. ve 2 ml původního vzorku vína). Tuto hodnotu si запиšte.
- Popsaným způsobem vyhodnoťte každý prvek v každém měření vždy v nové záložce (vytvoříte v okně Hodnocení - „Nová látka“). U Zn odečtete od množství nalezeného ve vzorku hodnotu slepého pokusu.
- Poté všechny výsledky přepočítejte na hmotnost ( $\mu\text{g}$ ) příslušného kovového iontu na litr vína. Vypočítejte průměr ze tří paralelních stanovení. Výsledek vyjádřete hmotnostní koncentrací Zn a Cu v  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

$$M(\text{Cu}) = 63,546 \text{ g mol}^{-1}$$

$$M(\text{Zn}) = 65,409 \text{ g mol}^{-1}$$

### Literatura

1. Barek J., Opekar F., Štulík K.: Elektroanalytická chemie. Karolinum, Praha 2005.
2. Eko-Tribo polarograf – Metodiky. Polaro-Sensors, Praha.

### Kontrolní otázky

1. Vysvětlete princip stejnosměrné (DC) polarografie, diferenčně pulzní voltametrie (DPV) a anodické rozpouštěcí voltametrie (ASDPV).
2. Popište voltametrický elektrodový systém a funkci jednotlivých elektrod.
3. Jak vyhodnotíte kvalitu a kvantitu analytu z DC- a DP-voltamogramu?
4. Vysvětlete pojmy difúzní a kapacitní proud.
5. Vysvětlete princip stanovení metodou standardního přídavku.

## 13. Charakterizace nanočástic stříbra absorpční spektrometrií

### Úvod

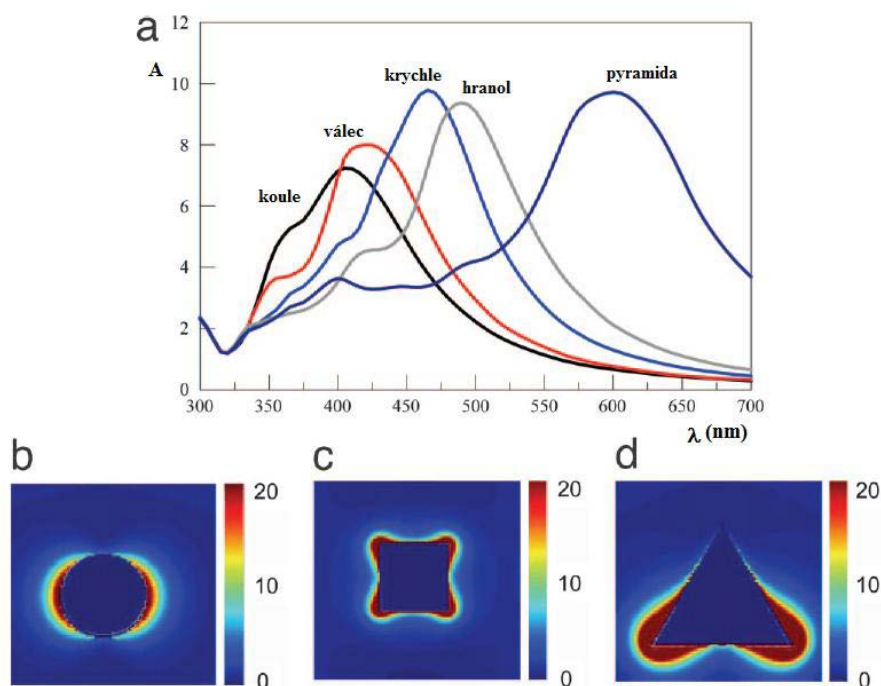
Nanotechnologie stále častěji pronikají svými produkty do běžného života. Hlavním důvodem jejich rozšiřujícího se uplatnění jsou unikátní vlastnosti hmoty rozptýlené do částic o velikosti jednotek až desítek nanometrů. S jejich pomocí lze konstruovat nejen nové elektronické součástky či subminiaturní stroje, ale lze realizovat procesy, neuskutečnitelné jinými prostředky. Účinky stříbra nejsou selektivní, což má za následek, že stříbro projevuje antimikrobiální aktivitu proti širokému spektru lékařsky zajímavých mikroorganismů včetně bakterií, hub a kvasinek. V poslední době se pozornost při hledání způsobu prevence vzniku bakteriálních filmů obrací k nanočásticím  $\text{Ag}_2\text{O}$ , resp. k jejich uspořádaným souborům zabudovaným (obvykle plazmou) do povrchu lékařských přístrojů a nástrojů. Nanočástice stříbra se používají do fasád domů proti řasám i do vnitřních omítek proti plísním, např. v nemocnicích.

Mezi nejjednodušší a nejpoužívanější způsoby přípravy nanočástic stříbra patří redukce vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$ . Tetrahydridoboritan sodný<sup>1</sup> je spolu s citronanem sodným běžným redukčním činidlem. Výběr redukčního činidla závisí především na druhu požadovaných nanočástic, jejich požadované velikosti a využití. Příprava nanočástic stříbra a jejich spektrometrické vlastnosti byly popsány již na přelomu 19. a 20. stol. Jejich skutečné využití ve spektrometrii je ovšem spjato až s rozvojem Ramanovy spektrometrie počátkem sedmdesátých let minulého století. V současné době umožňuje mnoho technik určit velikost a složení částic. Využívá se mikroskopie atomových sil (AFM), rastrovací tunelovací mikroskopie (STM) a transmisní elektronová mikroskopie (TEM). Kromě toho lze pomocí elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením a transmisní elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením zjistit průměry a distribuci velikosti částic. Složení a oxidační stav nanočástic mohou být zjištěny pomocí technik využívajících rentgenové záření. Kromě toho se používají další metody jako je hmotnostní spektrometrie s laserovou ionizací, Ramanova spektrometrie, spektrometrie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS), UV-Vis spektrometrie, spektrometrie NMR a elektrochemické metody, Dynamický rozptyl světla (DLS).

Absorpční spektrometrie v oblasti UV-Vis je velmi rozšířenou metodou ke sledování interakce dvou látek a vzniku komplexu. Podmínkou pro použití této metody je, aby alespoň jedna z látek absorbovala záření. Schopnost kolektivních oscilací valenčních elektronů jednotlivých nanočástic kovů vede k možnosti sledování tzv. **plasmonové rezonance**, jejímž důsledkem je intenzivní absorpční pás ve viditelné oblasti spektra. Roku 1908 spočítal Gustav Mie na základě Maxwellových rovnic absorpci a polarizační vlastnosti světla rozptýleného na mikročásticích. O rok později spočítal tyto vlastnosti i pro nanočástice. Tyto výpočty byly experimentálně ověřené v padesátých letech. Pro různé průměry nanočástic byla naměřena různá absorpční spektra (obrázek 13-1 a tabulka 3). Touto metodou se přímo měří roztok nanočástic.

**Tabulka 3:** Absorpční maxima nanočástic stříbra pro různé velikosti nanočástic<sup>2,3</sup>.

$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	492	414	430
průměr (nm)	20	30	45



**Obrázek 13-1:** (a) Modelová UV-Vis spektra nanočástic stříbra pro různé tvary nanočástic stříbra o průměru 50 nm. (b) – (d) znázorňují kontury lokální plasmonové rezonance v závislosti na tvaru nanočástic stříbra<sup>4</sup>.

## Princip

Nanočástice stříbra se připraví redukcí dusičnanu stříbrného citronanem sodným ve vodném roztoku. Tento roztok se nechá 20 minut povařit. Roztok během redukce změni barvu na žlutohnědou. Takto vzniklé nanočástice charakterizujeme pomocí polohy maxima a tvaru křivky z UV-Vis spektra. Následně přidáváme do kyvety chlorid sodný a sledujeme změnu polohy maxima nanočástic.

## Přístroje, chemikálie

UV/Vis spektrofotometr Perkin Elmer 25, dvouhrdlá baňka (100 ml), magnetické míchadlo, chladič, septum, olejová lázeň, injekční stříkačka (1 ml), Erlenmeyerova baňka (50 ml), skelněná kyveta o tloušťce 1 cm, pipeta (20 - 100  $\mu$ l), deionizovaná voda, dusičnan stříbrný, chlorid sodný, dihydrát citronanu sodného

## Úkoly

### Příprava nanočástic stříbra

1. Nejprve připravte zásobní roztoky dusičnanu stříbrného a dihydrátu citronanu sodného.
2. Připravte 1 ml  $\text{AgNO}_3$  o koncentraci  $5,33 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$  do umělohmotné zkumavky ( $\text{AgNO}_3$ ;  $169,87 \text{ g mol}^{-1}$ ).
3. Do 5 ml odměrné baňky připravte  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  o koncentraci  $3,4 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$  a baňku doplňte po rysku ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $294,10 \text{ g mol}^{-1}$ ).
4. Před každou prací je nezbytné připravit čerstvý zásobní roztok citronanu.
5. Do dvouhrdlé baňky (100 ml) nalijte 50 ml deionizované vody (18,2 M $\Omega$  cm, Millipore) a vložte magnetické míchadlo (obr. 13-2).
6. Na tuto baňku nasad'te zpětný chladič a septum.



7. Baňku s chladičem umístěte do olejové lázně (obr. 13-2) a vodu v baňce přiveďte k varu.
8. Potom injekční stříkačkou nadávkujte septem 1 ml zásobního roztoku  $\text{AgNO}_3$  a 1 ml roztoku  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .
9. Reakční směs ponechte 20 minut ve varu. Roztok během redukce změni barvu na žlutohnědou.
10. Potom baňku vyzvedněte z olejové lázně a ponechte zchladnout na laboratorní teplotu.
11. Ochlazený roztok přelijte do 50 ml Erlenmeyerovy baňky

#### Charakterizace nanočástic stříbra

1. Roztok nanočástic připravený v bodu 1 nařeďte 10x a změřte UV-Vis spektrum.
2. Měření provedte ve skelněné kyvetě o tloušťce 1 cm v rozsahu 200 až 900 nm s krokem 1 nm.
3. Podle polohy maxima určete velikost nanočástic a tvaru křivky určete tvar nanočástic (obr. 13-1).

#### Vliv NaCl

1. Nejprve připravte 10 ml  $1 \text{ mol l}^{-1}$  roztoku NaCl.
2. Ke 2 ml roztoku nanočástic (z úkolu 1) přidávejte přídavky  $1 \text{ mol l}^{-1}$  NaCl, vždy po přidání NaCl změřte UV-Vis spektrum.
3. V rozsahu přídavků 20 - 200  $\mu\text{l}$ , s krokem 20  $\mu\text{l}$  a 200 - 300  $\mu\text{l}$  s krokem 50  $\mu\text{l}$ .
4. Vliv sledujte pomocí UV-Vis absorpční spektrometrie.
5. K jakému ději dochází u nanočástic a co to způsobuje?
6. Po změření všech spekter vylíjte roztok z kyvety a nalijte do ní jar.
7. Nechte 1 hodinu stát a pak důkladně opláchněte nejprve horkou vodou a následně několikrát deionizovanou vodou.

#### **Literatura**

1. Pavel Ž., Záruba K., Řezanka P., Král V.: *Chem. Listy*, **2010**, 104, 202.
2. Seney C. S., Gutzman B. M., Goddard R. H.: *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 74.
3. Hutter E., Fendler H. J.: *Chem. Commun.* **2009**, 378.
4. Schatz G. C.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2007**, 104, 6885.

#### **Kontrolní otázky**

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Popište UV/Vis spektrometr a jeho funkci.</li><li>2. Vyjmenujte přechody pozorované při interakci UV/Vis záření s molekulami.</li><li>3. Co jsou to nanočástice a jak je lze připravit?</li><li>4. Jaké metody slouží k charakterizaci nanočástic.</li><li>5. Jak lze k charakterizaci nanočástic využít UV/Vis spektrometrii.</li></ol> |
|---|

## Schéma aparatury



**Obrázek 13-2:** Schéma aparatury pro přípravu nanočástic stříbra

## 14. Analýza vod pomocí ICP-MS

### Úvod

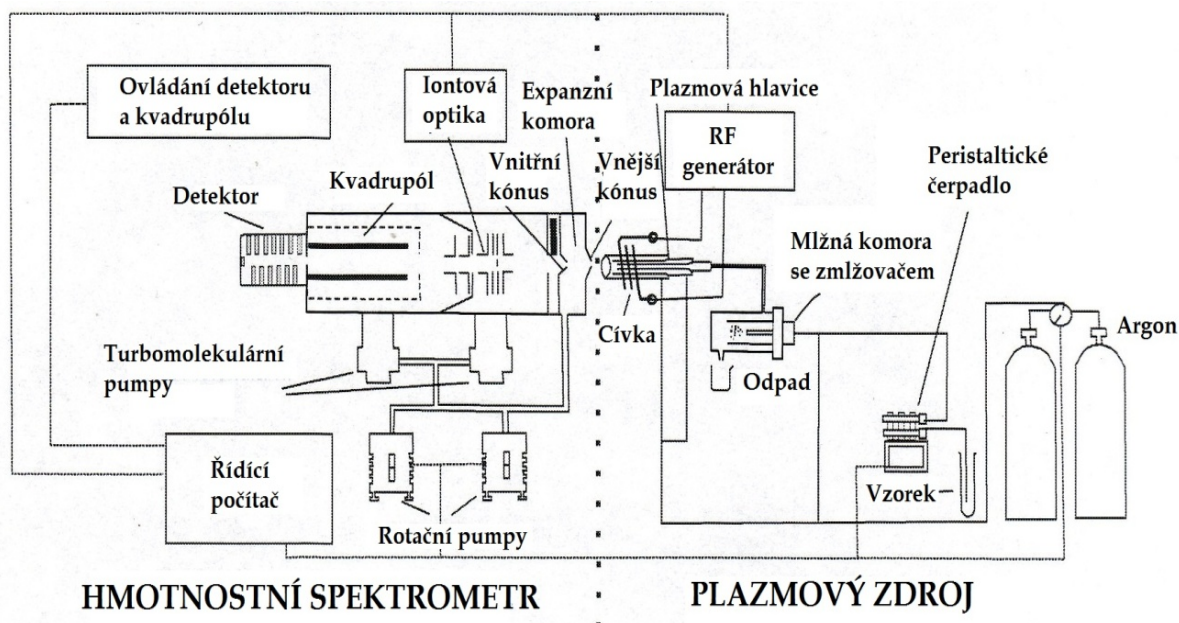
Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) patří k metodám prvkové analýzy. Nachází uplatnění při analýze stopových až ultrastopových koncentrací prvků ( $\text{ng.l}^{-1}$  i nižší) ve vzorcích pocházejících z různých odvětví lidského bádání např. životní prostředí, potravinářský nebo farmaceutický průmysl, zdravotnictví, ale i geologie či archeologie. Oproti atomové absorpční spektrometrii umožňuje simultánní analýzu téměř neomezeného množství prvků. Její další výhodou je široký lineární dynamický rozsah umožňující stanovení více než 70 prvků v rozsahu 6-7 koncentračních řádů. V této úloze bude provedena přímá analýza vzorku povrchové nebo pitné vody, protože pro tyto vzorky není nutná jejich úprava. V případě požadavku na analýzu kapalného vzorku se složitou maticí nebo analýzu pevných vzorků (např. rostlinné či živočišné tkáně, klinické vzorky, či půdy) je třeba provést jejich rozklad vhodnou metodou, při které nedojde ke ztrátě studovaných prvků. Rozšiřující se oblastí aplikace je tzv. speciální analýza, kde ICP-MS ve spojení se separačními metodami (HPLC, GC, CE) plní funkci prvkově specifického detektoru. Metoda ICP-MS se dále využívá pro přímou analýzu pevných vzorků a to ve spojení s laserovou ablací nebo elektrotermickým vypařováním.

### Princip

Metoda ICP-MS se od ostatních metod atomové spektrometrie (AAS, OES, AFS či RFS) liší v principu. Zařízení rozpoznává odlišné relativní atomové hmotnosti (izotopy), ale nerozpoznává chemické prvky podle elektronových obalů. Princip metody ICP-MS je založen na vnášení nejčastěji kapalných vzorků pomocí zmlžovače (a mlžné komory) do plazmového výboje (indukčně vázaného plazmatu – ICP), kde dochází k desolvataci, odpaření, atomizaci a následné ionizaci prvků za vzniku kladně nabitých iontů, které jsou transportovány přes interface do hmotnostního analyzátoru. K transportu a fokusaci iontů z ICP slouží iontová optika umístěná mezi interface a hmotnostním analyzátor. Po separaci iontů v hmotnostním analyzátoru podle poměru  $m/z$  dopadají jednotlivé ionty na detektor převádějící proud iontů na elektrický signál (obr. 14-1). Nejčastěji používaným hmotnostním analyzátozem je kvadrupólový hmotnostní filtr, který však nedosahuje dostatečného rozlišení pro eliminaci spektrálních interferencí. Proto se u moderních kvadrupólových ICP-MS mezi iontovou optikou a hmotnostním analyzátozem vkládá kolizní/reakční cela sloužící k eliminaci spektrálních interferencí (např.  $^{56}\text{Fe}^+$  a  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ , či  $^{75}\text{As}^+$  a  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ ).

K zavádění kapalných vzorků se nejčastěji používají Meinhardovy pneumatické zmlžovače s průtokem  $0,1 - 0,5 \text{ ml min}^{-1}$ . Vzhledem k těmto nízkým průtokům se vzorek ke zmlžovači přivádí pomocí peristaltického čerpadla. Vzniklý aerosol vstupuje do mlžné komory sloužící nejen k odstranění objemnějších kapek aerosolu generovaných zmlžovačem ale i k vyrovnávání pulzů způsobených pulzacemi peristaltického čerpadla. V současné době jsou mlžné komory opatřeny externím chlazením, které zajišťuje tepelnou stabilitu vzorku a zároveň redukuje množství rozpouštědel vstupujících do ICP. Indukčně vázané plazma udržujeme v plazmové hlavici, která je zkonstruována z trojice soustředných křemenných trubic, jimiž proudí plazmový plyn (nejčastěji argon). Průtok argonu skrze plazmovou hlavici je rozdělen na tři části, z nichž každá plní různou funkci při vzniku ICP: 1) vnější plazmový plyn ( $12 - 17 \text{ l min}^{-1}$ ) – nositel výboje; 2) střední plazmový plyn (cca  $1 \text{ l min}^{-1}$ ) – stabilizuje výboj a odděluje plazma od trubice; 3) nosný plyn ( $1 \text{ l min}^{-1}$ ) – tvorba analytického kanálu uprostřed ICP a transport aerosolu. Horizontálně umístěnou plazmovou hlavici obklopuje

uzemněná indukční cívka připojená přímo k vysokofrekvenčnímu generátoru pracujícím při frekvenci buď 27,12, nebo 40,68 MHz s účinností 70 - 75 %, z čehož vyplývá, že 70 - 75 % dodané energie slouží k udržování plazmatu.



**Obrázek 14-1:** Schéma ICP-MS spektrometru s kvadrupólovým hmotnostním analyzátořem.

Interface sloužící ke stabilnímu a účinnému transportu iontů z plazmatu do hmotnostního analyzátořu, který na rozdíl od ICP pracuje za výrazně sníženého tlaku. Je složen z dvojice kovových kónusů (konstrukční materiál nikl, platina) s velmi malými kruhovými otvory v jejich vrcholech. Ionty jsou po průchodu prvním kónusem *samplerem* s průměrem otvoru 0,8 - 1,2 mm odděleny od hlavního toku argonu a vstupují do expanzní komory, z níž jsou vedeny skrz druhý kónus *skimmer* s průměrem otvoru 0,4 - 0,8 mm do hmotnostního analyzátořu. Jelikož interface zajišťuje převod iontů z plazmatu s teplotou až 7 500 K, tak proto jsou kónusy součástí vodou chlazeného bloku. Iontová optika sloužící nejen k transportu iontů z plazmatu skrz interface do hmotnostního analyzátořu ale i eliminaci neutrálních částic a fotonů (zvyšující pozadí a způsobující nestabilitu detektoru) je složena ze systému elektricky ovládaných čoček (kovové destičky či válečky), na které je vloženo různé napětí. Konstrukce iontových optik je uzpůsobena předpokladu, že trajektorie neutrálních částic a fotonů nejsou ovlivněny elektromagnetickým polem. Nejvíce rozšířeným hmotnostním analyzátořem v ICP-MS je kvadrupól skládající se ze čtveřice válcových či hyperbolických tyčí s délkou 15 - 25 cm a průměrem okolo 1 cm. Tyče jsou vyrobeny z nerezové oceli a pro vyšší korozivní odolnost mohou být potaženy vrstvou keramiky. Separace iontů v kvadrupólovém analyzátořu je založena na principu vkládání vhodné kombinace stejnosměrné a střídavé vysokofrekvenční složky elektrického napětí (protilehlé spojené tyče mají stejnou polaritu), čehož dosáhneme stabilní trajektorie pro ionty s požadovanou hodnotou  $m/z$ , které jsou vedeny kvadrupólem až k detektoru. Trajektorie ostatních iontů jsou nestabilní a dochází k jejich vybití na jednotlivých tyčích kvadrupólu. Proces vkládání vhodného poměru napětí se aplikuje i na ostatní hodnoty  $m/z$  izotopů prvků vybraných k analýze. I když se teoretická skenovací rychlost pohybuje okolo  $2\,500\text{ amu s}^{-1}$ , tak pro kvantitativní stanovení 25 prvků ve vzorku je potřeba 1 - 2 minuty. Dalšími MS analyzátoři používanými v ICP-MS jsou průletový analyzátoř a magnetický sektorový s dvojnásobnou fokusací, který díky vysokému rozlišení eliminuje spektrální interference. Jednou z posledních součástí každého ICP-MS spektrometru je detektor, který slouží k převedení proudu rozseparovaných iontů na měřitelný elektrický signál. V současnosti je většina spektrometrů vybavena elektronovým násobičem s oddělenými dynodami, který nejlépe vyhovuje kladeným požadavkům (možnost stopové analýzy, široký dynamický rozsah a nízký šum).

## Úkol

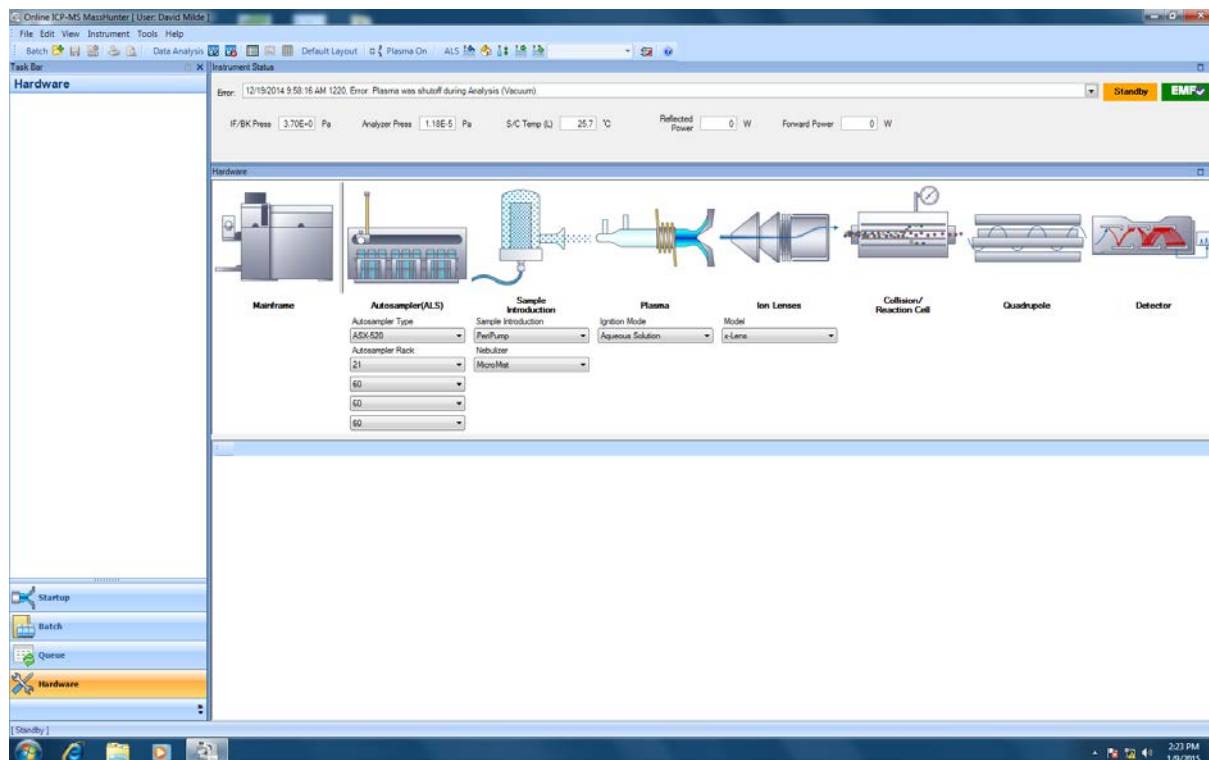
- Připravte kalibrační roztoky ze směšného zásobního standardního roztoku o hmotnostní koncentraci  $100 \text{ mg l}^{-1}$ . Proměřte certifikovaný referenční materiál povrchové vody a vyhodnoťte naměřené koncentrace.
- Analyzujte vzorek pitné nebo povrchové vody.

## Přístroje a chemikálie

- ICP-MS spektrometr Agilent 7700x s kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem a kolizní celou pracující na principu diskriminace kinetické energie.
- Automatické pipety, skleněné odměrné nádoby.
- Zásobní standardní roztok MIX 015 (Al, Be, Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Si, Sr, V, W, Zn, Zr) o hmotnostní koncentraci  $100 \text{ mg l}^{-1}$ .
- Matriční certifikovaný referenční materiál povrchové vody (např. TM 15.2).

## Pracovní postup

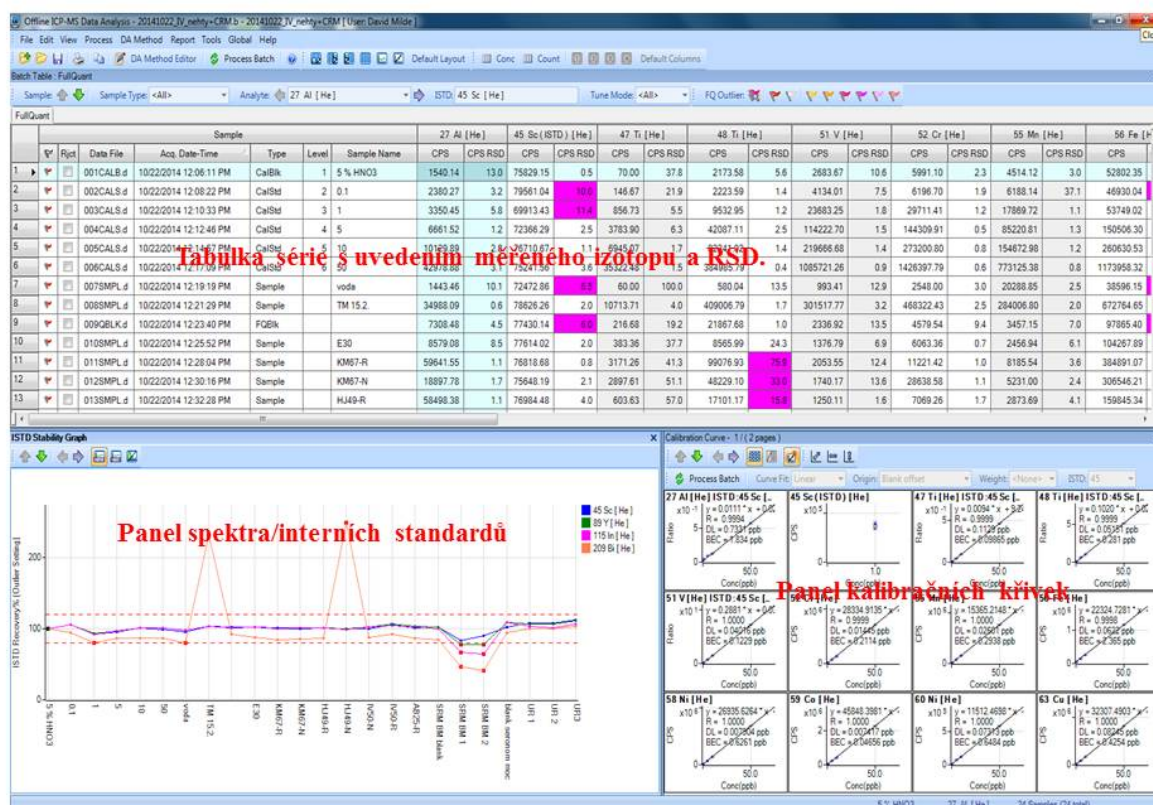
- Připravte 5 kalibračních roztoků ředěním zásobního standardního roztoku v rozmezí  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$  až  $1 \text{ mg l}^{-1}$  do 25 ml odměrných baněk. Maximální ředění v jednom kroku je 100x. Roztoky okyselte kyselinou dusičnou, tak aby její hmotnostní zlomek byl 0,5 %.
- Připravené kalibrační roztoky včetně slepého pokusu a vzorek přelejte do polypropylenových zkumavek určených do stojanu v automatickém podavači vzorků.
- Obsluhu ICP-MS spektrometr provede vedoucí úlohy, který vás stručně seznámí s jeho konstrukcí a ovládání. Spektrometr je ovládán softwarem Masshunter (obr. 14-2).



**Obrázek 14-2:** základní obrazovka software Masshunter u ICP-MS Agilent 7700x

### Zpracování výsledků

- S využitím vyhodnocovacího modulu programu Masshunter (obr. 14-3) zpracujete kalibrační křivky, posuďte stabilitu interního standardu.
- Vyhodnoťte výtěžnost stanovení kovů v certifikovaném referenčním materiálu povrchové vody.
- Vyhodnoťte výsledky stanovení kovů ve vzorku a v protokolu uveďte výsledky v  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Získané výsledky porovnejte s limitními hodnotami v legislativě, je-li pro váš typ vzorku dostupná.



**Obrázek 14-3:** Obrazovka data analysis modulu v Masshunteru.

### Kontrolní otázky

1. Popište princip ICP-MS (anorganické hmotnostní spektrometrie) a v čem se liší od ostatních metod atomové spektrometrie.
2. Popište a vysvětlete funkci jednotlivých částí ICP-MS spektrometru.
3. Co je to plazma a v čem se liší od plynu?
4. Co je to certifikovaný referenční materiál a k čemu se používá.
5. Popište princip kvantitativní analýzy s využitím vnitřního standardu.