

# **Návody ke cvičení z chemie**

**MVDr Jiří Bednář Ph.D.**

**Prof.RNDr. Emanuel Šucman CSc.**

# Seznam

1.0 CHEMICKÉ VÝPOČTY.....	4
2.0 ZÁKLADNÍ LABOLATORNÍ OPERACE.....	9
<u>2.1. Vážení</u> .....	9
<u>2.2 odměřování objemů</u> .....	10
2.2.1.Skleněné pipety .....	10
2.2.2.Mechanické pipety .....	13
2.2.3.Stacionární dávkovače .....	17
2.2.4. Správnost a přesnost dávkování .....	19
<b>Cvičení č. 1</b> ... Přesnost a správnost dávkování kapalin.....	21
3.0 Kvalitativní chemie.....	23
3.1 Kationty.....	23
3.2 Anionty.....	28
3.3 Organická kvalitativní chemie.....	33
4. 0 ODMĚRNÁ ANALÝZA .....	40
<u>4.1 Úvod</u> .....	40
<u>4.2 Indikátory</u> .....	42
<u>4.3 Neutralizační titrace</u> .....	44
4.3.1. Titrační křivky a volba indikátoru .....	45
<b>Cvičení č. 2</b> Stanovení obsahu analytu v roztoku .....	48
Obecný postup při neutralizačních titracích	
<u>4.4 Srážecí titrace</u> .....	50
4.4.1. Indikace srážecích titrací .....	51
4.4.2 Typy srážecích titrací .....	52
<b>Cvičení č. 3</b> Stanovení obsahu analytu v pevné matrici .....	53
Stanovení obsahu chloridů v krmivu	
<u>4.5. Oxidoredukční titrace</u> .....	57
4.5.1 Titrační křivky.....	57
4.5.2. Indikátory pro redoxní titrace.....	58
4.5.3. Oxidimetrické metody.....	59
4.5.4. Reduktometrické metody.....	61
<b>Cvičení č.4</b> Postup při manganometrické titraci.....	62
<u>4.5.5. Chemické vyšetření vody</u> .....	63
<b>Cvičení č.5</b> Stanovení organických látek v pitné vodě – CHSK.....	69
<u>4.6. Komplexometrické titrace</u> .....	71

4.6.1. Typy chelatometrických titrací .....	71
4.6.2 Indikace chelatometrických titrací.....	72
<b>Cvičení č. 6</b> Postup při komplexometrických titracích – stanovená vápníku.....	74
<b>Cvičení č.7</b> Postup při komplexometrických titracích – stanovení hořčíku.....	76
<b>4.7.0 VÝPOČTY V ODMĚRNÉ ANALÝZE</b> .....	78
4.7.1. Vyjadřování koncentrace roztoků .....	78
4.7.2. Výpočet koncentrace analytu v roztoku – příklad pro neutralizační titrace .....	79
4.7.3. Výpočet koncentrace analytu v pevné matrici – příklad pro srážecí titrace titrace.....	82
<b>5.0 INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZA</b> .....	84
<u>5.8.1. Potenciometrie</u> .....	84
5.8.1.1. Elektrody prvního druhu .....	84
5.8.1.2. Elektrody druhého druhu .....	86
5.8.1.3. Elektrody třetího druhu .....	88
5.8.1.4. Speciální elektrody .....	88
<b>Cvičení č. 8</b> Stanovení pH pomocí skleněné elektrody .....	92
<u>5.9.0. Optické metody</u> .....	95
5.9.1. Spektroskopické metody.....	95
5.9.1.1. Emisní spektrální analýza ( ESA ) .....	95
5.9.1.2. Absorpční spektrální analýza ( ASA ) .....	96
5.9.1.3. Metody založené působením magnetického pole na zkoumanou látku .....	98
5.9.2. Nespektrofotometrické metody.....	98
<b>Cvičení č 9</b> Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě luminiscencí.....	99
Kontrolní protokol .....	102

## 1. Chemické výpočty

Chemické výpočty tohoto cvičení jsou zaměřeny především na přípravu různých koncentrací chemických roztoků. A to jak přímo z čistých látek, tak i pomocí ředění ze zásobních roztoků.

Na začátku je třeba se zmínit o některých základních pojmech.

**n** = látkové množství - hlavní jednotka SI, jeho jednotkou je **mol**

### Definice molu

Jeden mol je takové množství jakékoliv látky, které obsahuje právě tolik entit(částic, atomů, molekul, iontů, kapek apod.), kolik atomů  $^{12}_6\text{C}$  obsahuje přesně 12g nuklidu uhlíku  $^{12}_6\text{C}$ , tj zaokrouhleně  $6,022 \cdot 10^{23}$ . (Avogadrovo číslo)

V případě vyjadřování koncentrace se v chemických výpočtech užívá  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .

### Molární hmotnost M

je odvozenou veličinou SI. Základní jednotka je  $1 \text{ Kg mol}^{-1}$

Molární hmotnost vyjadřuje hmotnost jednoho molu (Avogadrova čísla) molekul chemicky homogenní látky.

Vztah mezi látkovým množstvím **n**, molární hmotností **M** a hmotností látky (např. ve vzorku) **m**

$$n = \frac{m}{M}$$

## Procento

V chemických postupech velmi často používaná jednotka, hlavně pro roztoky.

Udává počet dílů dané složky na sto dílů celé soustavy. Také se může vyjádřit jako stonásobek hmotnostního zlomku  $w$ . Pro jednoduchost uvedeme příklad.

Koncentrace 1 % znamená že v 100g vzorku je 1g dané látky. U roztoků toto pravidlo platí pro hustotu  $\rho = 1,000 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  tzn. že v 100 ml o hustotě 1,000 je obsažen 1g dané látky.

Je-li hustota odlišná musí se samozřejmě použít pro zpřesnění výpočtu známý vztah mezi hustotou, hmotností a objemem.

Z uvedeného je zřejmé, že v laboratořích se k vyjadřování koncentrace roztoků používají především % a  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Jedním z nejběžnějších úkonů je připravení roztoku z pevné čisté (prakticky 100%) látky.

Roztoky připravujeme téměř vždy do uceleného objemu pomocí odměrných baněk (50, 100, 1000 ml). I v případě netradičního objemu (32,9 ml) si laboratorně připravíme roztok většího objemu (50 ml) a potom připravíme.

## Příklady

1.

Připravte 100 ml roztoku látky B o koncentraci 3 % (nebo taky  $w = 0,03$ ). Hustota roztoku  $r = 1,000 \text{ g}/\text{cm}^3$ .

Kolik g látky B navážíte ?

**Z výše uvedeného jednoduchého příkladu plyne, že výsledek je 3g.**

$$w = \frac{m[\text{látky B (B)}]}{m[\text{celého roztoku (r)}]}$$

$$0,03 = \frac{m(\text{B})}{100} = 3 \text{ g}$$

2.

Připravte 40 ml roztoku látky B o koncentraci 15% , hustotě  $\rho = 1,12 \text{ g/cm}^3$ . Kolik gramů látky navážíte ?

$$w = \frac{m(B)}{V(r) \times \rho}$$

$$0,15 = \frac{m(B)}{40 \times 1,12} = 6,72\text{g}$$

3.

Připravte 200 ml roztoku KOH o  $c = 0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ .

m.h. KOH = 57 .

Kolik g KOH musíme navážit.

Upravením vztahu mezi látkovým množstvím  $n$  , molární hmotností  $M$  a hmotností látky  $m$  - přidáme ještě objem připravovaného roztoku  $V$  v litrech.

$$n = \frac{m}{M \times V}$$

$$0,2 = \frac{m}{57 \times 0,2} = 2,28\text{g}$$

Dalším typem přípravy roztoků v chemické laboratoři je příprava ze zásobních roztoků.

V jednodušších případech je to prosté ředění. V laboratoři se téměř vždy setkáme s ředěním destilovanou vodou nebo jiným rozpouštědlem. V těchto případech vystačíme s jednoduchou směšovací rovnicí.

$$V_1 \times c_1 = V_2 \times c_2$$

V případě musíme li zohlednit hustotu :

$$V_1 \times c_1 \times \rho_1 = V_2 \times c_2 \times \rho_2$$

4.

Ze zásobního roztoku KOH o  $c = 2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  připravte 150 ml roztoku o  $c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Kolik ml zásobního roztoku musíme použít ?

$$V_1 \times c_1 = V_2 \times c_2$$

$$V_1 \times 2 = 0,15 \times 0,01$$

$$V_1 = 0,00075 \text{ l} \quad (0,75 \text{ ml})$$

5, Ze zásobního roztoku KOH o koncentraci 15% a hustotě  $1,15 \text{ g/cm}^3$  připravte 20 ml roztoku o koncentraci 10% a hustotě  $1,10 \text{ g/cm}^3$ . Kolik ml zásobního roztoku použijete ?

$$V_1 \times c_1 \times \rho_1 = V_2 \times c_2 \times \rho_2$$

$$V_1 \times 15 \times 1,15 = 0,020 \times 10 \times 1,10$$

$$V_1 = 0,0128 \text{ l} = 12,8 \text{ ml}$$

Složitější případ nastane, když zásobní roztok a roztok připravovaný nemají stejný rozměr koncentrace ( např. % a  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  ). Je to poměrně častý případ, protože roztoky hlavně kyselin i jiných látek výrobci dodávají s údajem o koncentraci a hustotě, ale velká část laboratorních postupů používá koncentraci vyjádřenou v  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Řešení těchto příkladů je obdobné s předchozími, je ale nutno přepočítat jednu z udaných koncentrací na druhou a potom běžně dosadit do směšovací rovnice.

přepočet na procenta

přepočet na látkovou koncentraci

$$\% (w \cdot 100) = \frac{c \times M}{\rho \times 10}$$

$$c = \frac{\rho \times \% \times 10}{M}$$

$c$  ....  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

$M$ .....molární hmotnost

%.....hmotnostní procenta

$\rho$ ..... hustota v  $\text{g/cm}^3$

Při přepočtu na procenta což je mimochodem daleko méně častý případ je zřejmé, že u větších koncentrací budeme potřebovat chemické tabulky kvůli zjištění hustoty roztoku, nebo poměrně složitě tuto hustotu zjišťovat. Proto v praxi dáváme přednost, je-li to možné, variantě přepočtu procent (většinou hustotu známe) na látkovou koncentraci.

6, Kolik ml zásobního roztoku koncentrované  $\text{HNO}_3$  ( 65%,  $r = 1,60$  , m.h. 63) budete potřebovat na přípravu 50 ml roztoku o  $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .

a) vyjádření koncentrace  $\text{HNO}_3$  v  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .

$$c = \frac{\rho \times \% \times 10}{M}$$

$$c = \frac{1,60 \times 65 \times 10}{63}$$

$$c = 16,51 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$$

a následné dosazení do směšovací rovnice

$$V_1 \times c_1 = V_2 \times c_2$$

$$V_1 \times 16,51 = 0,050 \times 0,1$$

$$V_1 = 0,000300 \text{ l} = 0,30 \text{ ml}$$



## 2.0 Základní laboratorní operace

### 2.1. Vážení

K navažování látek používáme váhy.

Váhy používané v laboratoři se dají rozdělit z několika hledisek. Nejběžnější je dělení podle citlivosti tzn. na kolik desetinných míst (v gramech) jsou schopny vážit a podle své konstrukce.

Dělení podle citlivosti - váhy vážící na celé gramy, na jedno nebo dvě desetinná místa se nazývají předvážky. Váhy vážící na tři desetinná místa jsou semianalytické váhy, na čtyři desetinná místa a více jsou váhy analytické.

Váživost vah - je údaj o maximální možné hmotnosti, které jsou váhy schopny zvážit.

Dělení podle konstrukce (má význam spíše okrajový) - váhy optomechanické dnes už používané minimálně. Byly vytlačeny váhami elektronickými.

- váhy elektronické, dnes nejmodernější a nejčastěji používaný druh vah

Ať ale používáme jakýkoliv typ vah, musíme dodržovat některá základní pravidla.

1. Vodováha – váhy s přesností na jedno nebo dvě desetinná místa vyžadují aspoň přibližně rovnou plochu. Pokud není plocha dostatečně rovná na displeji vah se objeví chybová hláška. ( error xy ). U vah s větší přesností je vyžadována rovná plocha . Na každých takových vahách je od výrobce proto umístěna vodováha. Váhy sami buď mají zařízení na svoje nastavení do vodorovné polohy, například aretační šrouby, nebo se váhy umístí na váhový stůl, který vyvážíme. Na starších mechanických vahách, hlavně lékárnických, byla místo vodováhy libela.

2. Váhy musí být vynulovány. Po spuštění vah musí váhy ukazovat nulu. U mechanických a hlavně u optomechanických vah bývá zabudován do vah nulovací mechanismus, kterým váhy vynulujeme. Častou příčinou špatného nulování je nedodržení podmínky vodováhy. Elektronické váhy se většinou nulují samy.

3. Váhy je nutno udržovat v čistotě. Tento požadavek je striktní a logický. Zabráni se tím jak ničení vah, tak možné kontaminaci dalšího navažovaného vzorku. Váhy se otírají suchým hadříkem, ometají štětečkem, popřípadě při větším znečištění otírají hadříkem namočeným v lihobenzinu.

Nikdy nevážíme přímo na misce vah!

K navažování používáme přednostně materiály, které lze v případě potřeby opláchnout. To znamená laboratorní sklo, porcelán, teflon případně kovové materiály určené k vážení. Filtrační papír je nevhodný pro svoji hrubost a pórovitost. Zachytává se v něm určité množství vzorku. Jsou ovšem laboratorní púostupy, kde je filtrační papír či jiné jinak nevhodné materiály předepsány. To jsou ovšem vyjímky.

Tára - u většiny elektronických a některých optomechanických vah je zabudována pomůcka na vynulování vah po vložení laboratorního skla na které chceme navažovat. Nemusíme si totiž pamatovat hmotnost tohoto skla, ale po vložení skla necháme váhy ustálit a pak použijeme táry. Váhy se opět vynulují a můžeme navažovat požadovanou hmotnost. Popřípadě po navážení můžeme opět použít táru a začít navažovat do stejného skla další látku.

## **2.2.Odměřování kapalin**

Kapaliny odměřujeme především pomocí odměrného laboratorního skla, ale i jiných zařízení. Je důležité si uvědomit, že ne každé laboratorní sklo se hodí k jakémukoliv odměřování.

Kádinky se **nikdy** nepoužívají pro odměřování kapalin. Údaje na stěně kádinky nám slouží k tomu, abychom mohli odhadnout, zda reakce kterou provádíme je možno provádět v dané kádince (zda roztoky, které smícháváme se do kádinky vejdou).

Pro odměřování přibližného množství kapalin, v laboratorních návodech označené většinou **asi nebo minimálně** (přidejte asi 50 ml destilované vody, nebo přidejte minimálně 5 ml kyseliny apod.) se používají odměrné válce nebo dávkovací nádstavce na reagenční lahve. Můžeme zobecnit, že kromě speciálních případů použijeme odměrný válec při dávkování pomocných látek.

Pro odměřování přesných objemů se používají pipety, byrety a různé dávkovače.

### **2.2.1.Skleněné pipety**

Mohou být klasické skleněné, ale také často v podobě mechanických dávkovačů.

Práce se skleněnými pipetami : přesnost pipetování je dána velikostí pipety. Jejich velikost je obvykle na 1, 2, 5 a 10 ml. Jsou to většinou pipety dělené, znamená to že můžeme dávkovat jakýkoliv objem do maximálního ,označeného na pipetě. Pipety na 1 - 2 ml, mohou dávkovat s přesností na dvě desetiny ml, větší pipety na jedno desetinné

místo. Pipety s větším obsahem jak 10 ml ztrácejí na přesnosti. Výjimku tvoří pipety nedělené tzn. na jeden jediný objem. Ty se také vyrábí jak pro dávkování v množstvích desetín ml, tak také velkoobjemové. Řádově desítky a vyjíměčně stovky mililitrů.

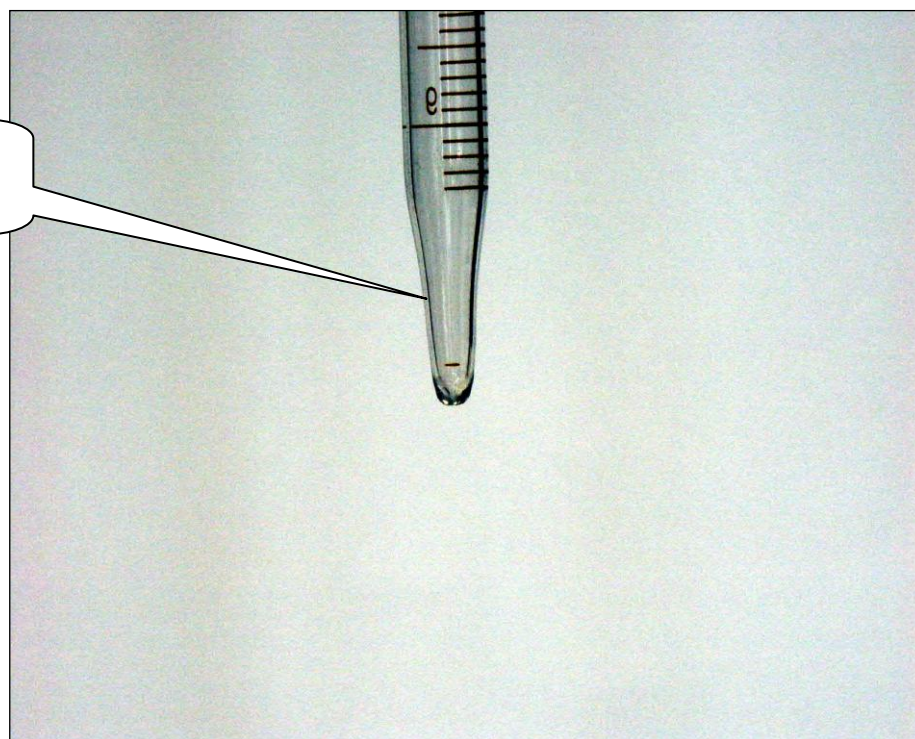
Při pipetování skleněnými pipetami používáme ukazováček. V případě, že z pipety vypouštíme celý obsah, zjistíme že ve špičce zůstává část kapaliny.

### **Nikdy nevyfukujeme !!**

Abychom zabránili hromadění kapaliny ve špičce pipety, při vypouštění opřeme špičku pipety o okraj laboratorního skla do kterého pipetujeme. Většina kapaliny se takto vypustí. S malým zbytkem, který přesto zůstává výrobce počítá. Přesvědčíme se o tom bližším pohledem na špičku pipety, kde zjistíme malou rysku, která označuje kam až se má pipeta vypustit, abychom získali požadovaný objem. Kapalina většinou při dodržení zásady vypouštění po stěně nádoby se vypustí přesně po ni.

Tyto rysky jsou ale pouze u pipet do 10 ml. To odpovídá tomu, že dělené pipety s větším objemem už nejsou úplně přesné.

Příklad umístění koncové rysky na pipetě:



## Správné postavení pipety při vypouštění kapaliny



Označení pipet - na každé pipetě výrobce udává charakteristiky této pipety. Uvedeme si příklady na dělené pipetě.

Označení pipety - ČSN A, Ex 20°C, 2 in 1 / 50 ml

ČSN A .....označuje třídu přesnosti podle české státní normy( může být nižší - B, ale také vyšší, úředně přezkoušená, která se dodává s oficiálním atestem)

Ex 20°C .....je kalibrována pro uvedenou teplotu

2 in 1 / 50 ml ..... pipeta je na dva mililitry a jeden mililitr je rozdělen na padesát dílků( t.j po 0,02 ml) nebo

2ml : 0,02..... je na dva mililitry a jeden dílek je 0,02 mililitru

Dalším typem pipet je mechanická dávkovací pipeta, ale názvy mohou být různé . Jsou to pipety postupně nahrazující pipety klasické. Jejich výhodou je především urychlení práce a díky výměnným špičkám odpadá problém s umýváním pipet .

Protože ve většině případů jste s touto pipetou ještě nepracovali zmíníme se o práci sní o něco podrobněji.

### 2.2.2. Mechanické pipety

Tyto pipety jsou opět buď s nastavitelným objemem, nebo tzv. jednorázové na jeden objem. Jejich konstrukce je v zásadě stejná, ať pochází od různých firem. V tělu pipety se nachází píst, který nasává požadovaný objem. Špička pipety do které se nasává kapalina je snadno měnitelná, aby se nemusela stále proplachovat popřípadě i jinak čistit.

#### Pipetovací technika

První zásada správného pipetování je zvolení vhodné techniky. Jako základní postupy se nabízí přímé pipetování, zpětné a postupné. Toto se týká především vodných roztoků. Pipetování krve si vyžaduje speciální postupy.

Každá pipeta má pět následujících funkcí.

1. Při stlačení pístu na první krok (cítíte odpor - jakoby zarážku na pístu) se ze špičky vyfoukne vzduch odpovídající zvolenému objemu, který bude pipetován.
  2. Povolněním pístu se píst vrátí na své místo a tak nasaje zvolený objem.
  3. Při opětovném zmáčknutí na první krok se nasátý objem vypustí.
  4. Při silnějším stlačení se překoná první krok a ucítíte silnější zarážku druhého kroku. Toto slouží k vyfouknutí malého zbytku pipetovaného objemu, který zpravidla zůstává ve špičce. To je zásadní rozdíl od skleněné pipety
  5. Mechanismus na odstraňování špiček - jedna z největších výhod. Personál v laboratoři nepříjde do styku s chemicky nebezpečnými látkami nebo infekčními vzorky. Jednoduchou manipulací bez dotyku rukou odhodíte špičku do připravené nádoby a po nasazení nové špičky je pipeta připravena k dalšímu dávkování.
- U starších nebo velmi laciných pipet někdy tato funkce chybí



### Přímé pipetování

Přímá technika pipetování je standartní postup při pipetování vodných roztoků.

Základní police	1	2	3	4
První krok	▼	▲	▼	▲
Druhý krok			▼	▲

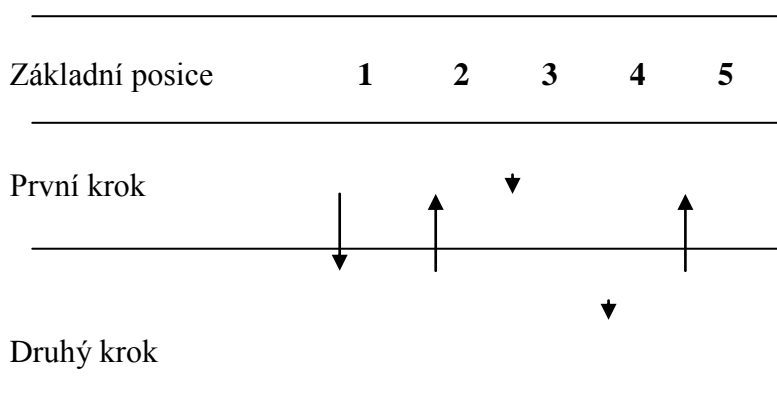
1. Stiskni píst k prvnímu kroku.
2. Ponořit špičku pipety do pipetovaného roztoku kolmo do hloubky asi 1cm. Potom pomalu pustit píst. Vytáhnout špičku z tekutiny a o stěnu kádinky lehkým dotykem odstranit možné zbytky pipetované tekutiny.

3. Vlož špičku pipety do nádoby do které se pipetuje. Zmáčkní píst na první krok a po vteřině zmáčkní až na krok druhý. Tím se pipeta dokonale vyprázdní. Vytáhnout konec pipety z nádoby. Při tomto úkonu se doporučuje lehce otřít špičku pipety o stěnu této nádoby.

4. Nyní se píst pustí a ten se vrátí do původní polohy a pipeta je připravena k dalšímu pipetování.

### Zpětné pipetování.

Tato metoda se používá pro pipetování roztoků s velkou viskozitou, nebo roztoků s tendencí k pěnění. Také se tato metoda doporučuje k pipetování velmi malých objemů.



1. Píst se zmáčkne až po druhý doraz.

2. Špička pipety se ponoří kolmo do hloubky asi 1 cm do pipetovaného roztoku a pomalu se pouští píst. Vytáhnout špičku z tekutiny a o stěnu kádinky lehkým dotykem odstranit možné zbytky pipetované tekutiny.

3. Pipeta se vloží do nádoby do které se pipetuje. Píst se zvolna zmáčkne do polohy prvního dorazu. Podrží se vteřinu v této poloze. Tekutina zbývající ve špičce by neměla vytéci. Pipeta se vyjme z nádoby.

4. Nyní se může zbývající tekutina odstranit pomocí druhého dorazu nebo se odstraní celá špička.

5. Píst se pustí a tím se vrátí do původní polohy.

## Pipetování celé krve

Je to zvláštní technika. Je ale z hlediska veterinárního lékaře důležitá.

Téměř vždy krev pipetujeme do nějakého reagentu (destilovaná voda, fyziologický roztok, směs enzymů apod.).

---

Základní police	1	2	3	4	5	6
První krok	▼	▲	▼	▲	▲ ▼	▼
Druhý krok						▼

---

Užijte kroky 1 a 2 přímé techniky. Tím naplníte špičku pipety krví. Špičku opatrně otřete čistou suchou látkou.

3. Ponořte špičku do reagentu a zmáčkněte píst na první krok. Přesvědčte se zda je špička opravdu ponořena. Tím se krev vypustí do reagentu.

4. Uvolněte opatrně píst do základní polohy. Tato akce naplní špičku reagentem.

5. Několikrát opakujte zmáčknutí pístu na první krok a následné uvolnění dokud není špička prostá krví.

6. Teprve nyní odstraňte pipetu z nádoby a zmáčknutím pístu na druhý krok odstraňte zbytek vzorku.

7. Uvolněním pístu do základní polohy je pipeta připravena k další operaci.

## Opakované pipetování

Speciální technika pro dávkování stále stejných objemů, většinou reakčních látek. Používají se speciální špičky i speciální pipety. Špička má výrazně větší objem než požadovaná dávka. Tak se speciálně upravenou pipetou z jedné špičky dávkuje množství malých objemů.

Jako nejmodernější směr v tomto druhu dávkovačů se poslední dobou objevily i elektronické pipety. Tyto pipety mají píst poháněný malým elektromotorkem. Také mají



jednoduché softwarové vybavení, které umožňuje používat pipetu pro různé objemy jako pipetu, ale také i jako dávkovač (viz. opakované pipetování).

### 2.2.3. Stacionární dávkovače

Při stálém dávkování stejného objemu především pomocných látek, ale i vlastních reagensů se užívají stacionární dávkovače, umístěné přímo na reagenční lahvi obsahující požadovanou reagenii. V principu jde zase o dvoucestný nastavitelný píst. Z těla dávkovače potom vede trubička, kterou vytéká požadovaný objem.

Postup práce je jednoduchý: nastaví se objem, píst se zmáčkne, tím se vytlačí s pístu vzduch, při puštění se píst vrací do původní polohy buď automaticky nebo ručně a tím nasává požadovaný objem. Při dalším zmáčknutí pístu s trubičky vyteče nastavený objem. Tím je operace ještě rychlejší než u pipet. Popřípadě je proces opačný, záleží na konstrukci dávkovače. Běžně se dávkuje objemy od 0,1 ml do 50 ml i více.

Příklad stacionárního dávkovače :



### Odměrné baňky

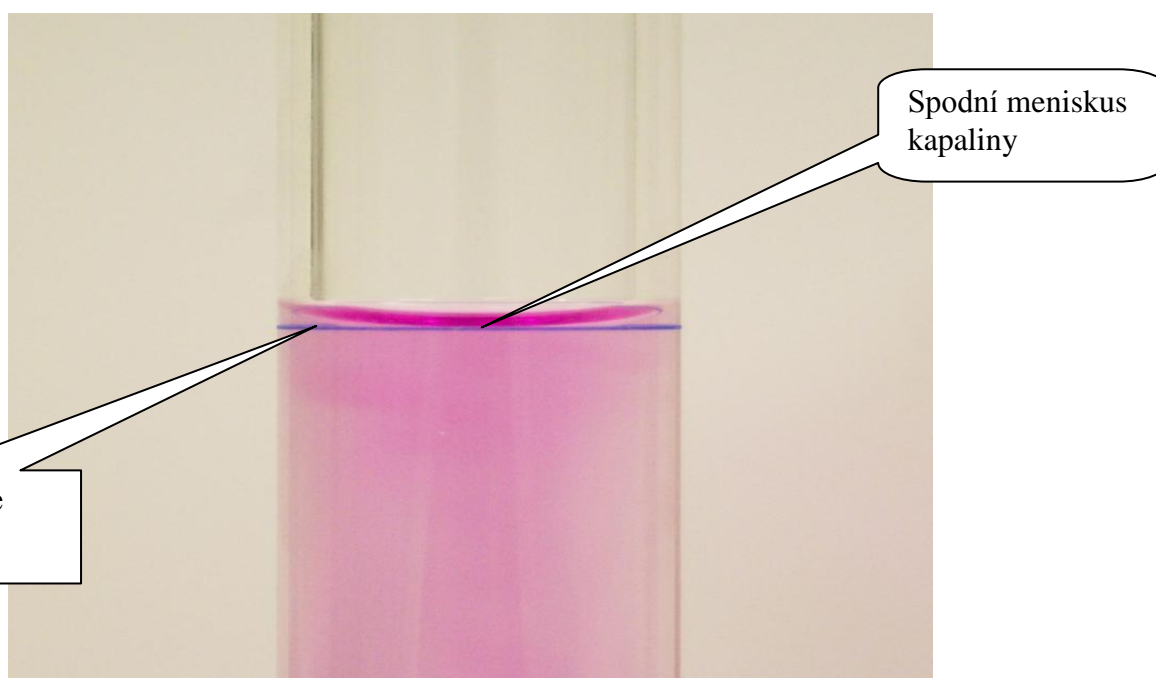
Pro přípravu roztoků se v laboratorní praxi nejčastěji používají odměrné baňky. Jsou to baničky s vysokým úzkým hrdlem na kterém je ryska označující objem, který dostaneme, naplníme li baňku po tuto rysku. Úzké hrdlo umožňuje přesnější odečet a navíc zabraňuje odpařování kapalin. Použití těchto baněk usnadňuje velmi přípravu roztoků, protože nemusíme počítat kolik gramů rozpouštědla musíme přidat k účinné látce, kterou připravujeme do roztoku. Pouze do baničky navážíme nebo napipetujeme požadované množství látky a rozpouštědlem doplníme po rysku. Běžně vyráběný objem baněk je od 5 do 2000 ml.

Pokud připravujeme roztoky o přesné koncentraci nebo ředíme vzorky, kromě zvláštních případů, vždy připravujeme tyto roztoky do odměrných baněk.

Pozor !! Odměrná baňka je chemické sklo „na dolítí“. To znamená, že dolitím po rysku dostaneme požadovaný objem, ale vylitím už ne !! Sklo „na vylití“ je např. pipeta, byreta apod.

O výhodách takového úkonu jsme se už zmínili. Pro přesný odečet objemu musíme dodržet pravidlo odečtu na tzv. spodní meniskus u kapalin s výjimkou rtuti(zde odečítáme na horní meniskus. Stejně pravidlo platí i u klasických pipet.

Příklad správného odečtu:



Pokud používáme při pipetování silných kyselin a zásad, jiných agresivních látek, popřípadě neznámých vzorků klasické skleněné pipety, je vhodné používat některý s bezpečnostních nástavců, abychom zabránili případnému napití a poleptání ústní dutiny. Správná technika dávkování kapalin by měla splňovat dva hlavní požadavky a to

#### 2.2.4. Správnost a přesnost dávkování

Přesnost a správnost. Tyto pojmy jsou poměrně často zaměňovány. Jsou to obecné pojmy, které lze vztáhnout na řadu činností nejen dávkování kapalin. Těmito pojmy se statisticky vyhodnocují i celé metody apod.

Správnost – znamená těsnost shody průměru velkého počtu měření ve srovnání s referenční – očekávanou hodnotou nějaké veličiny.

Přesnost – je shoda konkrétního měření s reálnou hodnotou naměřené veličiny ( např. získanou průměrem z velkého počtu měření )

Obě hodnoty spolu těsně souvisí. Je nutné aby měření, laboratorní metoda apod. měli dobrou správnost i přesnost.

Řada faktorů může ovlivňovat tyto dva hlavní kvantitativní požadavky.

#### Správnost

Pipeta dávkuje správně, když objem dávkovaný odpovídá objemu nastavenému.

$$E = \frac{\bar{v} - v_0}{v_0} \times 100$$

E .....správnost v %

$\bar{v}$  ..... změřená průměrná hmotnost dávky

$v_0$  .....zamýšlený objem vyjádřený v mg

## Přesnost

Ukazuje přesnost opakovaného dávkování. Je vyjádřena jako variační koeficient(CV)

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\bar{w} - w_i)^2}{n - 1}}$$

s ..... směrodatná ( standartní ) odchylka

$w_i$ .....jednotlivé měření

$\bar{w}$ .....průměr všech měření

n .....počet měření

$$CV (\%) = \frac{s}{\bar{w}} \times 100$$

Poznámka: faktory které mohou správnost a přesnost jsou velmi různorodé - atmosférický tlak, teplota, vlastnosti dávkovaných kapalin, materiál špiček, směr a rychlost pipetování, kvalita práce personálu. Toto se ale může s větší částí týkat i pipetování klasickými skleněnými pipetami.

## Cvičení 1

### **Přesnost a správnost dávkování kapalin**

Pro toto měření si vybereme některé s dávkovacích zařízení a dvě kádinky. Do jedné si napustíme destilovanou vodu a do druhé budeme dávkovat. Kádinku vložíme na misku vah a vynulujeme váhy.

Požadovaný objem nadávkujeme 10x a každou dávku zvážíme. Je třeba mít dostatek platných míst navážky pro statistické vyhodnocení. Podle objemu = hmotnosti dávkované kapaliny ( pro naše potřeby to je destilovaná voda ) zvolíme i typ vah na, na kterých budeme vážit.

Pro objemy do 500 $\mu$ l - analytické váhy ( 0,0001g )

Pro objemy 500 - 1000 $\mu$ l - minimálně semianalytické váhy ( 0,001 g ) nebo analytické

Pro objemy 1 – 9,9 ml - semianalytické

Pro objemy 10,0 ml a více - předvážky ( 0,01 g )

Při vážení můžeme s úspěchem použít funkci nulování na jednotlivých vahách. Znamená to, že po zvážení první dávky destilované vody váhy znovu vynulujeme a můžeme plynule pokračovat v dávkování bez jakékoliv manipulace s kádinkou.

Výsledek je vyjádřen v % přesnosti a správnosti. Obecně platí čím menší jsou tato čísla, tím byla měření přesnější.

# Protokol o laboratorním vyšetření

**Vzorek:** .....

**Práci provedl:** .....

**Dne:** .....

---

**Postup :**

**Výpočet :**

**Výsledek:**

### **3.0 Kvalitativní chemie**

Vlastní analýzu se můžeme rozdělit na zkoušky senzorké - např. barva a vůně vzorku (anorganické látky jsou vesměs málo zapáchající i málo barevné).

Zkoušky fyzikálně chemických vlastností.

Z nich nejjednodušší a nejrychlejší je stanovení pH roztoku vzorku - může to napovědět o charakteru solí obsaženém ve vzorku. Soli slabých kyselin a silných zásad (např.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) budou mít pH v zásadité oblasti a naopak. Je taky třeba si uvědomit, že vzorek může být směsí solí.

Viskozita - u některých kapalin viskozita výrazně stoupá s koncentrací u některých ne.

### **Analytické zkoušky**

#### **3.1. Kationty**

Jako první analytická zkouška se provede zkouška v plameni - kdy zaznamenáváme jevy vznikající po excitaci elektronů zkoumaného prvku. Elektrony excitované dodáním energie se navracejí zpět na své energetické hladiny a rozdíl energie mezi excitovaným stavem a stavem základním vyzáří ve formě elektromagnetického záření, jehož vlnové délky jsou typické pro daný prvek. Tento princip se využívá u velmi přesných analytických přístrojů u metod označených jako AES (atomová emisní spektrofotometrie). Opačného jevu jako je pohlcování těchto vlnových délek, které prvek vyzářil využívá AAS (atomová absorpční sp.). Většina prvků vyzařuje vlnové délky mimo viditelné spektrum (400 - 760 nm). U několika málo prvků můžeme tento jev pozorovat prostým okem.

Provedení: platinovou kličku zatavenou v skleněné tyčince ponoříme do zředěné kyseliny chlorovodíkové (ředěna 1:1). Pak kličku vložíme do nesvítivé části kužele plamene Bunsenova kahanu. Pokud se nad kličkou plamen zbarví, opakujeme tuto operaci dokud zbarvení nezmizí. Potom vložíme kličku do roztoku vzorku a znovu vložíme do plamene. Sledujeme zbarvení.

**Upozornění** - žihejte pouze kličku na platinovém drátku. Nežíhejte celý drátek. Po nahřátí i konce drátku u skleněné tyčinky hrozí prasknutí této tyčinky.

Kationty barvící plamen ve viditelné části světelného spektra.

intenzivně žlutě - $\text{Na}^+$
světle fialově - $\text{K}^+$ , $\text{Rb}^+$ , $\text{Cs}^+$
červeně - $\text{Sr}^{2+}$
oranžově - $\text{Ca}^{2+}$
zeleně - $\text{Ba}^{2+}$ , $\text{Tl}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{B}^{3+}$

Nyní přistoupíme k vlastním analytickým reakcím.

Na neznámý vzorek můžeme působit nepřeborným množstvím chemických činidel. Vzhledem k velkému množství reakcí byly učiněny pokusy tyto reakce utřídit v nějaký systém. První ucelený systém vytvořil na počátku 19. stol. Fresenius. Byl to sirovodíkový systém. Byl ale poměrně složitý a zdlouhavý.

U nás zavedl dobře propracovaný systém prof. Okáč. Vypracoval systém tzv. skupinových činidel, jejichž reakcí se vytypuje ze vzorku jeden nebo několik málo iontů. Ty jsou potom dokazovány specifickými reakcemi typickými pro jeden konkrétní iont.

Pro kationty jsou to skupinová činidla : zředěná kys. chlorovodíková, zředěná kyselina sírová, sulfan, KOH nebo NaOH,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ , KJ,

Reakce, které tyto činidla dávají s neznámým vzorkem jsou reakce srážecí. Sraženiny mívají charakteristickou strukturu i barvu , typickou pro daný kationt. V řadě případů je



ale možno přidáním jiných činidel sraženinu buď rozpustit nebo převést na barevně jinou sraženinu. Tyto vlastnosti sraženin umožňují pomocí skupinových činidel vytypovat který kationt je v neznámém vzorku přítomen. V některých případech podobné reakce dávají i jiné kationty. K rozlišení takovýchto kationtů a nebo i k potvrzení jednoho předpokládaného kationtu se potom používají specifické reakce. Jsou to reakce typické (za uvedených podmínek) pro jeden jediný kationt.

### **Příklady:**

#### 1. Typ reakce : sraženina rozpustná v nadbytku činidla

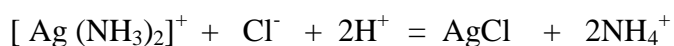
Příklad : reakce  $\text{Hg}^{2+}$  se skupinovým činidlem KJ za vzniku sraženiny  $\text{HgI}_2$ , v nadbytku se rozpouštějící na  $[\text{HgI}_4]^{2-}$

Poznámka : případ kdy skupinová reakce je natolik typická, že slouží i jako přímý důkaz. Vznikající  $[\text{HgI}_4]^{2-}$  je základem pro Nesslerovo činidlo používající se na důkaz  $\text{NH}_3$  a jeho solí.

Praktické provedení : k 1 - 2 ml vzorku opatrně přidáváme po kapkách činidlo. Vzniká jasně červenooranžová sraženina velmi dobře rozpustná v nadbytku činidla.

#### 2. Typ reakce : sraženina rozpustná v jiném činidle

Příklad : reakce  $\text{Ag}^+$  se skupinovým činidlem zředěnou kyselinou chlorovodíkovou za vzniku sraženiny  $\text{AgCl}$ . Po přidání  $\text{NH}_3$  se rozpustí na  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ . Přidáním  $\text{HNO}_3$  je opět možno získat nerozpustný  $\text{AgCl}$ .



Poznámka : opět příklad skupinové reakce, která může sloužit i jako reakce specifická.

Praktické provedení : k 1 - 2 ml vzorku opatrně přidáváme po kapkách činidlo. Vznikne bílá sraženina. Přidáním  $\text{NH}_3$  se sraženina rozpustí. Dostatečným okyselením kys. dusičnou opět vznikne bílá sraženina.

### 3. Typ reakce : sraženina rozpustná za tepla

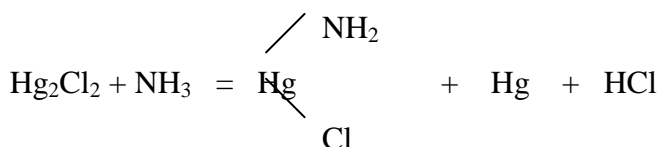
Příklad : Reakce  $\text{Pb}^{2+}$  se skupinovým činidlem zředěnou kyselinou chlorovodíkovou za vzniku sraženiny  $\text{PbCl}_2$ . Za horka se rozpouští a po ochlazení vykrytalizuje.

Poznámka : opět velmi typická reakce.

Praktické provedení : k 1 - 2 ml vzorku opatrně přidáváme po kapkách činidlo. Vznikne bílá sraženina. Většinu sraženiny odlijeme a necháme ve zkumavce maximálně 1/4 původního objemu. K té přidáme asi čtyřnásobný objem destilované vody a nad kahanem opatrně zahříváme až k varu. Pokud byla sraženina dostatečně naředěna, tak se bezzbytku rozpustí. Po ochlazení se vyloučí krystalky  $\text{PbCl}_2$ .

### 4. Typ reakce : změna barvy sraženiny

Příklad : reakce  $\text{Hg}_2^{2+}$  se zředěnou kyselinou chlorovodíkovou za vzniku kalomelu  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ . Kápneme-li na sraženinu  $\text{NH}_3$  intenzívně černá uvolněnou rtuť.



Praktické provedení : k 1 - 2 ml vzorku opatrně přidáváme po kapkách činidlo. Vznikne bílá sraženina. Necháme chvíli stát. Těžší sraženina klesne na dno zkumavky. Tekutinu nad sraženinou opatrně slijeme. Potom přidáme po kapkách koncentrovaný roztok amoniaku. Sledujeme černání sraženiny.

Jako velmi pěkný případ použití skupinových a následně specifických reakcí je úloha **dělení nerozpustných chloridů**. Patří se kationty které tvoří sraženiny se skupinovým činidlem -zředěnou kyselinou chlorovodíkovou - nerozpustné chloridy. Jsou to AgCl, Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, PbCl<sub>2</sub>, TlCl, CuCl, AuCl. Soli měďné a zlatné jsou však ve vodě téměř nerozpustné a proto se jejich srážení neprovádí. Thalium jako sloučenina se vyskytuje vzácně, proto se budeme zabývat pouze Ag<sup>+</sup>, Hg<sub>2</sub><sup>2+</sup> a Pb<sup>2+</sup>. Jednotlivé reakce těchto kationtů s zředěnou kyselinou chlorovodíkovou jsme si probrali v předcházejícím oddíle u typů reakcí sraženin. Teď tyto reakce pouze sloučíme v jeden analytický postup.

Praktický postup: asi 5 ml vzorku vysrážíme asi 5 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové.

Sraženinu nerozpustných chloridů přefiltrujeme přes nálevku se skládaným filtračním papírem. Filtrát vylijeme .

Nyní začneme zkoumat které nerozpustné chloridy jsou přítomny.

Sraženinu na filtračním papíře promyjeme malým množstvím destilované vody. Potom si ohřejeme ve zkumavce asi 3 ml destilované vody k bodu varu a nalijeme na sraženinu. Filtrát zachytíme do zkumavky. Je li přítomen v sraženině PbCl<sub>2</sub> , tak se rozpustí. Po ochlazení filtrátu by se měly objevit krystalky PbCl<sub>2</sub> . Dále sraženinu na filtru promyjeme asi 3 ml NH<sub>3</sub> . Filtrát opět zachytíme do nové zkumavky. Je li přítomen AgCl rozpustí se na komplex a po okyselení HNO<sub>3</sub> se opět objeví sraženina AgCl. A zároveň je li přítomen ve sraženině Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> , tak po prolití čpavkem zčerná vyredukovanou rtuť.

Je třeba poznamenat, že existují kationty nedávající skupinové reakce např. N<sup>a+</sup>, K<sup>+</sup>.

### 3.2 Anionty.

Skupinová činidla pro anionty:  $\text{BaCl}_2$  nebo  $\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{I}_2$ ,  $\text{KI}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Na rozdíl od kationtů nevznikají při těchto reakcích vždy jen sraženiny, ale probíhají i jiné reakce. Při reakcích s  $\text{Ba}^{2+}$  a  $\text{Ag}^+$  vznikají sraženiny, které se liší hlavně rozpustností v kyselinách. U reakcích  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{I}_2$  a  $\text{KI}$  jde o reakce oxidoredukční. Reakce s  $\text{H}_2\text{SO}_4$  jde o vytěšňování aniontů slabých kyselin z jejich solí.

U reakcí srážecích je postup stejný jak u kationtů. Uvedeme si to na příkladu důkazu  $\text{NO}_2^-$ .

#### Příklad postupu u důkazu neznámého aniontu

##### Reakce se skupinovými činidly :

1. Typ reakce : srážecí

Příklad : reakce se skupinovým činidlem  $\text{BaCl}_2$  nebo  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$

Provedení : 1 -2 ml vzorku přidáme po kapkách činidlo a sledujeme zda se vytvoří sraženina.

Pokud se nevytvoří nemohou být přítomny anionty  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{AsO}_3^{3-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , které by sraženinu vytvořily.

2. Typ reakce : oxidoredukční

Příklad : neznámý vzorek se skupinovým činidlem  $0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KMnO}_4$

Manganistan je fialový. Při reakci přijímá 5 elektronů ( například změna  $5 \text{ NO}_2^-$  na  $5 \text{ NO}_3^-$ ), vzniká manganatý iont, který je bezbarvý.

Poznámka : používáme li manganistan k oxidoredukčním reakcím je nutno reakční směs **vždy** okyselit.

Provedení : 1 ml vzorku okyselíme asi 1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $c= 2 \text{ mol.l}^{-1}$ . Opatrně po stěně přidáváme činidlo. V případě pozitivní reakce se činidlo odbarvuje.

Tuto skupinovou reakci poskytují např. i anionty :  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,

Ovšem ionty  $\text{SO}_3^{2-}$  a  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  můžeme vzhledem k předchozí reakci s  $\text{Ba}^{2+}$  opominout.

Takže s běžných aniontů zbývají po dvou reakcích anionty :  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$

### 3. Typ reakce : vytěšňovací

Příklad : reakce se skupinovým činidlem

Příklad :. Soli slabých kyselin jsou v kyselých roztocích velmi nestálé a po okyselení se rozkládají a těkají z roztoku. Těkající plyny mají většinou typický zápach, nebo je vidět aspoň zašumění nebo tvorba bublinek v roztoku.

Poznámka : citlivost reakce je ovlivněna koncentrací vzorku a následným subjektivním posouzením - tvorba bublinek a zápach nemusí být u slabých koncentrací patrné. Proto je li to možné, unikající plyn zavádíme do jiného reakčního činidla, které nám bude s plynem reagovat.

Provedení : 1 ml vzorku opatrně smícháme s 1 - 2 ml činidla (  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ředění 1:1 ). V pozitivním případě uvidíme unikající bublinky  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SH}$  nebo nahnědlé dýmy kyslíčků dusíku s typickým zápachem v případě přítomnosti  $\text{NO}_2^-$ .

Tudíž skupinovou reakci poskytují se zbývajících aniontů -  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{HS}^-$ ,

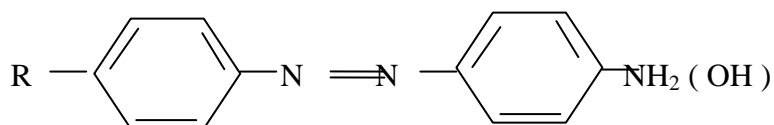
Z uvedených reakcí je tedy zřejmé , že ve vzorku mohou být obsaženy  $\text{HS}^-$ ,  $\text{CN}^-$  a  $\text{NO}_2^-$ . Ovšem aniont  $\text{HS}^-$  je nepravděpodobný, protože při vytěšňovací reakci by díky jeho velmi silnému a typickému pachu byl s vysokou pravděpodobností určen. Proto musíme

nejdříve prověřit přítomnost aniontů  $\text{CN}^-$  a  $\text{NO}_2^-$ . To učiníme pomocí specifických reakcí. Specifická reakce na  $\text{NO}_2^-$  je diazotace a pro  $\text{CN}^-$  je vytvoření berlínské modři.

Specifická reakce na  $\text{NO}_2^-$

Typ reakce : diazotace.

Příklad : Je to reakce aniontu  $\text{NO}_2^-$  s primárním aromatickým aminem v kyselém prostředí za vzniku diazoniové soli. Tato sůl se potom tzv. kopulací tj. reakcí s aromatickým aminem nebo alkoholem přemění na azobarvivo.



Provedení : - k 1 ml aromatického aminu ( např. kys. sulfanilová v prostředí  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  kys.chlorovodíkové nebo octové ) přidáme asi 1 ml vzorku, protřepeme a necháme několik minutu stát. Potom přidáme primární aromatický alkohol v zásaditém prostředí (  $\alpha$  naftol rozpuštěný v NaOH ) Přidáváme po kapkách až se pH směsi přesune do zásaditého pH. V přítomnosti  $\text{NO}_2^-$  se to projeví vytvořením sytě červené až černočervené barvy vznikajícího azobarviva

### Důkaz iontů $\text{CN}^-$

Typ reakce: vznik koordinační komplexní sloučeniny

Příklad:  $\text{CN}^-$  tvoří s  $\text{Fe}^{2+}$  i s  $\text{Fe}^{3+}$  v kyselém prostředí modrou sloučeninu

$\text{K} \{ \text{Fe} [ \text{Fe} (\text{CN})_6 ] \}$  berlínské modři.

Provedení: k asi 1 ml vzorku přidáme několik zrněk  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  a protřepeme. Po několika minutách směs okyselíme HCl o koncentraci  $2 \text{ mol.l}^{-1}$ . V pozitivním případě vznikne modré zbarvení.

Podobně jako u kationtů, tak i některé anionty nedávají skupinové reakce např.  $\text{NO}_3^-$ .  
Takový aniont můžeme dokazovat pouze specifickou reakcí.

### **Specifické reakce některých důležitých aniontů**

$\text{NO}_3^-$  jeden s nejčastějších aniontů. Většina dusičnanů je rozpustných a je netečný ohledně skupinových činidel.

Typ reakce : oxidoredukce.

Příklad: činidlo je difenylamin rozpuštěný v koncentrované kyselině sírové. Oxiduje se v přítomnosti  $\text{NO}_3^-$  na difenylaminovou modř.

Poznámka : podobnou reakci dává většina oxidačních činidel např. kysličníky halogenidů, peroxid,  $\text{MnO}_4^-$ .

Provedení : 1 ml pitné vody napustíme do zkumavky. V jiné zkumavce rozpustíme několik krystalků difenylaminu v 1 ml koncentrované kyseliny sírové. Opatrně po stěně nakloněné zkumavky podvrstvíme tímto činidlem vzorek. Na styku obou kapalin se v pozitivním případě vytvoří modrý prstenec.

nebo:

Typ reakce : oxidoredukční .

Příklad: v kyselém prostředí koncentrované  $\text{H}_2\text{SO}_4$  oxiduje soli železnaté a  $\text{NO}_3^-$  se redukuje na  $\text{NO}$ , který se z roztoku uvolňuje.

Poznámka : ještě intenzivnější reakci dávají  $\text{NO}_2^-$ , rušivé reakce dávají halogenidy, kyanidy a některé komplexní sloučeniny železa.

Provedení : k 1 ml vzorku přidáme 1 ml koncentrovaného roztoku  $\text{FeSO}_4$  a opatrně po stěně nakloněné zkumavky podvrstvíme koncentrovanou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Na rozhraní kapalin v

pozitivním případě vznikne hnědý prstenec (nestálý  $\text{FeSO}_4 \cdot \text{NO}$ ). Při promíchání se uvolňuje z roztoku NO.

$\text{SO}_4^{2-}$  - soli jedné z nejdůležitějších kyselin. Z medicínského hlediska je důležitý hemihydrát síranu vápenatého ( $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ ), což je sádra a síran barnatý ( $\text{BaSO}_4$ ), používaný jako kontrastní látka v rentgenologii.

Typ reakce : srážecí.

Příklad : Síraný tvoří se skupinovým činidlem  $\text{BaCl}_2$  jednu z nejhůře rozpustných sloučenin  $\text{BaSO}_4$ .

Poznámka : sraženina je dokonalé bílá a proto se  $\text{BaSO}_4$  používá jako barevný standart pro bílou barvu u některých optických metod.

Provedení: k asi 1 ml vzorku přidáme několik kapek činidla. V pozitivním případě se vytvoří hustá, zářivě bílá sraženina, nerozpustná v kyselinách.

$\text{Cl}^-$  - nejdůležitější aniont vnitřního prostředí organismu. Jako sůl  $\text{NaCl}$  tvoří fyziologický roztok (0,9%ní roztok)

Typ reakce : oxidačně-redukční

Příklad : oxidace chloridů na volný chlór pomocí katalyzátoru burelu ( $\text{MgO}_2$ ) v koncentrované  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a následný důkaz volného chlóru .

Provedení : k asi 1 ml vzorku přidáme asi 1 ml koncentrované kyseliny a několik zrněk katalyzátoru. Opatrně zahříváme. V pozitivním případě unikají žlutozelené dýmy (při velké koncentraci). Dále je možná indikace čichem - velmi typický pach. Též můžeme indikovat unikající chlór pomocí proužku filtračního papíru namočeného do činidla (1% anilin v 20% kyselině octové.) V pozitivním případě se filtrační papír vložený do ústí zkumavky zbarví červenofialově až modře.



$\text{CO}_3^{2-}$  - tvoří jedny z nejběžnějších solí . Například velmi hojné jsou ve vodě - po povahaření vody tvoří nerozpustné uhličitany vodní kámen. V organismu se podílejí velkou měrou na pufrovacím mechanismu krve.

Typ reakce : vytěšňovací

Příklad: silné kyseliny rozkládají soli  $\text{CO}_3^{2-}$  za vzniku  $\text{CO}_2$ , který se sráží v prostředí  $\text{Ba(OH)}_2$  na bílý  $\text{BaCO}_3$  .

Provedení : do zkumavky dáme asi 3 ml vzorku a stejné množství zředěné  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a rychle zazátkujeme pomocí zátky s trubičkou. Konec trubičky ústí do roztoku  $\text{Ba(OH)}_2$  . Unikající plyn probublává tímto reakčním roztokem. V pozitivním případě se roztok zakalí .

### **3.3 Organická kvalitativní chemie**

Zásadní rozdíl mezi organickou a anorganickou kvalitativní analýzou je že zkumavkovými reakcemi nejsme schopni u organické analýzy určit jednotlivá chemická individua. Pouze můžeme určit, které funkční popřípadě substituční skupiny neznámý vzorek obsahuje. Je to způsobeno nepřebným množstvím kombinací organických sloučenin vykazující stejnou funkční nebo substituční skupinu, ale reakce nám nic neřekne o délce a struktuře uhlíkatého řetězce. Proto se zkumavkové reakce u organické analýzy používají velmi zřídka a většinou v případě, že máme dosti přesnou představu o povaze neznámého vzorku a potřebujeme si ji potvrdit nebo upřesnit. Například je ve vzorku přítomen disacharid a jenom chceme zjistit zda je redukující nebo neredukující, nebo zda jsou v moči přítomny bílkoviny což může značit poškození ledvin pacienta.

Z tohoto důvodu budeme provádět pouze některé reakce na důkaz přítomnosti funkčních skupin význačných organických sloučenin jako jsou : alkoholy a aldehydy, cukry, aminokyseliny a bílkoviny.

## Alkoholy

Primární a sekundární reagují se sirouhlíkem a hydroxydem draselným za vzniku alkylxantogenanů. Ty se dají vysrážet síranem měďnatým.

Oxidace na aldehydy - 2,4 dinitrofenylhydrazin, nebo jiná činidla na aldehydy (Tollensovo činidlo, Schiffovo činidlo)

Typ reakce: oxidoredukční

Příklad: oxidace alkoholu na příslušný aldehyd - například etanolu na acetaldehyd.

Provedení: měděný drátek žiháme v plameni kahanu, až se pokryje CuO (ztmavne). Horký drátek vhodíme do zkumavky se vzorkem. Potom přidáme Schiffovo činidlo. V pozitivním případě vznikne růžovofialové zbarvení dokazující vznik aldehydu oxidací z přítomného alkoholu.

Důležitý je důkaz metanolu jako velmi toxické látky.

Provedeme si důkaz metanolu vedle etanolu, jako modelový příklad jedné z nejčastějších příčin otrav metanolem.

Typ reakce: oxidoredukční

Příklad: metanol se oxiduje na formaldehyd. Etanol se oxiduje na acetaldehyd. Při použití mírného oxidoredukčního postupu se oxiduje pouze alkohol reaktivnější (s kratším řetězcem)

Provedení: k 1 ml vzorku se přidá asi 1 ml zředěné  $H_2SO_4$  (1:1) a asi 1 ml 0,1 M  $KMnO_4$ . Směs se protřepe a nechá se 20 minut stát. Roztok potom odbarvíme přidáním 1 ml 0,1 M  $(COOH)_2$  a opatrně po stěně zkumavky 0,5 ml koncentrované  $H_2SO_4$ . Směs ochladíme. V pozitivním případě vzniklý formaldehyd můžeme dokázat dvěma způsoby.

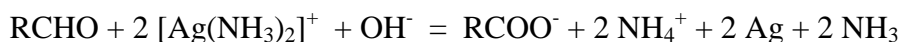
1. k asi 2 ml směsi přidáme stejné množství Schiffova činidla, nejpozději do 10 min vznikne fialové zbarvení. Pozdější zbarvení není průkazné. Vychází se z předpokladu, že metanol se oxiduje snadněji než etanol. Po 10 minutách by se už projevila postupná oxidace etanolu.
2. k asi 2 ml směsi se přidá několik kapek 0,5 % síranu morfinu a po stěně zkumavky 1-2 ml koncentrované H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Na styku obou kapalin se v pozitivním případě objeví fialový prstenec.

## Aldehydy

Snadno se dají oxidovat i redukovat na příslušné kyseliny nebo alkoholy.

Typ reakce :oxidoredukční

Příklad: aldehydy redukují alkalický amoniakální roztok stříbra ( Tollensovo činidlo)



Provedení: ve zkumavce vyčištěné kyselinou chromsírovou a potom vypláchnutou destilovanou vodou si připravíme Tollensovo činidlo - 2 ml 10% AgNO<sub>3</sub> + 2 ml 2 M NaOH. Vzniklý Ag<sub>2</sub>O rozpustíme v koncentrovaném NH<sub>3</sub>. K takto připravenému činidlu přidáme asi 1 ml vzorku. V pozitivním případě se na stěnách zkumavky vyredukuje kovové stříbro.

Velmi typickou oxidoredukční reakcí aldehydů je reakce s Schiffovým činidlem(kyselina fuchsinsířčitá).

Typ reakce: oxidiredukční

Příklad: aldehydy rozkládají kyselinu fuchsinsiřičitou na kyselinu siřičitou a červenofialový fuchsin..

Provedení: k asi 1 ml vzorku přidáme několik kapek Schiffova činidla. V pozitivním případě se objeví červenofialové zbarvení.

### **Reakce cukrů.**

Z velkého množství reakcí jsme vybrali pouze oxidoredukční reakce a reakci s minerálními kyselinami.

Monosacharidy jsou redukující. Mají vždy aldehydickou nebo ketonickou skupinu přístupnou k oxidoredukční reakci.

Oxidoredukční reakce jsou zajímavé především u disacharidů. Zjistíme jakým způsobem jsou obě cukerné podjednotky k sobě vázány. U vyšších cukrů je toto stanovení pouze orientační, protože téměř nikdy u těchto cukrů nejsou podjednotky vázány jedním způsobem a dané reakce nám nic neřeknou o četnosti redukujících nebo neredukujících vazeb.

U reakcí s minerálními kyselinami vznikají deriváty furfuralu, které např. s fenoly, aminy i jinými sloučeninami poskytují intenzívně zbarvené produkty.

#### **1.**

Typ reakce: oxidoredukční

Příklad: reakce s Fehlingovým činidlem(Fehling I - 7% roztok  $\text{CuSO}_4$  + Fehling II - 10g NaOH a 35g vinanu sodno draselného v 100 ml destilované vody, obě činidla smíchat stejným dílem). Fehlingovo činidlo se redukuje působením cukrů na  $\text{Cu}_2\text{O}$ .

Provedení: k 1 ml čerstvě smíchaného Fehlingova činidla přidáme asi 2 - 3 ml vzorku a zahřejeme k varu. V pozitivním případě vznikne cihlově červená sraženina.

2.

Typ reakce: oxidoredukční

Příklad : reakce s Benediktovým činidlem, vzniká opět  $\text{Cu}_2\text{O}$

Provedení: k asi 1 ml vzorku přidáme stejný objem činidla a zahřejeme k varu. V pozitivním případě vzniká cihlově červené zbarvení.

3.

Typ reakce: oxidoredukční

Příklad: reakce s Nylanderovým činidlem, vyredukuje se kovový vizmut

Provedení: k 1 ml vzorku přidáme 0,5 ml činidla a povaříme. V pozitivním případě vzniká černá sraženina.

4.

Typ reakce : s minerálními kyselinami - Selivanova reakce

Provedení: k 1 ml vzorku se přidá několik kapek alkoholického roztoku naftolu, protřepe se a opatrně podvrství koncentrovanou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . V pozitivním případě vznikne na styčné ploše kapalin fialový prstenec.

### **Důkaz aminokyselin.**

Metody jsou zaměřeny spíše na důkazy konkrétních aminokyselin a následně jejich množství.

Zkumavková reakce se v podstatě nepoužívá. V našem případě použijeme modelově reakci, která se užívá jak k důkazu kvalitativnímu tak kvantitativnímu.

Typ reakce: kondenzace

Příklad: volná aminoskupina aminokyselin tvoří s ninhydrinem barevné kondenzační produkty různé barvy podle typu aminokyseliny.

Provedení. k asi 1 ml vzorku přidáme několik kapek ninhydrinového činidla a zahřejeme opatrně k varu. V pozitivním případě se po krátké chvíli roztok začne barvit podle typu aminokyselin od žlutorůžové až po fialově modrou barvu.

### **Reakce bílkovin**

Důkaz přítomnosti bílkovin je významná reakce jak z hlediska analytického, tak z hlediska veterinárního lékaře. Reakce, které budeme provádět a které jsou nejběžnější na prostý důkaz bílkovin jsou založeny na změnách sekundární, terciální a kvarterní struktury.

Bílkoviny jako složitý útvar o velké molekulové hmotnosti zaujímají v roztoku přesný tvar kvůli své rozpustnosti a funkčnosti. Porušení tohoto tvaru vede ke koagulaci.

V některých případech není ani tak porušena jejich struktura, ale je jim pomocí chemických činidel odňata voda, kterou se udržují v roztoku (vysolení bílkovin).

1.

Typ reakce: koagulace bílkovin

Příklad: nejběžnější analytické činidlo používané ke koagulaci bílkovin je kyselina trichloroctová (TCA)

Provedení: k 1 ml vzorku přidáme několik kapek 10% TCA. V pozitivním případě podle koncentrace bílkovin vznikne slabě bílý zákal až mohutná bílá sraženina.

2.

Typ reakce: koagulace bílkovin spojená s důkazem aromatických aminokyselin

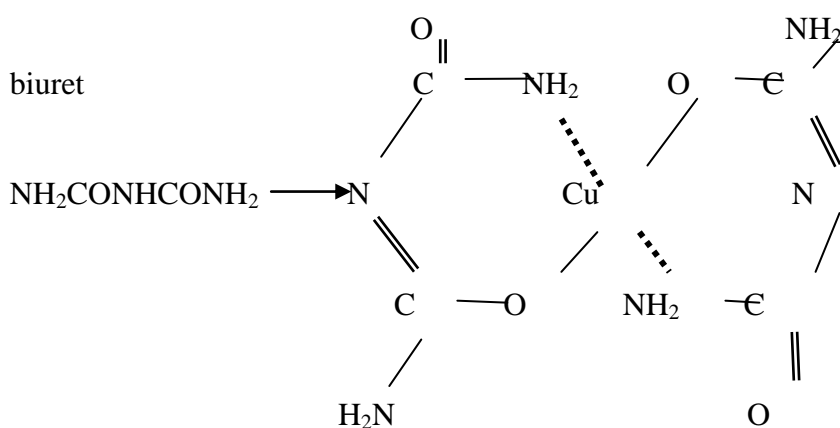
Příklad: xantoproteinová reakce - koagulace pomocí kyseliny  $\text{HNO}_3$ , s následnou nitrací aromatických jader aminokyselin za vzniku barevných produktů.

Provedení: k asi 1 ml vzorku přidáme asi 0,5 ml koncentrované  $\text{HNO}_3$  a povaříme. V pozitivním případě se vytvoří žluté vločky sražených bílkovin obsahující aromatické aminokyseliny.

3.

Typ reakce: důkaz přítomnosti peptidické vazby - biuretová reakce

Příklad: biuret vzniká zahříváním močoviny a dává s měďnatými solemi v zásaditém prostředí fialově zbarvený komplex. Podobně reagují i bílkoviny protože peptidická vazba má velmi podobnou konformaci.



Provedení: vzorek se 5x naředí fyziologickým roztokem a v případě potřeby se zfiltruje. Potom se zalkalizuje několika kapkami 2M NaOH do zřetelně zásadité reakce. Přidá se činidlo(2%  $\text{CuSO}_4$ ). V pozitivním případě se roztok zbarví fialovomodře.

### 3. Odměrná analýza

#### 4.1. ÚVOD

Odměrná analýza je metoda patřící do kvantitativní chemie. Je založena na titraci vzorku odměrným roztokem - což je roztok o přesně známé koncentraci.

Při titraci probíhají různé reakce - neutralizační, oxidoredukční, srážecí, komplexometrická. Cílem titrace je dosáhnout  **bodu ekvivalence**  (nebo *titrační exponet označovaný pT*), což je stav, kdy teoreticky právě všechno množství neznámého vzorku právě zreagovalo s odměrným činidlem.

Tento bod se indikuje pomocí indikátorů. Při titraci prakticky nemůžeme dosáhnout přesně bodu ekvivalence, ale bodu co nejbližšího.

**Odměrné roztoky** - jsou to roztoky o přesně známé koncentraci. Jejich koncentrace se vyjadřuje v mol.l<sup>-1</sup>.

Dalším způsobem vyjadřování koncentrace je **mol chemických ekvivalentů**. Dříve se používal název **normální** (zkratka N) koncentrace definovaný pomocí pojmu **gramekvivalent (val)** dané látky. Tyto jednotky však dnes nejsou povoleny. Protože byly velmi vžité byl nahrazen val výrazem mol chemických ekvivalentů dané látky.

Je to zlomek 
$$\frac{\text{mol}}{v}$$

kde *v* je počet částic - protonů, elektronů, ligandů apod. reagujících s jednou částicí této látky

Roztok nebo hmotnost látky obsahující jeden mol reagujících částic, obsahuje stejný počet **reagujících částic**, jako roztok nebo jiná látka obsahující stejnou látkovou koncentraci.

V praxi se nejčastěji používá vyjádření koncentrací v mol.l<sup>-1</sup>. Běžně (i když nesprávně) se používají zkratky těchto výrazů 0.1 M-HCl, 2 M-NaOH apod.

V případě nutnosti použití chemického ekvivalentu lze si pomoci asi těmito příklady. Pro neutralizační titrace je chemický ekvivalent roven sytnosti kyseliny nebo zásady. Takže na titraci dvojsytné kyseliny je třeba dvojnásobného množství jednosytné zásady, za předpokladu



stejné molární koncentrace. V každém případě je ale vhodné si poměr reagujících částic zjistit pomocí reakční rovnice mezi odměrným roztokem a stanovovaným analytem ( atom, molekula...)

Pro komplexometrické reakce se ekvivalent nepoužívá, neboť zde iont kovu reaguje s molekulou odměrného činidla vždy v poměru jedna ku jedné.

Obdobně u srážecích reakcí je většinou poměr jedna ku jedné až na malé výjimky, kdy je pro odvození stechiometrických poměrů třeba napsat si reakční rovnici.

Nejsložitější jsou oxidoredukční reakce, kde se bez reakční rovnice neobejdeme.

**Příprava odměrného roztoku** - je třeba zachovávat určitá pravidla při přípravě odměrného roztoku. Je třeba mít dostatečně čistou látku, dobře vysušenou přesně naváženou na analytických vahách (s přesností na 0.0001 g), která se rozpustí v přesně známém objemu rozpouštědla (např. vody) o dostatečné čistotě. Pro odměrování objemů používáme tzv. **odměrného nádob** (nejčastěji skleněných - odměrné baňky, byrety, pipety). Často je jednodušší a rychlejší použít k přípravě odměrných roztoků tzv. **normanalů**. Je to ampule obsahující roztok nebo pevnou substanci látky, jejíž rozpuštění v jednom litru rozpouštědla (vody) dá přesnou požadovanou koncentraci odměrného roztoku, která je deklarovaná výrobcem na obalu.

Často ani tato příprava nezaručuje zcela přesnou koncentraci, protože časem řada roztoků podléhá změnám. Klasicky uváděným příkladem je karbonizace hydroxidu sodného. Kyseliny zase buď dýmají nebo jsou hydroskopické. Proto je běžné u řady odměrných roztoků použít postup pro kontrolu koncentrace zvaný **standartizace** ( dříve faktorizace ).

Standartizace je titrace, při které se odměrný roztok porovnává s roztokem **standardní látky** (často rovněž připraveným z normanalů).

**Standartní roztoky** jsou stálé, ale díky některým vlastnostem se nehodí k přímým stanovením. Příklady - kys. šťavelová a uhličitan sodný.

Vzorec pro výpočet faktoru

$$f = \frac{\text{ml standardního roztoku použitého na titraci}}{\text{ml odměrného roztoku spotřebovaného při titraci}}$$

Standart ( faktor ) se uvádí na čtyři desetinná místa a jeho velikost by měla být od 0.9 do 1.1.

### ***Některá základní pravidla v odměrné analýze.***

- 1. Byretu před použitím vypláchneme destilovanou vodou.*
- 2. Byreta se během titrace vzorku nedolévá.*
- 3. Spotřeba na titraci by neměla být menší jak 1/5 objemu byrety - v našem případě 5 ml(25 ml byreta) a ne více jak její objem viz. bod 2.*
- 4. Byreta se po titraci opět vypláchne vodou.*
- 5. Objem vzorku bývá 10 ml.*
- 6. Vzorek se stanovuje třikrát.*
- 7. Vzorky si s indikátorem nachystáme najednou, aby bylo možné srovnávat barvu indikátoru před a po skončení titrace.*

### ***Orientační titrace***

*Vzhledem k bodu 3 je třeba většinu vzorků ředit. Jak velké má být zředění nám pomůže určit orientační titrace.*

*Nemusí se zde zcela precizně dodržovat pravidla titrací. Na rozdíl od normální titrace se orientační dělá pouze jednou.*

*Běžný objem vzorku u orientační titrace ve cvičeních bude 1 ml. Přidá se destilovaná voda, aby titrovaný roztok měl vhodný celkový objem.*

*Titruje se tak dlouho, až dojde ke změně barvy indikátoru, i když se musí byreta několikrát dolévat - neplatí bod 2.*

*Podle spotřeby naředíme vzorek tak, aby spotřeba na 10 ml zředěného vzorku odpovídala bodu 3.*

## **4. 2. INDIKÁTORY**

Jsou to látky používané v odměrné analýze. Pomocí těchto látek zjišťujeme zda kvantitativní postup (titrace), kterým určujeme koncentraci stanovované látky je u konce, což se projeví změnou barvy indikátoru.

Pro indikátory používané u běžných metod je typické, že jejich chemické vlastnosti mají úzký vztah k chemickým dějům, které probíhají při stanoveních.

Při neutralizačních titracích se používají acidobazické indikátory, pro jejichž barvu je rozhodující pH roztoku.

Při srážecích titracích se jako indikátory používají látky tvořící barevné sraženiny s odměrným roztokem.

Při oxidoredukčních titracích se používají látky, jejichž oxidovaná a redukovaná forma má jinou barvu.

Při komplexometrických titracích, indikátor tvoří barevný komplex se stanovovaným kovem, jehož konstanta stability je nižší než konstanta stability s odměrným činidlem.

Z uvedeného je patrné, že jako indikátoru se používají látky velmi pestrého původu, podle potřeby použité metody.

Obecně lze požadovat aby indikátor měl dvě základní vlastnosti:

1. aby v okamžiku dosažení bodu ekvivalence změnil barvu při použití daného postupu
2. aby co nejméně ovlivňoval probíhající vlastní reakci

### **Acidobazické indikátory**

Látky umožňující vizuálně zjistit konec, tj. dosažení bodu ekvivalence, prováděné neutralizační (acidobazické) titrace.

Oblast pH v níž pozorujeme změnu barvy indikátoru se nazývá **funkční oblast indikátoru - též pH barevné přeměny**. Zrakem postřehnutelné změny se objevují při přeměně asi 10 - 15 % jedné formy indikátoru na druhou a ukončení je změna 90 % formy. Většinou se to děje v rozmezí dvou pH.

Nejběžnější bývají jedno a dvojbarevné indikátory. Mezi jednobarevné patří např. fenolftalein (jedna jeho forma je zabarvená), většina ostatních jsou indikátory dvojbarevné.

Vyjímečně mohou svoji barvu měnit i vícekrát (bromthymolová modř).

## TABULKA INDIKÁTORŮ a jejich funkčních oblastí

název	pH funkční oblasti
methylová zeleň	0.1 - 2.3
thymolová modř	1.2 - 2.8
methylová žlut'	2.9 - 4.0
<b>methylová oranž</b>	<b>3.1 - 4.4</b>
bromfenolová modř	3.0 - 4.6
<b>kongočerveň</b>	<b>3.0 - 5.0</b>
bromkresolová zeleň	3.8 - 5.4
<b>methylová červeň</b>	<b>4.4 - 6.2</b>
<b>bromthymolová modř</b>	<b>6.0 - 7.6</b>
<b>fenolová červeň</b>	<b>6.8 - 8.0</b>
kresolová červeň	7.2 - 8.8
thymolová modř	8.0 - 9.6
<b>fenolftalein</b>	<b>8.2 - 10.0</b>
thymolftalein	9.3 - 10.5
nitramin	10.8 - 13.0

( *silně vyznačené indikátory jsou nejběžnější* )

### 4.3. NEUTRALIZAČNÍ ( ACIDOBAZICKÉ ) TITRACE.

Můžeme je rozdělit podle používaného odměrného činidla na:

a) acidimetrii - jako odměrné činidlo se používá kyselina

b) alkalimetrii - jako odměrné činidlo se používá zásada

Na stanovení titračního exponentu se používají acidobazické indikátory. Podle předpokládaného pH titračního exponentu se použije správný indikátor.

Pro názorné předvedení vztahu titrační exponent a indikátor se nejlépe hodí titrační křivky.

### 4.3.1. Titrační křivky a volba indikátoru

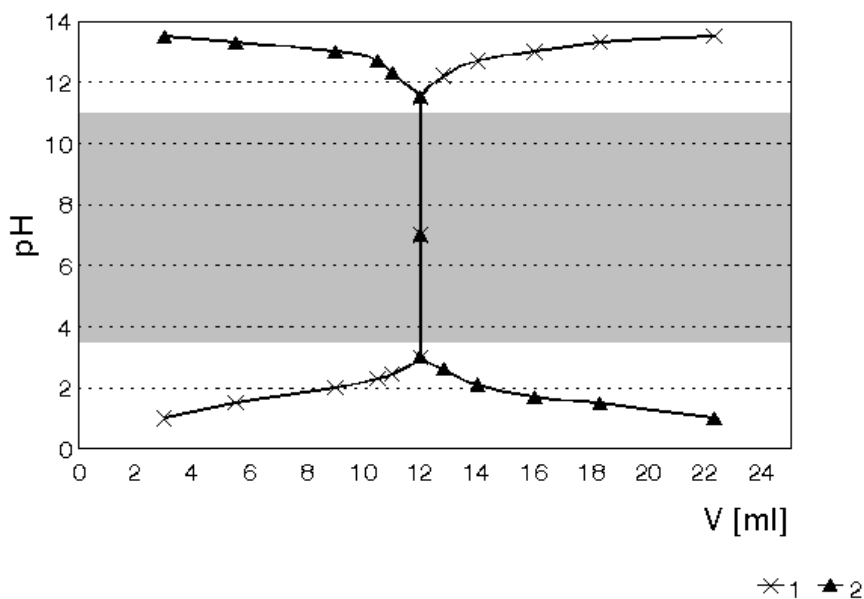
Titrační křivka je vyjádřením vztahu změny pH roztoku na množství odměrného roztoku. Z titrační křivky poznáme, kdy je titrace ukončena, tzn., kdy je dosaženo  **bodu ekvivalence** nebo-li **titračního exponentu**.

Tento bod vyjadřuje okamžik titrace, kdy teoreticky všechny molekuly stanovovaného roztoku právě zreagovaly s odměrným činidlem a v roztoku je pouze sůl vzniklá touto reakcí. Z mechanismu chemických reakcí je jasné, že tento stav je pouze teoretický a i v bodě titračního exponentu musí existovat určitá množství výchozích látek.

Význam titračního exponentu je dán tím, že podle jeho pH budeme určovat vhodnost použitého indikátoru.

**Cílem je aby pH funkční oblasti indikátoru se co možná nejlépe kryla s pH titračního exponentu !!**

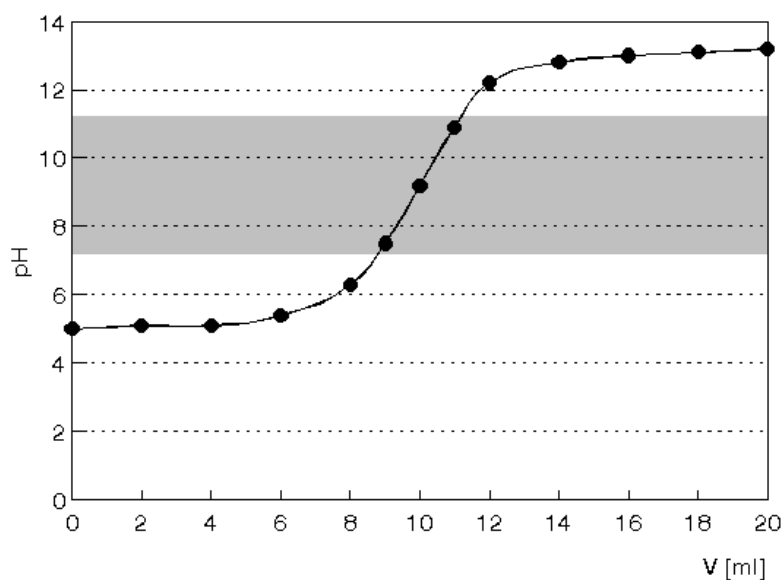
**Křivky titrace silné kyseliny odměrným roztokem silné zásady (1) a silné zásady odměrným roztokem silné kyseliny (2)**



Z těchto příkladů je vidět, že v případě titrace silné kyseliny silnou zásadou nebo naopak, je velké rozpětí pH ( šedý pruh ) okolo titračního exponent barvou a tím i velký výběr indikátorů (viz. tabulka)

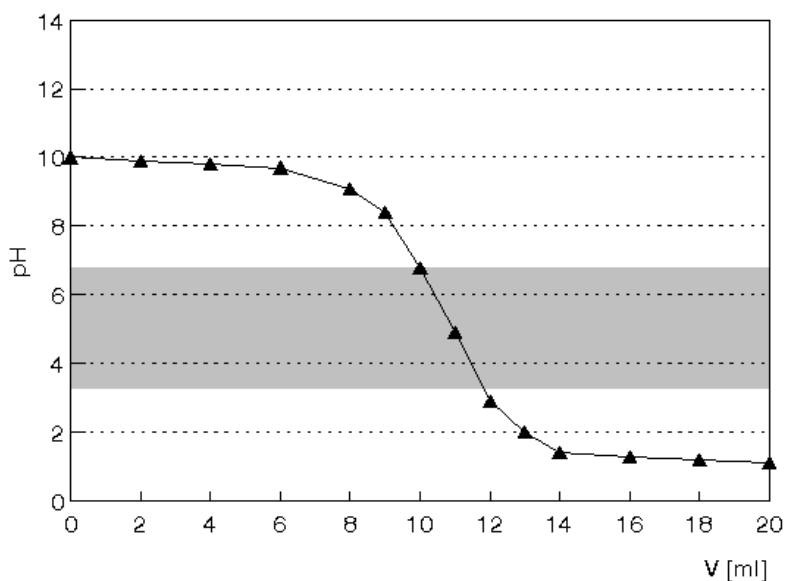
Větší význam mají tyto křivky při titraci slabé kyseliny silnou zásadou:

### **Křivka titrace slabé kyseliny odměrným roztokem silné zásady**



nebo naopak při titraci slabé zásady silnou kyselinou:

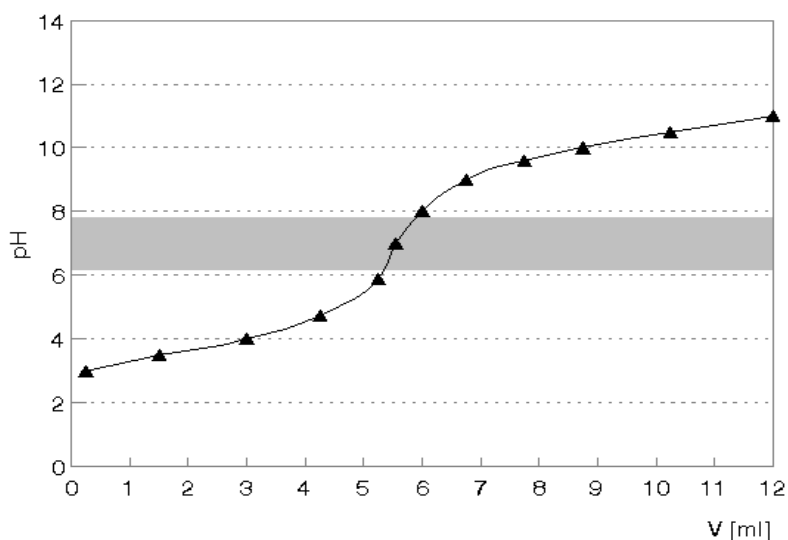
### **Křivka titrace slabé zásady odměrným roztokem silné kyseliny**



Na těchto křivkách je patrné, že razantní změna pH je pouze v úzkém rozpětí na rozdíl od titrace silné kyseliny se silnou zásadou. Proto je třeba vybírat takový indikátor s větší pečlivostí, aby se jeho pH barevné přeměny co nejvíce blížil pH bodu ekvivalence.

Další možností příkladu titrační křivky je titrace slabé kyseliny slabou zásadou nebo naopak.

### **Křivka titrace slabé kyseliny odměrným roztokem slabé zásady**



Je patrné, že titrační křivka je velmi plochá a proto jen velmi nesnadno můžeme určit titrační exponent.

Z tohoto důvodu se v praxi vždy jako odměrného roztoku, pokud je to možné, používá silnější činidlo a tím dostáváme strmější křivky - viz. předcházející.

Poslední možností je titrace vícesytných kyselin nebo zásad. Pro titrace těchto kyselin je důležité, aby disociační konstanty jednotlivých stupňů disociace – např. vznik nejdříve hydrogensíranů a následně síranů z kyseliny sírové byly od sebe vzdáleny aspoň o tři řády. Pak lze pomocí indikátorů tyto body ekvivalence jednotlivých solí od sebe odlišit.

Obdobným způsobem potom lze stanovovat i směsi různých kyselin za splněného předpokladu dostatečných rozdílů disociačních konstant.

U některých slabších dvojsytných kyselin ( $H_2SO_3$ ) lze titraci prakticky provádět pouze do prvního stupně. Disociační konstanta druhého stupně odpovídá velmi slabé kyselině, titrační křivka je velmi plochá a pro vlastní stanovení nemá význam.

## ☞ Cvičení 2

### Stanovení koncentrace analytu v roztoku

#### Obecný postup při neutralizačních titracích:

Byretu vypláchneme vodou. Potom nalejeme malé množství odměrného roztoku a to vypustíme. Nakonec naplníme byretu odměrným roztokem a na podložku pod ní si dáme čtverec filtračního papíru, kvůli lepšímu sledování barevného přechodu indikátoru.

Obvyklé množství vzorku je 10 ml, které pipetujeme buď přímo, nebo po ředění vzorku.

Každý vzorek se stanovuje třikrát, pokud není uvedeno jinak.

V řadě případů je nutno vzorek naředit neboť jeho koncentrace je příliš velká pro přímé stanovení.

Do tří titračních baněk napipetujeme po 10 ml vzorku ( nativního nebo po naředění ). Do každé baňky přidáme přibližně stejné množství indikátoru . (tj asi 2-3 kapky) Indikátor zvolíme dle předpokládaného pH ekvivalentního bodu. Snažíme se aby pH barevné přeměny indikátoru se co nejvíce krylo s předpokládaným pH ekvivalentního bodu.

Pokud se zdá, že objem stanovovaného vzorku je malý a tím by se mohlo zhoršit sledování barevných změn indikátoru, je možné do vzorků přidat destilovanou vodu. Samozřejmě do každého stejně.

**Pozor - není to ředění**, neboť přidáním vody se nezměnilo množství reagujících částic.

Potom titrujeme do změny barvy indikátoru.

Je vhodné mít ostatní titrační baňky s nachystanými vzorky vedle titrovaného vzorku. Máme potom neustálé barevné srovnání se vzorkem ještě neztitrovaným.

Po provedených titracích spočítáme průměrnou spotřebu. Z této hodnoty pak vypočítáme koncentraci či obsah analytu ve vzorku. Výsledek vyjadřujeme v  $\text{mol.l}^{-1}$ ,  $\text{g.l}^{-1}$  nebo v % ( záleží na zadání úlohy )



# Protokol o laboratorním vyšetření

**Vzorek:** .....

**Práci provedl:** .....

**Dne:** .....

---

**Postup :**

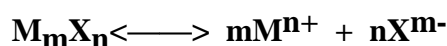
**Výpočet :**

**Výsledek:**

#### 4.4. SRÁŽECÍ TITRACE

Vzorek a odměrný roztok tvoří velmi špatně rozpustné soli. Rozhodující vlastností pro tento typ titrace je součin rozpustnosti.

Obecně: špatně rozpustná sůl ve vodě ustanoví rovnováhu:



Z toho rovnovážná konstanta mezi pevnou a rozpuštěnou fází:

$$K = \frac{a_{M^{n+}}^m a_{X^{m-}}^n}{a_{M_m X_n}}$$

Zahrneme-li aktivitu pevné fáze, která je jednotková do konstanty:

$$K_S = a_{M^{n+}}^m a_{X^{m-}}^n$$

kde

$K_S$  - je součin rozpustnosti

Pro velmi špatně rozpustné soli můžeme místo aktivity používat koncentraci, protože aktivní koeficienty jsou málo odlišné od 1. Jejich koncentrace v roztoku nepřesahují  $c = 1 \cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup>

1. Z toho můžeme odvodit

$$K_S = a_{M^{n+}}^m a_{X^{m-}}^n = [M^{n+}]^m [X^{m-}]^n$$

Z tohoto vztahu můžeme pomocí tabulkových hodnot součinu rozpustnosti vypočítat rozpustnost jednotlivých solí, což má rozhodující význam pro mnohá stanovení - při výběru postupu a indikátorů.

$$K_S = [M^{n+}]^m [X^{m-}]^n = (mc)^m (nc)^n$$

kde  $c$  je celková koncentrace soli v nasyceném roztoku.

$$c = \frac{\sqrt[m+n]{K_S}}{m^m n^n}$$

## Odměrné roztoky

U srážecích reakcí se nejčastěji používá odměrný roztok  $\text{AgNO}_3$  (argentometrie) a  $\text{KCNS}$  nebo  $\text{NH}_4\text{CNS}$ .

Touto metodou stanovujeme především halogenidy popř. stříbrné ionty a thiokyanatany.

Provedení titrací: a) metoda přímé titrace - Mohrova metoda

b) metoda zpětné titrace - Volhardova metoda

### **4.4.1. Indikace srážecích titrací**

Indikátory pro srážecí titrace musí splňovat tyto základní podmínky:

- 1) musí tvořit sraženinu s odměrným roztokem
- 2) tato sraženina musí mít jinou barvu než sraženina stanovovaného iontu s odměrným činidlem
- 3) rozpustnost sraženiny indikátoru a odměrného roztoku musí být výrazně vyšší než rozpustnost sraženiny stanovovaného iontu a odměrného roztoku.

Příkladem je titrace iontů  $\text{Cl}^-$  pomocí  $\text{AgNO}_3$  s indikátorem  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ .

Chloridy i chroman draselný s odměrným roztokem tvoří sraženinu. Podle dříve uvedených vztahů můžeme vypočítat rozpustnost vznikajících sraženin (t.j. koncentrace nasycených roztoků).

$$c_{\text{AgCl}} = \frac{K_S^{1/m+n}}{m^m n^n} = \frac{(1.8 \cdot 10^{-10})^{1/2}}{1^1 1^1} = 1.34 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$$

$$c_{\text{Ag}_2\text{CrO}_4} = \frac{K_S^{1/m+n}}{m^m n^n} = \frac{(2.4 \cdot 10^{-12})^{1/3}}{2^2 1^1} = 8.43 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$$

Z uvedených výpočtů je zřejmé, že ve společném roztoku chromanu a chloridů se začne jako první srážet chlorid stříbrný, jehož nasycený roztok má koncentraci  $1.34 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ . Při dalším přidavku odměrného roztoku stříbra by tuto koncentraci překročil. Překročit koncentraci nasyceného roztoku nelze, takže se vytvoří sraženina.

Chroman stříbrný je při této koncentraci ještě vzdálen koncentraci nasyceného roztoku a proto se nesráží. Ani další přidavky odměrného roztoku stříbra nevyvolají srážení chromanu, protože stříbro se přednostně sráží s chloridy. Tento stav se udržuje až do ekvivalentního bodu. V tomto okamžiku jsou všechny chloridy vysráženy. Další přidavek odměrného roztoku stříbra rychle zvedne koncentraci roztoku soli chromanu stříbrného nad mez nasyceného roztoku  $8.43 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  a tím dojde k jeho srážení. Vzhledem k výše uvedeným podmínkám je tato sraženina barevně odlišitelná.

#### 4.4.2 Typy srážecích titrací:

- a) při titraci podle Mohra se používá jako indikátor chroman draselný.
  
- b) při titraci podle Volharda se používají k indikaci ekvivalentního bodu ionty železité. V tomto případě se jedná o zpětnou titraci, kdy se přidá nadbytek odměrného činidla  $\text{AgNO}_3$  a nezreagovaný zbytek se ztitruje odměrným roztokem  $\text{KCNS}$ . Používá se pro  $\text{I}^-$  a  $\text{Br}^-$ .
  
- c) titrace podle Fajanse - jako indikátory se používají látky s adsorpčními vlastnostmi, které se v ekvivalentním bodu naadsorbují na vzniklou sraženinu a způsobí změnu barvy.
  
- d) metoda podle Gay-Lussaca, kdy se zjišťuje zákal roztoku. V ekvivalentním bodě přestane stoupat zakalení roztoku, spíše se nesráženým odměrným roztokem naředí.

### ☞ Cvičení 3

#### Stanovení koncentrace analytu v pevné matici

Stanovení chloridů v krmivu :

**Příprava výluhu.**: navážíme na analytických vahách do kádinky asi přesně 1 g krmiva.( výraz asi přesně znamená, že navážíme kolem jednoho gramu - +- 10% - , ale s přesností na 4 desetinná místa ). Toto množství krmiva přelijeme 60 ml destilované vody a 5 minut vyluhujeme za mírného zahřívání - směs nesmí vařit !

Po pěti minutách přefiltrujeme přes ou vatou do odměrné baňky na 100 ml. Filtraci provedeme kvantitativně, což znamená, že dalším promýváním kádinky ( minimálně 3x malým množstvím destilované vody ) přemístíme veškeré krmivo do filtrační nálevky a následně minimálně 3x promyjeme destilovanou vodou nálevku s krmivem. Objem volíme opatrně, abychom nepřelili rysku v odměrné baňce. V případě, že byl filtrát teplý a tím je teplá i odměrná baňka, tak baňku ochladíme na teplotu laboratoře ( baňka je kalibrována na 25<sup>0</sup>C ) a v doplníme po rysku destilovanou vodou.

Výluh bude použit na stanovení jak metodou přímé titrace ( dle Mohra ), tak na stanovení zpětnou titrací ( dle Volharda ).

#### **Stanovení chloridů v krmivu - metoda Mohrova**

Byretu vypláchneme vodou. Potom nalejeme malé množství odměrného roztoku a to vypustíme. Nakonec naplníme byretu odměrným roztokem a na podložku pod ní si dáme čtverec filtračního papíru, kvůli lepšímu sledování změny barvy indikátoru.

Obvyklé množství vzorku je 10 ml, které pipetujeme buď přímo nebo po ředění vzorku.

Každý vzorek se stanovuje třikrát, pokud není uvedeno jinak.

Do tří titračních baněk napipetujeme po 10 ml vzorku a přidáme stejné množství indikátoru, což jsou ionty  $\text{CrO}_4^{2-}$  ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ). V množství asi 10 kapek 5% roztoku.

Při titraci budou vznikat sraženiny, které mohou ztížit pozorování barevných změn indikátoru. Doporučuje se proto před vlastní titrací do vzorků přidat 20 ml destilované vody. Přidaná voda naředí vznikající sraženiny a tím usnadní sledování barevných změn.

Titrace je ukončena, jakmile není vidět původní čili žlutá barva indikátoru a převládne barva hnědá ( $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ )

### **Chyba při mohrově titraci :**

Pro dostatečné vytvoření sraženiny indikátoru a odměrného roztoku –  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  je třeba mít dosti velkou koncentraci chromanu v titrovaném vzorku. Tím se ale vzorek zbarví intenzivně žlutě. Přejít z žluté barvy v hnědou je zatížen sensorickou chybou (kolem +10%) . Proto se pro přesná stanovení spíše používá metoda podle Volharda (zpětná titrace)

Touto metodou nejdou stanovit jodidy, rhodanidy a kyanidy. Jejich sraženiny adsorbují chromanové ionty a tím je způsobena velmi pozvolná barevná změna indikátoru.

### **Stanovení chloridů v krmivu - metoda Volhardova**

**Princip :** Volhardova metoda je typem zpětné titrace, kdy k vzorku přidáme nadbytek odměrného roztoku č. 1 ( v tomto případě  $\text{AgNO}_3$ ) v kyselém prostředí a jeho nezreagovanou část titrujeme odměrným roztokem č. 2 (  $\text{KCNS}$  ). Při tomto stanovení se potýkáme s problémem, kdy sraženina  $\text{AgCl}$  vzniklá přidáním odměrného roztoku  $\text{AgNO}_3$  , ztěžuje sensorické posouzení závěrečné titrace odměrným roztokem  $\text{KCNS}$ . V optimálním případě vliv sraženiny odstraníme, pokud je to možné, tzv. Maskováním – což znamená přidáním látky, která nám zamaskuje přítomnost nevhodné látky ( např. Nonaol ) . Pokud nelze použít maskování je nutné vliv nevhodných látek odstranit jiným způsobem např. filtrace, což je i tento případ.

### **Postup:**

Byretu vypláchneme vodou a následně malým množstvím odměrného roztoku. Nakonec naplníme byretu odměrným roztokem a na podložku pod ní si dáme čtverec filtračního papíru, kvůli lepšímu sledování změny barvy indikátoru.

10 ml získaného výluhu napipetujeme do erlenmeirovy zabroušené baňky, přidáme 15 ml  $\text{AgNO}_3$  o  $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$  , okyselíme 10 ml  $\text{HNO}_3$  Přidáme malé množství aktivního uhlí ( 1/3 menší laboratorní lžičky ). Protřepeme a kvantitativně přefiltrujeme přes filtrační papír do titrační baňky. Po zfiltrování přidáme indikátor –  $\text{Fe}^{3+}$  ( 1 ml 5%  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  ) a **celý** objem získaného filtrátu titrujeme odměrným roztokem  $\text{KCNS}$   $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ .

V ekvivalentním bodě se objeví trvalé oranžovošedé zbarvení. Toto zbarvení má tendenci po jedné minutě slábnout až někdy úplně vymizí. Tento jev už nebereme v potaz.

**Pozor** - je třeba titrovat rychleji, protože dochází ke pozvolnému zániku červeného zbarvení roztoku. Je to způsobeno změnou halogenidu stříbrného na rhodanid.

# Protokol o laboratorním vyšetření

**Vzorek:** .....

**Práci provedl:** .....

**Dne:** .....

---

**Postup :**

**Výpočet :**

**Výsledek:**



## 4.5. OXIDOREDUKČNÍ TITRACE

Při této titraci je rozhodujícím faktorem množství elektronů, které mezi sebou vymění neznámý vzorek a odměrný roztok.

Není oxidace bez redukce. Oba procesy probíhají současně.

Podle použitých odměrných roztoků můžeme oxidoredukční titrace rozdělit na:

- a) oxidimetrii
- b) reduktometrii

ad a) je daleko častější, odměrnými roztoky jsou silná oxidovadla např.  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{I}_2$ .

ad b) látky se silným redukčním účinkem - soli titanu,  $\text{I}^-$  - často jsou oxidována už vzdušným kyslíkem, musí se chránit speciální atmosférou a proto se tyto metody užívají pouze ve speciálních případech (vyjimka je  $\text{I}^-$ ).

### 4.5.1. Titrační křivky

vyjadřují závislost oxidoredukčního potenciálu na množství přidaného odměrného činidla.

Budeme-li titrovat látku A, která se oxiduje, odměrným činidlem B, které se redukuje bude oxidoredukční potenciál odvozený z Petersovy rovnice :

$$E = E_0^A + \frac{RT}{z_A F} \ln \frac{[A_{ox}]}{[A_{red}]} + E_0^B + \frac{RT}{z_B F} \ln \frac{[B_{ox}]}{[B_{red}]}$$

$E_0^A, E_0^B$  ..... standardní redoxní potenciály

$z_A, z_B$  ..... počet elektronů vyměňovaných při redoxním ději

číselná hodnota členu  $RT/zF$  pro laboratorní teplotu  $25^\circ \text{C}$  je asi  $.0.059 \text{ V}$ .

Oxidoredukční potenciál je podle této rovnice ovlivňován vztahem mezi koncentracemi oxidovaných a redukovaných forem látek A a B v roztoku.

#### 4.5.2. Indikátory pro redoxní titrace

Můžeme je podle principu jejich funkce rozdělit na tři skupiny.

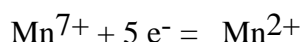
1) **vrátné** - organická barviva nebo komplexy, jejichž oxidovaná a reduková forma má jinou barvu. Přitom změnu jejich formy můžeme libovolně opakovat (metylenová modř, ferroin).

2) **nevratné** - organická barviva, která se v ekvivalentním bodu převedou na bezbarvé produkty. Tato změna je nevratná (methylová oranž).

3) **specifické** - reagují pouze s jednou formou oxidoredukční dvojice (škrobový maz poskytuje s jodem modré zbarvení, ale s jodidem nikoliv).

4) **autoindikace** - při běžných oxidometrických titracích jako jsou manganometrie a jodometrie se využívá jevu, kterému říkáme **autoindikace**. Princip je založen na změně barvy samotného odměrného roztoku. První kapka odměrného činidla, která nemá s čím reagovat obarví roztok a tím indikuje skončení titrace. U jodometrie si pomáháme i specifickým indikátorem.

Pro nejběžnější činidlo  $\text{KMnO}_4$  - Mn je v této sloučenině sedmimocný ( roztok *má fialovou barvu*)



výsledkem je bezbarvý dvojmocný iont  $\text{Mn}^{2+}$ .

Z této rovnice je jasné, že manganistan se musí redukovat až na  $\text{Mn}^{2+}$ , aby se odbarvil a tím bylo umožněno určit ekvivalentní bod.

K tomu je třeba splnit podmínku kyselého prostředí. Přidá se  $\text{H}_2\text{SO}_4$  v množství, které zajistí, aby její konečná koncentrace ve vzorku byla minimálně  $c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 1 \text{ mol.l}^{-1}$ . Při menší kyselosti se totiž vylučuje  $\text{MnO}_2$ , který způsobuje chybu stanovení.

Z celé řady oxidoredukčních indikátorů si vybereme správný podle obdobných kritérií jako u neutralizačních titrací.

Indikátor má v převaze oxidačního prostředí formu oxidovanou a naopak. Oxidoredukční potenciál, při kterém dochází k přechodu jedné formy indikátoru v druhou je pro každý indikátor jiný.

Tento potenciál zvaný **potenciál barevné přeměny** lze opět vyjádřit pomocí Petersovy rovnice

$$E = E_0^{\text{In}} - \frac{0.059}{z} \ln \frac{[In_{\text{red}}]}{[In_{\text{ox}}]}$$

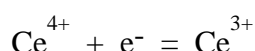
$E_0^{\text{In}}$  ... standardní oxidoredukční potenciál indikátoru

Z toho plyne, že podle hodnoty oxidoredukčního potenciálu ekvivalentního bodu titrace, musíme zvolit i správný indikátor s obdobnou hodnotou potenciálu barevné přeměny.

### 4.5.3. Oxidimetrické metody

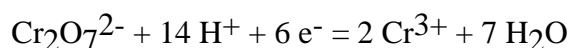
1) manganometrie - odměrný roztok  $\text{KMnO}_4$  je poměrně nestálý, nutná častá faktorizace. Titrace musí probíhat v kyselém prostředí (viz. výše). Praktické využití má manganometrie pro stanvení řady iontů schopných oxidace manganistanem draselným. Obdobně pro stanovení jednoduchých organických látek, např. využití při kontrole organického znečištění pitné vody.

2) cerimetrie - využití obdobné jako manganometrie. Princip



Proti manganistanu je velmi stálý i za varu v kyselém prostředí.

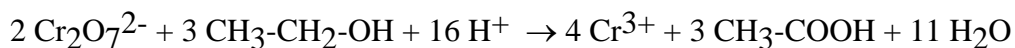
3) dichromatometrie - v kyselém prostředí



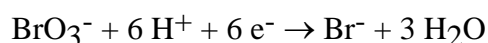
Látka velmi stálá, nemusí se faktorizovat. Jako indikátor se používá difenylamin nebo feroin. Velmi často je tato metoda využívána pro stanovení org. znečištění odpadních vod. Dochází totiž k oxidaci většiny organických látek.

**Widmarkova zkouška** na alkohol se také provádí touto metodou. Vzorek se umístí v uzavřeném prostoru vedle odměrného roztoku aniž by došlo ke smísení. Při vyšší teplotě

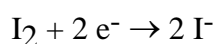
alkohol prochází a nasycí uzavřený prostor. Zároveň se musí i rozpouštět v odměrném roztoku. Odpovídající část odměrného roztoku se zredukuje a tím se zjistí koncentrace alkoholu.



#### 4) Bromatometrie



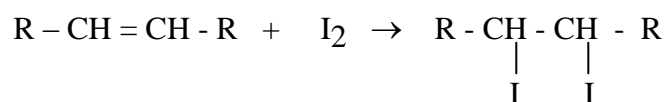
#### 5) jodometrie - velmi často užívaná snadno vratná reakce



proto metodiky používané při této titraci můžeme dělit na dvě části

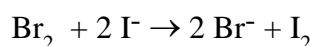
a) oxidimetrická stanovení - stanovujeme látky se slabšími oxidačními vlastnostmi než jod. Můžeme použít přímou titraci, velmi často se však používá zpětná titrace (retitrace), kdy se přidá nadbytek odměrného roztoku jodu a jeho nezreagovanou část stanovíme odměrným roztokem thiosíranu.

Tak se také stanovují dvojnásobky vazby v organických látkách - tzv. jodové číslo.

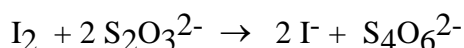


b) reduktometrické stanovení - používáme v případě, kdy má vzorek silnější oxidační vlastnosti než jod. Jako odměrný roztok pak použijeme jodid. Princip je založen na zpětné titraci.

Ke vzorku se přidá nadbytečné množství odměrného roztoku jodidu.



Množství jodu vzniklého oxidací stanovíme odměrným roztokem thiosíranu v kyselém nebo neutrálním prostředí.



#### **4.5.4. Reduktometrické metody**

Kromě už uvedené jodometrie se používají pouze ve speciálních případech, z důvodu už zmíněných problémů snadné oxidace. Jako příklad uvedeme požití soli titanu, nebo chromnaté soli.

### ☞ Cvičení 3

#### Postup při manganometrické titraci

Byretu vypláchneme vodou. Potom nalejeme malé množství odměrného roztoku, které vypustíme. Nakonec naplníme byretu odměrným roztokem a na podložku pod ní si dáme čtverec filtračního papíru, pro lepšímu sledování změny barvy indikátoru.

Obvyklé množství vzorku je 10 ml, které pipetujeme buď přímo, nebo po ředění vzorku. Každý vzorek se stanovuje třikrát, pokud není uvedeno jinak.

Vzorky je třeba okyselit jak bylo uvedeno výše. Kyselinou sírovou ředěnou 1:3 v množství 5 ml.

Při některých stanoveních - např. při faktorizaci na kyselinu šťavelovou probíhá oxidace zpočátku velmi zvolna. Vzorek se i po velmi malém přídavku manganistanu zbarví do fialova a teprve po delším míchání se odbarví. V tomto případě je možno si pomoci zahřátím vzorku asi na teplotu 60°C, což výrazně zrychlí oxidoredukční reakci.

Titrace je ukončena, jakmile kapka manganistanu vzorek **trvale** zbarví do slabě fialovorůžové barvy.

#### 4.5.5. CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ VODY

Vodu je možno rozdělit podle několika hledisek. První možností je podle místa výskytu. Takto se dělí na vodu povrchovou a vodu podzemní. Voda podzemní se klasifikuje především podle množství rozpuštěných anorganických látek. Voda s obsahem minerálních látek nebo  $\text{CO}_2$  do  $1000 \text{ mg.l}^{-1}$  se považuje za vodu podzemní prostou. Je to běžná voda, která se nachází například ve studních.

Pokud voda přesahuje tuto hranici, je řazena mezi vody minerální.

Minerální vody se dále dělí podle obsahu minerálních látek a plynů na:

**minerální vody přírodní** - které obsahují více jak 1000 mg rozpuštěných minerálních látek nebo  $\text{CO}_2$  v 1 litru, **minerální vody léčivé** - které svým působením vlivňují zdraví člověka,

**minerální vody stolní** - které mají v litru minimálně 1000 mg  $\text{CO}_2$ , maximálně 6000 mg rozpuštěných minerálních látek v 1 litru a mají vhodné sensorické vlastnosti jako nápoj.

**Vody povrchové:** jejich složení je závislé na hydrobiologických podmínkách a činnosti člověka.

V průměru se obsah rozpuštěných minerálních látek pohybuje v desítkách mg na litr, hodnoty přesahující 500 mg v litru jsou velmi výjimečné.

Hodnoty  $\text{CO}_2$  jsou na rozdíl od minerálních vod velmi malé, závisí na rozkladu organických látek ve vodě. Hodnoty pH jsou velmi rozmanité, závisí na množství rozpuštěného  $\text{CO}_2$  a dále na prostředí, kterým protékají. Voda vytékající z rašelinišť má pak až  $\text{pH} = 4$ , naopak voda v tocích protékajících krasovými útvary má  $\text{pH} > 8$ . Běžná hodnota je v oblasti  $\text{pH} = 6-7$ .

V povrchových vodách je velmi důležitým ukazatelem jejich čistoty množství organických látek. Tyto jsou buď přirozeného původu, nebo vznikají činností člověka - splachy ze zemědělské půdy, splašková voda apod.

Jeden z hlavních ukazatelů organického znečištění je BSK (biochemická spotřeba kyslíku), který je u čisté vody kolem  $1 \text{ mg.l}^{-1}$ . U silně znečištěných vod to může být až v desítkách mg na litr.

Organické látky se také orientačně zjišťují přímými chemickými metodami, jako je manganistanové číslo vody nebo dichromanové číslo vody.

**Eutrofizace vody:** je jedním z novodobých problémů, které vyvstaly z činnosti člověka.

Eutrofizací vody rozumíme nadměrný rozvoj primární biologické složky ve vodě, kterou tvoří řasy a sinice. Tyto složky vodního ekosystému se za nadměrné přítomnosti především fosforu a dusíku začnou enormně množit a poruší rovnováhu ve vodě.

Vzniká jev zvaný kvetení vody. Tento jev však není vázán jen na dané prvky, ale jde o komplexní záležitost, protože je například ovlivňován přítomností  $\text{CO}_2$  ve vodě. Řasy potřebují oxid uhličitý pro asimilaci, takže podmínky jsou vhodnější tam, kde je větší rozklad organických látek ve vodě, kterým je dodáván potřebný  $\text{CO}_2$ . Naopak v rychlejších tocích, kde se organické látky nemohou silněji usazovat, kvete voda málo, i když obsahuje dostatek fosforu a dusíku.

Problémy, které způsobuje kvetení vody jsou několikerého druhu. Je-li voda z toku používána jako zdroj pitné vody, je nutno květ z vody odstranit, což je při velkých množstvích řas velmi obtížný problém. Řasy též umožňují masivní rozvoj sekundární složky ekosystému, kterou tvoří drobní živočichové tzv. zooplankton. Ti spolu s řasou dodávají vodě velmi nepříjemné sensorické vlastnosti.

Především ve stojatých vodách způsobují řasy problém v narušování kyslíkové rovnováhy. Protože jejich metabolismus se řídí stejně jako u zelených rostlin fotosyntézou, mohou během dne způsobit až přesycení vody kyslíkem, zatímco v noci je kyslík naopak spotřebováván, což při vysokých teplotách vody v letních měsících (kdy je kyslík ve vodě málo rozpustný) může vést k nedostatku kyslíku a dušení ostatních živočichů.

V zimních měsících zase obrovské množství odumřelé řasy dodává organický materiál pro rozkladné procesy, které spotřebovávají kyslík a spolu se zamrznutím vodní plochy znovu mohou vést k dušení ostatních živočichů.

Proto je třeba sledovat množství dusíku a fosforu ve vodních tocích a hlavně zjišťovat jejich zdroje. Hlavními zdroji jsou zemědělská výroba, zvláště při špatné aplikaci hnojiv, dále pak splašková voda (v ní především fekálie a čisticí prostředky), které jsou hlavním zdrojem fosforu.

Množství fosforu, které výrazněji podpoří tvorbu řas je  $0.01 \text{ mg.l}^{-1}$ . U dusíku jsou to koncentrace kolem  $0.2 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Dále lze vodu dělit podle účelu k němuž bude užívána. Takže můžeme mluvit o vodě **pitné, napájecí, užitkové, technologické atd.**



Podle toho se také budou lišit nároky na kvalitu vody a to jak senzoricou, tak i mikrobiální či chemickou.

Pro veterinární medicínu má hlavně význam voda pitná a napájecí a dále také voda užitková. Ta se užívá při čištění a sanitaci stájí i některých jiných prostor. Dále také tzv. voda technologická, pokud za ni budeme považovat vodu používanou v laboratořích, kde nás bude zajímat především její chemická čistota.

**Pitná voda:** chemický rozbor pitné vody se dělí na stanovení látek anorganických a organických.

Při rozboru látek anorganických se hlavně zabýváme látkami ve vodě rozpuštěnými tzn. v iontovém stavu. Je třeba si uvědomit, že koncentrace těchto látek je ovlivněna jejich rozpustností při daném pH a teplotě. Koncentrace je vyjadřována v mg na litr, ale správněji v  $\text{mol.l}^{-1}$ .

Z běžných kationtů jsou důležitější hlavně **sodík**, neboť má negativní vliv u osob s onemocněním oběhového systému a ledvin, doprovázeném vysokým krevním tlakem.

**Vápník a hořčík** jsou ve vodě většinou v nadbytku co se týče potřeb živých organismů. Problémy jsou známy jako tvorba kotelního kamene, neboť varem se rozpustné soli ve formě hydrogenuhličitanů mění na nerozpustné uhličitany a ty se usazují v nádobě. Hořčík navíc může ve velkém množství způsobovat hořkou chuť.

Velká skupina kovových iontů může ve vodě působit jak pozitivně tak negativně. Např. **železo** se podílí na tvorbě koloidů a tím způsobuje zákal vody, podporuje činnost některých bakterií a ty způsobují tzv. zarůstání vodovodního potrubí a navíc spolu s železem dodávají vodě nepříjemnou chuť. Železo také způsobuje zabarvení vody. Na druhé straně je železo nezbytný prvek pro člověka i zvířata a určité množství je ve vodě potřebné (maximálně  $0.3 \text{ mg.l}^{-1}$ ).

Na druhé straně je zde také skupina těžkých kovů (Cd, Pb, Hg atd.), jejichž vliv na člověka je výrazně negativní. Hlavní nebezpečí tkví v tom, že mají schopnost se kumulovat v organismu a narušovat především enzymatický systém, navíc patří všechny do skupiny kancerogenních látek. Proto množství těchto iontů ve vodě je omezeno na  $0.01 - 0.001 \text{ mg.l}^{-1}$ . Akutní otravy vyvolané těmito látkami jsou vzácné.

Z aniontů je velmi rozšířená skupina halogenidů. Největší zastoupení má chlór ve formě **chloridů**. Jejich množství je dáno jak přirozenými podmínkami, tak znečištěním a procesem

čištění vody. V pitné vodě norma povoluje  $100 \text{ mg.l}^{-1}$ . V případech, kdy je obsah chloridů dán přirozenými podmínkami je dovolena koncentrace až  $350 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Z dalších halogenidů je významný **fluor**. Má účinky jak pozitivní, tak negativní. Je důležitý z hlediska prevence zubního kazu. Proto se v některých zemích (i v některých oblastech u nás) přistoupilo k fluorizaci vody. Bylo zaznamenáno výrazné snížení zubního kazu v populaci. Při nadměrném dávkování však vznikala fluoróza - která se projevuje skvrnitostí skloviny a poruchami kalcifikace. Za ideální koncentraci se považuje rozmezí  $0.5 - 1.5 \text{ mg.l}^{-1}$ .

**Jod** ve formě jodidu je důležitý pro činnost žláz s vnitřní sekrecí a proto se v oblastech s nízkým přirozeným obsahem jodu provádí tzv. jodace vody.

**Dusitany a dusičnany** jsou anionty, jejichž zvýšený obsah v pitné vodě je velmi těsně svázán s činností člověka.

Negativní působení dusitanů v organismu je dáno tím, že patří mezi krevní jedy (vážou se na hemoglobin pevněji než kyslík a způsobí "vnitřní dušení") a dále se podílejí na vzniku nitrosaminů, z nichž některé patří mezi karcinogeny. Dusičnany nejsou tak nebezpečné, ale ve střevním traktu mohou podléhat redukci na dusitany a z toho vyplývají už uvedené problémy. Zvýšený obsah dusitanů v pitné vodě, vzhledem k jejich snadnému rozkladu, je znakem silného znečištění - především fekáliemi. Jejich obsah je v pitné vodě limitován na koncentraci  $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Dusičnany jsou přirozenou složkou vody v množství několika mg v litru. Jejich množství ve vodě velmi zvyšuje intenzivní zemědělská výroba a to jak intenzivním hnojením, tak devastací humusové vrstvy v půdě, která silně zadržuje hnojiva a tím umožňuje jejich využití. Při nižším obsahu humusu je část hnojiva vyplavována do podzemních i povrchových vod. Produkce na poli klesá a to vyvolá silnější hnojení a tak se kruh uzavře.

V povrchových tocích není problém dusičnanů tak vyhracen z hlediska pitné vody, protože větší část je ve vodě využita fytoplanktonem, takže povrchové vody málo kdy přesahují hodnoty  $20 \text{ mg.l}^{-1}$ . V podzemních vodách, kde činnost fytoplanktonu i mikroorganismů je minimální (chladno a tma), je problém dusičnanů daleko ožehavější a v silně zemědělsky produkčních oblastech se v řadě vodních zdrojů pohybuje množství dusičnanů ve stovkách mg na litr.

Normou povolená koncentrace dusičnanů v pitné vodě je  $15 \text{ mg.l}^{-1}$  pro kojence a  $50 \text{ mg.l}^{-1}$  pro ostatní.

Z ostatních aniontů jsou ve vodě více zastoupeny například **sírany**, ale jejich vliv na kvalitu vody není velký (pokud nedojde k přímému úniku velkého množství při havárii).

Norma pro pitnou vodu tedy určuje jednotlivé anorganické látky. Je ale zaveden také pojem **tvrdost vody**, který vyjadřuje obsah celých skupin anorganických látek. V oficiální literatuře se už nevyskytuje, ale je natolik vžit, že je třeba se o něm zmínit. Zahrnují se do ní sloučeniny vápníku a hořčíku.

Tvrdost vody je dvojitá: **přechodná tvrdost a trvalá**. Přechodná tvrdost je tvořena hydrogenuhličitanů  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ . Dá se odstranit povařením za vzniku odpovídajících nerozpustných uhličitanů (usazují se v nádobách ve formě kotelního kamene). Tvrdost trvalá je dána obsahem  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2$  a  $\text{MgSO}_4$ . Nelze ji odstranit převařením. Požadavky na tvrdost vody se liší podle užití vody. Například pro vodu pitnou nebo napájecí bude určitá hodnota tvrdosti vody posuzována jinak, než např. pro vodu parního kotle (musí mít podstatně nižší obsah anorganických látek). Tato hodnota taky nezohledňuje poměr vápníku a hořčíku ani v jakých solích se vyskytují.

Znečištění **organickými látkami** se ve vodě stanovuje především nepřímými metodami, které určují pouze celkové množství těchto látek.

Metody přímé sice určí kolik a kterých organických látek je ve vodě přítomno, ale vzhledem k velmi malým koncentracím je třeba užívat složité metody stanovení a to není vždy účelem. Tyto metody se používají pouze v případě hledání konkrétních organických látek ve vodě.

Metody nepřímé jsou založeny na oxidovatelnosti organických látek, takže se měří kolik mg nebo ml oxidačního činidla se spotřebovalo při oxidaci jednoho litru vody. Výsledky se vyjadřují v miligramech kyslíku a nazývají se **chemická spotřeba kyslíku - CHSK**. Jako oxidační činidla se nejčastěji používají manganistan draselný a dvojchroman draselný. Mezi jednotlivými činidly je rozdíl v síle oxidačních vlastností (vyjádřených jako standardní redoxní potenciál daného činidla). Proto se výsledky metod srovnávají s **teoretickou spotřebou kyslíku - TSK**, což je množství kyslíku spotřebované na oxidaci 1 g známé organické látky, vypočítané podle stechiometrie. Z tohoto srovnání nejlépe vychází dvojchroman draselný. Dává dvakrát až desetkrát lepší výsledky ve srovnání s manganistanem draselným v závislosti na úrovni znečištění. Například nižší alifatické

aminokyseliny se neoxidují vůbec. Tomuto nelze zabránit ani zvyšováním koncentrace manganistanu, protože ve vyšších koncentracích manganistan draselný podléhá autoredukci. Srovnatelné výsledky jsou pouze u malých koncentrací organických látek. Pro manganistan zase hovoří jednoduchost metody a nízké finanční náklady. Proto se manganistanová metoda používá především u pitné vody a u vod, kde se nepředpokládá výraznější znečištění. U vod povrchových a odpadních jednoznačně dostává přednost metoda s dvojchromanem. U obou metod si je třeba uvědomit, že výsledky mohou být zkresleny i přítomností anorganických látek schopných oxidace. Nejčastěji to jsou chloridy, ale také např. dvojmocné železo, a jiné. V případě větší přítomnosti těchto látek je třeba výsledek korigovat.

Další metody, které se používají jsou **biochemická spotřeba kyslíku - BSK a množství organického uhlíku.**

Teprve vyhodnocením všech tří metod dostaneme přesnější obraz o množství organických látek ve vodě.

#### Stručný princip a postup dvojchromanové metody.

Byla použita v roce 1926 a zdokonalena 1936. Používána původně v USA, dnes je uznávána ve většině zemí.

Klasický postup - vzorek se oxiduje dvojchromanem draselným v prostředí kyseliny sírové pod zpětným chladičem. Doba oxidace je většinou 120 minut. Jako katalyzátor se používá síran stříbrný. Po skončení oxidace se nadbytek dvojchromanu určí titrací síranem diamonoželeznatým na feroin jako indikátor.

Pro rychlejší a sériová stanovení byla vyvinuta i metoda fotometrická. U ní se využívá změny zbarvení roztoku v důsledku redukce  $\text{Cr}^{6+}$  na  $\text{Cr}^{3+}$ .

## ☞ Cvičení 5

### Stanovení množství organických látek v pitné vodě manganistanem draselným – CHSK (chemická spotřeba kyslíku).

Princip metody: metoda je založena na oxidaci organických látek ve vodě manganistanem draselným v kyselém prostředí.

Výsledky zkreslují chloridy v množství nad 300 mg.l<sup>-1</sup>.

Pracovní postup: do titrační baňky odměříme 100 ml vody, okyselíme 10 ml 30% kyseliny sírové. Dobře promícháme, aby se promísila těžká kys. sírová se vzorkem.

Směs uvedeme do varu a pak přidáme 10 ml  $\text{KMnO}_4$   $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ . Vaříme **přesně** 10 min. Během varu by se neměl roztok odbarvit. Odbarvení znamená vyšší koncentraci organických látek ve vodě a vzorek je nutno naředit. Není možno zvyšovat koncentraci manganistanu, neboť hrozí nebezpečí jeho autooxidace. Po 10 minutách přidáme 10 ml kyseliny šťavelové  $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ . Protože část manganistanu se zredukovala oxidací organických látek, musí být ekvivalentní množství kyseliny šťavelové vypočítané s ohledem na původní množství manganistanu, dostačující pro odbarvení roztoku.

Přebytek kyseliny šťavelové nám určuje látkové množství manganistanu spotřebovaného na oxidaci organických látek. Toto množství kyseliny zjistíme opětovou titrací odměrným roztokem  $\text{KMnO}_4$   $c = 0.01 \text{ mol.l}^{-1}$  do prvního světla růžového zabarvení, které je trvalé.

#### Výpočet:

$$(a + b) \cdot f - c = d$$

a - objem odměrného roztoku manganistanu draselného přidaného do vzorku v ml

b - objem odměrného roztoku manganistanu draselného spotřebovaného při zpětné titraci v ml

f - faktor odměrného roztoku  $\text{KMnO}_4$

c - objem odměrného roztoku kyseliny šťavelové v ml

d - výsledný objem odměrného roztoku  $\text{KMnO}_4$  spotřebovaného na oxidaci organických látek v 100 ml vody

CHSK ( chemická spotřeba kyslíku ) se vypočítá ze vztahu

$$d \cdot 0.08 \cdot x = \text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$$

(za x dosadíme číslo, které nám vyjadřuje zředění vzorku a umožní tím dopočítat hodnotu CHSK na jeden litr vzorku )

Pro pitnou vodu je přípustná hodnota 3.0 mg O<sub>2</sub> v litru a krátkodobě 3.5 mg O<sub>2</sub> v litru.

Výsledek se vyjadřuje jako **CHSK** v **mg O<sub>2</sub>** na **litr** vody.

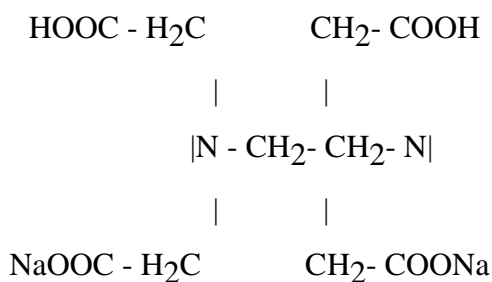
## 4.6. KOMPLEXOMETRICKÉ TITRACE

Jsou to titrace založené na tvorbě komplexů. Jako odměrný roztok používáme roztok:

a) Chelatonu III (dříve nazývaný komplexon) a metoda se potom nazývá chelatometrie. Chemicky je chelaton dvojsodná sůl kyseliny etylendiaminotetraoctové. Její zkratka EDTA je odvozena z jejího anglického názvu. Dvojsodná sůl se používá pro lepší rozpustnost.

b) odměrným roztokem je dobře rozpustná sůl rtuťnatá - metoda se potom nazývá merkurimetrie

ad a) Chelaton III (EDTA)



Chelaton III tvoří stabilní komplexy především s dvojmocnými až čtyřmocnými ionty.

Na vznik chelátů má výrazný vliv koncentrace vodíkových iontů.

Cheláty dvojmocných kovových iontů jsou stabilní v neutrálním a zásaditém prostředí.

Cheláty kovů alkalických zemin jsou stabilní pouze ve výrazně zásaditém prostředí.

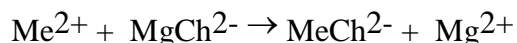
S rostoucím mocenstvím stoupá stabilita chelátů i v kyselém prostředí.

### 4.6.1. Typy chelatometrických titrací

1) titrace přímá - iont se přímo titruje Chelatonem III za přítomnosti vhodného indikátoru.

2) titrace zpětné - ke vzorku se přidá nadbytek odměrného činidla a nezreagovaný Chelaton III se retitruje odměrným roztokem  $MgSO_4$ . Používá se v případech, kdy stanovovaný iont tvoří komplex pomalu.

3) titrace vytěšňovací - ke stanovovanému iontu se přidá odměrný roztok chelatonátu hořečnatého. Ten má velmi slabé komplexotvorné vlastnosti a stanovovaný kovový iont  $Me^{2+}$  vytěsni hořčík z chelátového komplexu.



Množství uvolněného hořčíku se stanoví odměrným roztokem Chelatonu III. Toto množství je ekvivalentní množství stanovovaného kovového iontu - reakční poměr je 1 : 1.

Používá se v případě obtížné indikace vznikajícího komplexu - například nevyhovující barva.

4) titrace postupné - využívá se vlastnosti tvořit cheláty při různém pH. Tak je možné stanovovat směs iontů, kdy po stanovení iontu stabilního už v kyselém prostředí změním pH a stanovujeme jiný.

#### 4.6.2. Indikace chelatometrických titrací

Na indikaci chelatometrických titrací se užívají indikátory, kterým pro jejich vlastnosti říkáme metalochromní. Jsou to organická barviva, mající schopnost tvořit s kovy barevné cheláty. Podmínkou je, aby tyto cheláty měly nižší stabilitu než cheláty, které tvoří s těmito ionty Chelaton III.

Princip funkce - malé množství indikátoru vytvoří barevný chelát s kovovým iontem. Po přidání odměrného činidla, volné ionty kovu tvoří chelát s Chelatonem III. V blízkosti ekvivalentního bodu jsou všechny volné ionty kovu už zreagovány a tedy další přídavek Chelatonu III způsobí rozpad chelátu kov-indikátor (protože jak jsme uvedli, podmínka použití indikátoru je, že tvoří méně stabilní chelát). Tím se indikátor uvolní z vazby a objeví se jeho vlastní barva.

Z uvedeného principu je patrné, že metalochromní indikátory ne zcela splňují jednu z obecných podmínek pro použití indikátorů.

Přidané množství indikátorů používaných u jiných typů titrací zásadně neovlivní reakci.



Přidáme-li ale ke vzorku velké množství metalochromního indikátoru, vytvoří s ním chelát velké množství iontů  $Me^{2+}$  přítomných ve vzorku. Při vlastní titraci pak dojde k rozrušování chelátu kov-indikátor daleko před dosažením ekvivalentního bodu, protože v titrovaném roztoku už nejsou k dispozici volné ionty kovu. Ke změně barvy pak dochází dříve a je velmi nevýrazná a pozvolná. To proto, že pro poměrně velký objem přidávaného odměrného činidla vedle sebe existují dvě barvy. Barva chelátu kov-indikátor a barva volného indikátoru. Je-li indikátoru malé množství, pak již velmi malý objem odměrného roztoku Chelatonu III vytěsňuje všechny indikátor z vazby kov-indikátor.

Příklady indikátorů :

eriochromová čern T - v prostředí o pH vyšším než 10 se užívá na stanovení hlavně  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ .

Murexid- užíváný hlavně pro  $Ca^{2+}$  (pH 10 - 12)

Xylenová oranž - pro slabě kyselé prostředí

ad b) merkurimetrie - původně řazená do srážecích titrací. Většinou jde o tvorbu velmi málo disociovaných komplexů, podobných sraženinám.

Jako odměrné roztoky se užívají  $Hg(NO_3)_2$ , nebo  $Hg(ClO_4)_2$ . Stanovují se ionty halogenidů, kyanidů a thiokyanatanů.

Princip stanovení spočívá v tom, že v ekvivalentním bodě prudce stoupne koncentrace rtuťnatých iontů.

Indikace - vyplývá z předchozího, používají se látky tvořící sraženiny s dvojmocnými rtuťnatými ionty - nitroprussid sodný nebo barevné komplexy difenylkarbazidu.

## ☞ Cvičení 6

### Postup při komplexometrických titracích - stanovení vápníku

Byretu vypláchneme vodou. Potom nalejeme malé množství odměrného roztoku a to vypustíme. Nakonec naplníme byretu odměrným roztokem a na podložku pod ní si dáme čtverec filtračního papíru, pro lepší sledování změny barvy indikátoru.

Obvyklé množství vzorku je 10 ml, které pipetujeme buď přímo nebo po ředění vzorku.

Každý vzorek se stanovuje třikrát, pokud není uvedeno jinak.

Do tří titračních baněk napipetujeme po 10 ml vzorku.

Vzorky musíme zalkalizovat alespoň na hodnotu  $\text{pH} = 12$  pomocí  $4 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH v množství 5 ml. Přitom však dochází k vzniku špatně rozpustného  $\text{Ca(OH)}_2$ , který způsobí zakalení roztoku a ztížení stanovení. Proto se doporučuje do každého vzorku přidat 20 ml destilované vody.

Jako indikátor se používá murexid ve směsi s krystalickým NaCl.

Stačí ho malé množství, tak aby vzniklo slabě červené zbarvení.

Ekvivalentní bod se projeví zmodráním roztoku, které však není dobře vidět. Zde je potřeba mít na srovnání titrační baňku s ještě neztitrovaným vzorkem.

# Protokol o laboratorním vyšetření

**Vzorek:** .....

**Práci provedl:** .....

**Dne:** .....

---

**Postup :**

**Výpočet :**

**Výsledek:**

**Výsledek:**

## ☞ Cvičení č.7

### **Postup při komplexometrických titacích - stanovení hořčíku**

Byretu vypláchneme vodou. Potom nalejeme malé množství odměrného roztoku a to vypustíme. Nakonec naplníme byretu odměrným roztokem a na podložku pod ní si dáme čtverec filtračního papíru, pro lepší sledování změny barvy indikátoru.

Obvyklé množství vzorku je 10 ml, které pipetujeme buď přímo nebo po ředění vzorku. Každý vzorek se stanovuje třikrát, pokud není uvedeno jinak.

Do tří titračních baněk napipetujeme po 10 ml vzorku. Vzorek zalkalizujeme na  $\text{pH} = 10$  pomocí amoniakálního pufru v množství 5 ml. Přidáme pevný indikátor, což je eriochrom čern T. Opět menší množství, tak aby vznikla slabě červeně vínová barva. V ekvivalentním bodu se objeví modrá barva indikátoru.

# Protokol o laboratorním vyšetření

**Vzorek:** .....

**Práci provedl:** .....

**Dne:** .....

---

**Postup :**

**Výpočet :**

**Výsledek:**

## 4.7. VÝPOČTY V ODMĚRNÉ ANALÝZE

### 4.7.1. Vyjadřování koncentrace roztoků

- Procenta ( % ) -
- a) váhová - g účinné látky v 100 g vzorku
  - b) objemová - ml účinné látky v 100 ml vzorku
  - c) smíšená - g účinné látky v 100 ml vzorku (výjimečně i naopak)

#### Látková koncentrace

- vzorek stejnorodé látky má látkové množství 1 mol, obsahuje-li tolik částic (atomů, molekul, elektronů apod. - musí být specifikováno), kolik je atomů ve vzorku nuklidu uhlíku  $^{12}\text{C}$  o hmotnosti 12 kg.

Jeden mol jakékoliv látky tedy obsahuje  $6.023 \cdot 10^{23}$  (Avogadrovo číslo) částic pro danou reakci.

Za základ výpočtů je vhodné brát molární hmotnost chemického ekvivalentu (rozměr je  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

Chemickým ekvivalentem se přitom rozumí takové množství látky, které obsahuje jeden mol - tedy  $6.023 \cdot 10^{23}$  částic pro danou reakci.

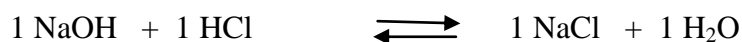
Pozor na vyjadřování koncentrací.

Koncentrace  $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  - je roztok, který v daném objemu obsahuje takovou **koncentraci** reagujících částic, odpovídající koncentraci ***jednoho molu chemických ekvivalentů*** rozpuštěné látky v **jednom litru**.

Koncentrace 1 M znamená, že v konkrétním objemu roztoku je obsažen **takový počet částic** jako v ***jednom molu chemických ekvivalentů***.

#### 4.7.2. Výpočet koncentrace analytu v roztoku – příklad pro neutralizační titrace

Neutralizace HCl s NaOH.



Z uvedeného vyplývá, že na jeden mol NaOH je potřeba 1 mol HCl. Tudiž jejich molární hmotnost ekvivalentu je shodná s jejich relativní molekulovou hmotností.

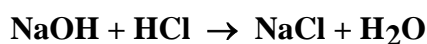
NaOH má rel.mol.hm. ( w,nebo  $M_R$ ) 40,0  
- takže molární hmotnost ekvivalentu bude 40,0 g.mol<sup>-1</sup> ( 6.023.10<sup>23</sup> částic )

Obdobně je možno toto napsat o HCl ( w,nebo  $M_R$ ) 36,45  
- takže molární hmotnost ekvivalentu bude 36,45 g.mol<sup>-1</sup> ( 6.023.10<sup>23</sup> částic )

Konkrétní příklad výpočtu :

Titrujeme 10 ml neznámého vzorku hydroxidu sodného odměrným roztokem kys. chlorovodíkové o  $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ,  $f = 1,0564$ , potřeba titrace je 15,2 ml.

Otázka zní kolik g NaOH je obsaženo v litru neznámého vzorku



**1 mol HCl zneutralizuje 1 mol NaOH**

1 litr HCl o  $c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$  zneutralizuje 1 litr NaOH o  $c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$

Tyto roztoky připravíme rozpuštěním takového množství dané látky (vyjádřeno v gramech), které vyjadřuje molární hmotnost ekvivalentu.

1 litr HCl o  $c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$  zneutralizuje 1 litr NaOH o  $c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$

( $M_r = 40 \text{ g}$  v litru)

jinak vyjádřeno

1 litr HCl o  $c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$  je ekvivalentní (neutralizuje) 40 g NaOH

1 litr HCl o  $c = 0.1 \text{ mol.l}^{-1}$  je ekvivalentní 4.0 g NaOH

15,2 ml HCl o  $c = (0.1 \text{ mol.l}^{-1} \times 1,0564)$  je ekvivalentní 0,06424 g NaOH

Protože odměrný roztok měl standart (faktor, f) 1,0564 bylo třeba koncentraci odměrného roztoku opravit

Takže zatímní výpočet říká že v 10 ml titrovaného vzorku bylo obsaženo 0,06423 g NaOH .

Je-li v 10 ml vzorku 0,06423 g NaOH, pak v 1000 ml bude obsaženo **6,424 g NaOH**

**Je li potřeba přepočítat tento výsledek na molární koncentraci (  $\text{mol.l}^{-1}$  )**

tak se postupuje následovně

1000ml vzorku NaOH obsahuje 6.424 g NaOH

1 litr NaOH o  $c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$  ..... obsahuje 40.0 g NaOH

1 litr NaOH o  $c = x$ .....obsahuje 6.424 g NaOH

$$x = \frac{1 \times 6.424}{40.0} = 0.1606 \text{ mol.l}^{-1}$$

Koncentrace NaOH byla **0.1606 mol.l<sup>-1</sup>**.

Pro zjednodušení můžeme z původního vztahu odvodit i rovnici o jedné neznámé.

$$c_1 \times V_1 \times n = c_2 \times V_2$$

$c_1$ ... koncentrace odměrného roztoku v  $\text{mol.l}^{-1}$ , případně zpřesněná faktorem

$V_1$ ... objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci

$c_2$ ... koncentrace neznámého vzorku

$V_2$ ... objem neznámého vzorku

$n$ ... reakční poměr ekvivalentů



Takže výpočet předchozího příkladu můžeme provést následovně :

$$(0,1 \times 1,0564) \times 15,2 \times (1/1) = c_2 \times 10$$

$$c_2 = 0,1606 \text{ mol.l}^{-1}$$

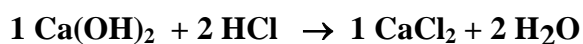
Po vynásobení molární koncentrace molekulovou hmotností analytu dostaneme výsledek v g.l<sup>-1</sup>.

$$0,1606 \times 40 = 6,424 \text{ g.l}^{-1} \text{ NaOH.}$$

V 1000 ml bude obsaženo **6,424 g NaOH**

Konkrétní příklad pro neznámý vzorek, který nereaguje s odměrným roztokem v ekvivaletním poměru 1 : 1, ale v jiném poměru.

Např u vícesytné zásady – hydroxidu vápenatého Ca(OH)<sub>2</sub> je nutné vyjít z reakční rovnice.



Proto má 1 mol Ca(OH)<sub>2</sub> M<sub>r</sub> = 74 (6.023.10<sup>23</sup> x 2 reagujících částic )

Použijeme zadání příkladu totožné z předchozím příkladem:

Titrujeme 10 ml neznámého vzorku hydroxidu vápenatého odměrným roztokem kys. chlorovodíkové o c = 0.1 mol.l<sup>-1</sup>, f = 1.0564, potřeba titrace je 15.2 ml.

Otázka zní kolik g Ca(OH)<sub>2</sub> je obsaženo v litru neznámého vzorku?

Postup výpočtu je obdobný jako u předcházejícího příkladu.

$$c_1 \times V_1 \times n = c_2 \times V_2$$

c<sub>1</sub>... koncentrace odměrného roztoku v mol.l<sup>-1</sup>, případně zpřesněná faktorem

V<sub>1</sub>... objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci

c<sub>2</sub>... koncentrace neznámého vzorku

V<sub>2</sub>... objem neznámého vzorku

n... reakční poměr ekvivalentů

$$(0,1 \times 1,0564) \times 15,2 \times (1/2) = c_2 \times 10$$

Rozdíl je pouze v reakčních ekvivalentech.

$$c_2 = 0,0803 \text{ mol.l}^{-1}$$

Po vynásobení molární koncentrace molekulovou hmotností dostaneme výsledek v  $\text{g.l}^{-1}$ .

$$0,0803 \times 74 = 6,424 \text{ g.l}^{-1} \text{ NaOH.}$$

V 1000 ml bude obsaženo **5,941 g NaOH**

### 4.7.3.

#### **Výpočet koncentrace analytu v pevné matici – příklad pro srážecí titrace titrace**

Principy výpočtu tohoto typu příkladů jsou totožné s předchozím uvedeně v části 1.5.2. Hlavní rozdíl je v tom, že je nutné ve výpočtu zohlednit navážku vzorku a objem připraveného výluhu.

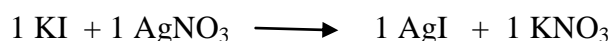
Konkrétní příklad výpočtu.

Stanovení jodidu draselného v pevné matici ( vzorku )

Bylo naváženo 12,654 g vzorku na stanovení jodidu draselného. Tato hmotnost vzorku byla vyluhována do 200 ml rozpouštědla. Z 200 ml připraveného výluhu bylo pak na titraci napipetováno 10 ml.

Titrujeme 10 ml výluhu odměrným roztokem  $\text{AgNO}_3$   $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$  a faktoru 1,000. Spotřeba na titraci byla 8,6 ml.

Otázka zní kolik g jodidu draselného bylo obsaženo v Kg vzorku.



Reakční poměr je 1 : 1

$$c_1 \times V_1 \times n = c_2 \times V_2$$

$c_1$ ... koncentrace odměrného roztoku v  $\text{mol.l}^{-1}$ , případně zpřesněná faktorem

$V_1$ ... objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci

$c_2$ ... koncentrace neznámého vzorku

$V_2$ ... objem neznámého vzorku

$n$ ... reakční poměr ekvivalentů

$$(0,01 \times 1) \times 8,6 \times (1 : 1) = c_2 \times 10$$

$$c_2 = 0,0086 \text{ mol.l}^{-1}$$

Přepočít na  $\text{g.l}^{-1}$  KI (m.h. KI 166,9)

$$0,0086 \times 166,9 = 1,435 \text{ g.l}^{-1} \text{ KI (g KI v 1000 ml výluhu)}$$

Přepočít na reálný objem připraveného výluhu

v 1000 ml výluhu 1,435 g KI

v 200 ml výluhu  $x = 0,287 \text{ g KI}$

200 ml výluhu zároveň odpovídá hmotnosti vzorku v něm vyluhovaného takže :

200 ml výluhu odpovídá navážce vzorku = 12,654 g .

v 12,654 g vzorku je tudíž obsaženo .....0,287 g KI

v 1000 g vzorku .....x = 22,681 g KI

Kilogram vzorku obsahoval 22,681 g KI.

## 5.0 Instrumentální analýza

### 5.8.1. POTENCIOMETRIE

Potenciometrie je založena na měření napětí galvanického článku tvořeného dvěma poločlánky - elektrodami ponořenými do vhodného roztoku.

Tyto dvě elektrody musí splňovat určité podmínky. První elektroda se volí tak, aby její potenciál byl ovlivněn koncentrací měřeného iontu - to je tzv. **indikační (měrná) elektroda**. Druhá elektroda musí mít naopak potenciál neměnný (konstantní). To je tzv. **elektroda srovnávací (referentní)**.

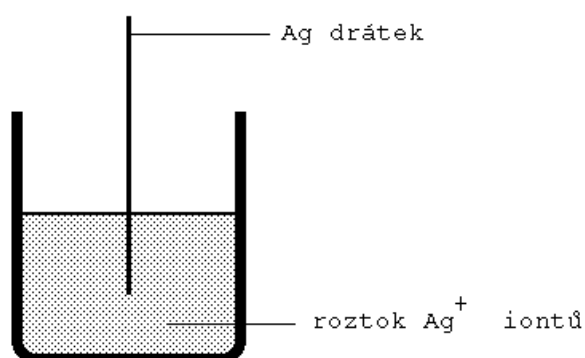
Rozdíl potenciálů těchto dvou poločlánků se měří tzv. bezproudovým způsobem, tzn. že vstupní odpor voltmetru použitého k tomuto měření musí být velmi vysoký (u prakticky používaných přístrojů je zpravidla větší než  $10^{13} \Omega$ ). V případě většího odběru proudu by totiž došlo k polarizaci elektrod a velkému zkreslení měřeného napětí. Hodnota odebíraného proudu je řádově  $10^{-15}$  A.

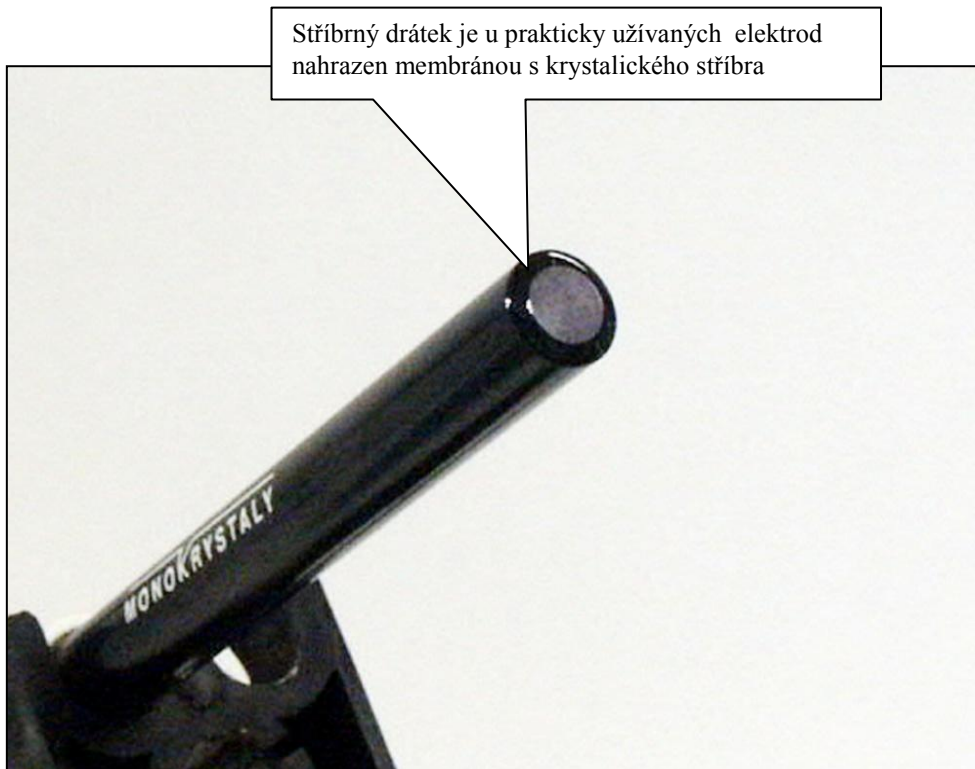
Elektrody se mohou dělit podle konstrukce, nebo základních elektrochemických principů. Nejběžnější dělení je na elektrody prvního až třetího druhu a speciální elektrody.

**5.8.1.1. Elektrody prvního druhu** - jsou to kovové elektrody, které jsou ponořeny do roztoku obsahujícího společný kationt (např. Stříbrná elektroda ponořená do roztoku iontů  $\text{Ag}^+$ ).

Typickým zástupcem je například stříbrná elektroda.

Schéma :





Na membráně (Ag drátku či membráně ) se ustaluje rovnováha



Je-li soustava v rovnováze, můžeme ji charakterizovat rovnovážnou konstantou K

$$K = \frac{a_{\text{Ag}^+}}{a_{\text{Ag}}}$$

zhledem k tomu, že Ag je pevná, velmi špatně rozpustná látka, je její aktivita rovna jedné.

$$K = \frac{a_{\text{Ag}^+}}{1}$$

Můžeme tak Nernstův vztah psát takto:

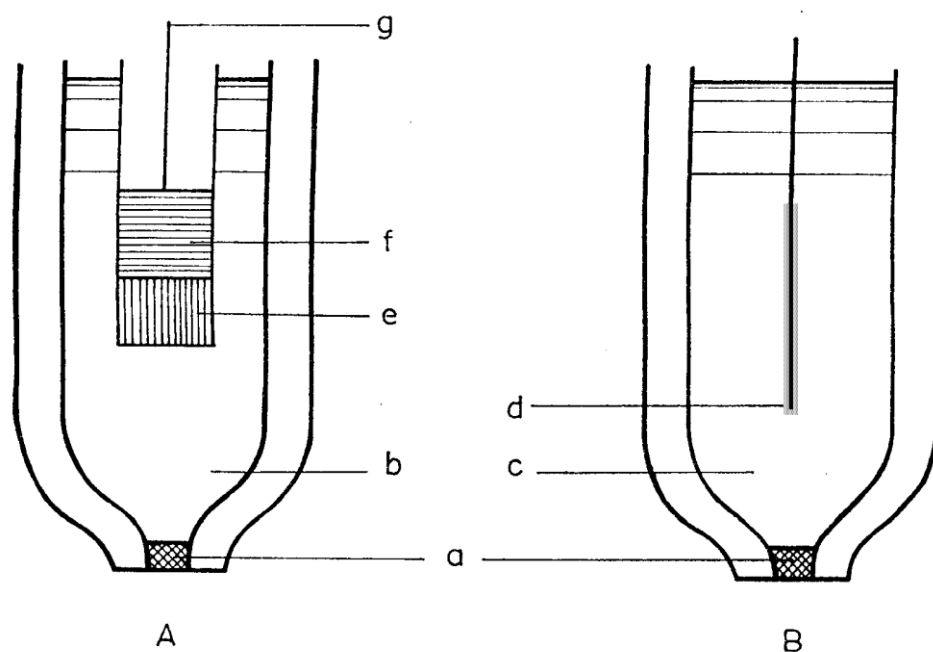
$$E = E^0 + \frac{\text{R.T}}{z.F} \ln K = E^0 + \frac{\text{R.T}}{z.F} \ln a_{\text{Ag}^+}$$

Potenciál stříbrné elektrody je tedy funkcí aktivity stříbrných iontů.

**5.8.1.2. Elektrody druhého druhu** - jsou kovové elektrody. Skládají se z vodiče obaleného vrstvou své špatně rozpustné soli a ponořeného do nasyceného roztoku dobře rozpustné soli, která obsahuje stejný anion jako zmíněná sůl špatně rozpustná.

Typickým příkladem je argenochloridová elektroda. Je to kovové stříbro, obalené špatně rozpustným chloridem stříbrným a ponořené do nasyceného roztoku chloridu draselného.

Schéma :



### Referentní elektrody

**A - kalomelová**

**B - argenochloridová**

a - keramická fritá

b, c - vnitřní roztok (např. nasycený roztok KCl)

d - stříbrný drátek pokrytý vrstvou AgCl

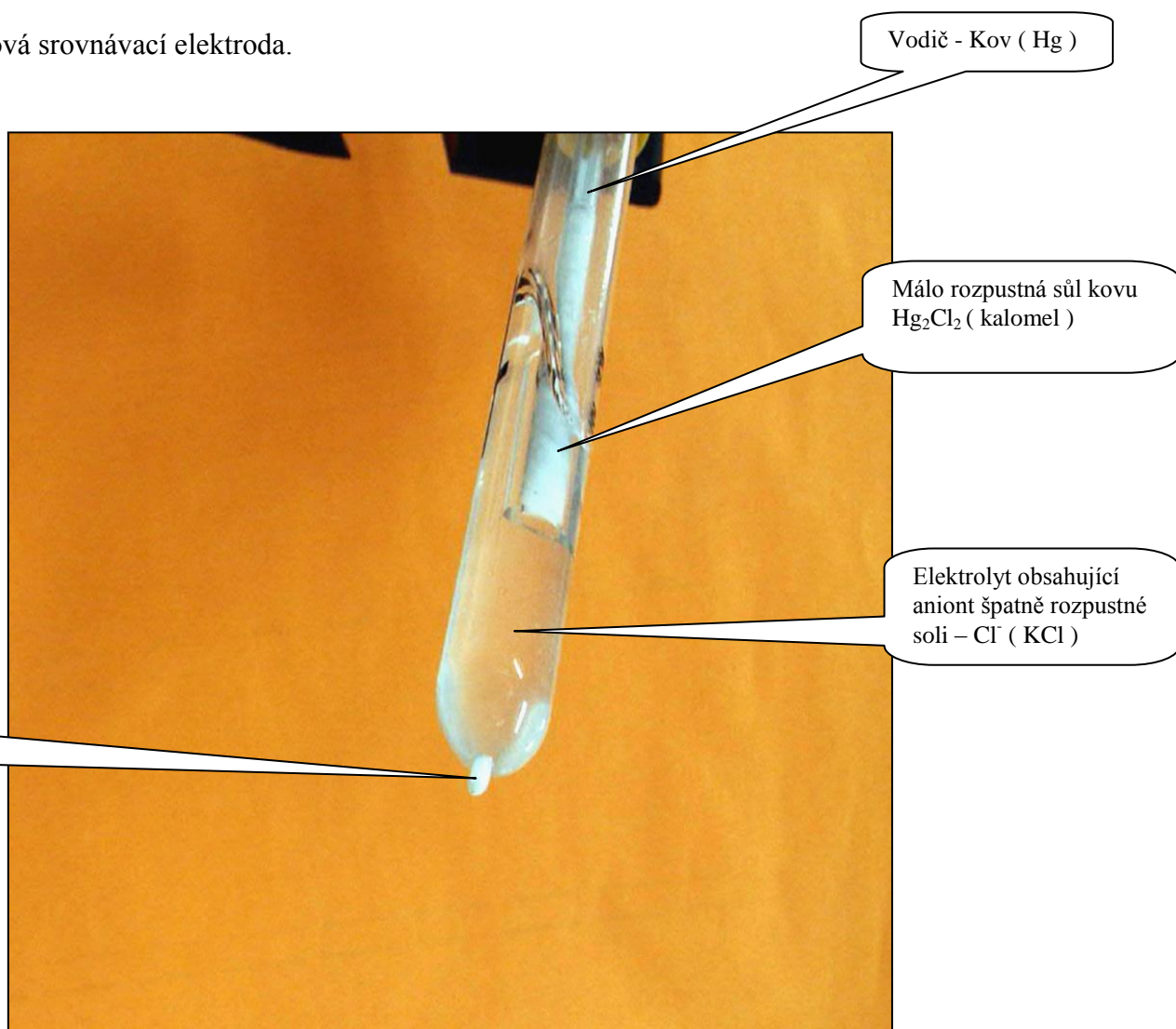
e - vrstva  $Hg_2Cl_2$  (kalomelu)

f - vrstva rtuti

g - vnitřní svod elektrody

Potenciál této elektrody je funkcí koncentrace chloridových aniontů. Vzhledem k tomu, že aktivita by měla být konstantní (většinou jde o nasycený roztok), je stálý i potenciál. Tyto elektrody tedy nereagují na koncentraci analytů v měřeném roztoku a proto se používají jako elektrody referentní (srovnávací). S měřeným roztokem komunikují tzv. vlhkým kontaktem – jejich elektrolyt vytéká do měřeného roztoku – elektrolytu - a tím umožňuje uzavřít elektrický obvod s měřicí elektrodou. Množství elektrolytu vytékající se srovnávací elektrody je však minimální - jednotky  $\mu\text{l}$  za hodinu, aby neovlivňovalo vlastnosti měřeného roztoku.

Kalomelová srovnávací elektroda.



**5.8.1.3. Elektrody třetího druhu** - jsou to elektrody, jejichž potenciál je ovlivněn oxidoredukčními poměry v roztoku. Příkladem může být platinová elektroda, ponořená do roztoku obsahujícího ionty  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ . Sama elektroda se oxidoredukční reakce neúčastní, na jejím povrchu ale probíhá výměna elektronů. Tím je ovlivněn její potenciál.

Potenciál této elektrody je tedy funkcí poměru oxidované a redukované formy stanovované látky.

Patří proto mezi elektrody měřicí.

**5.8.1.4. Speciální elektrody** - charakteristickou vlastností těchto elektrod je, že většinou měří pouze jeden jediný ion. Z tohoto důvodu se velmi často označují jako iontově selektivní elektrody (běžně zkracováno jako ISE).

Nejstarší a dodnes nejčastěji užívaná elektroda tohoto typu je skleněná elektroda na měření pH. Její membrána je tvořena baničkou ze speciálního skla. Do křemičité struktury tohoto skla jsou vneseny tzv. poruchy, které tvoří atomy sodíku. Tyto atomy se v roztoku potom vyměňují za  $\text{H}^+$  ionty, což je umožněno mimo jiné i schopností tohoto skla se hydratovat. Samozřejmě výměnou sodíku za  $\text{H}^+$  dochází ke změně potenciálu. Ve vnitřním prostředí elektrody je tlumivý roztok o stabilním pH, který udržuje potenciál na vnitřní straně baničky konstantní.

Měří se rozdíl potenciálu vnější a vnitřní stěny baničky vzhledem k vhodné srovnávací elektrodě.

Výpočet potenciálu se u této elektrody většinou nepoužívá. Je nahrazen metodou kalibrace, kdy je měřicí soustava nastavena na roztoky o přesně známém pH. Rozsah pH, při kterém je použitelná je od pH 0,1 - 12.

Jako srovnávací elektroda se nejčastěji používá kalomelová.

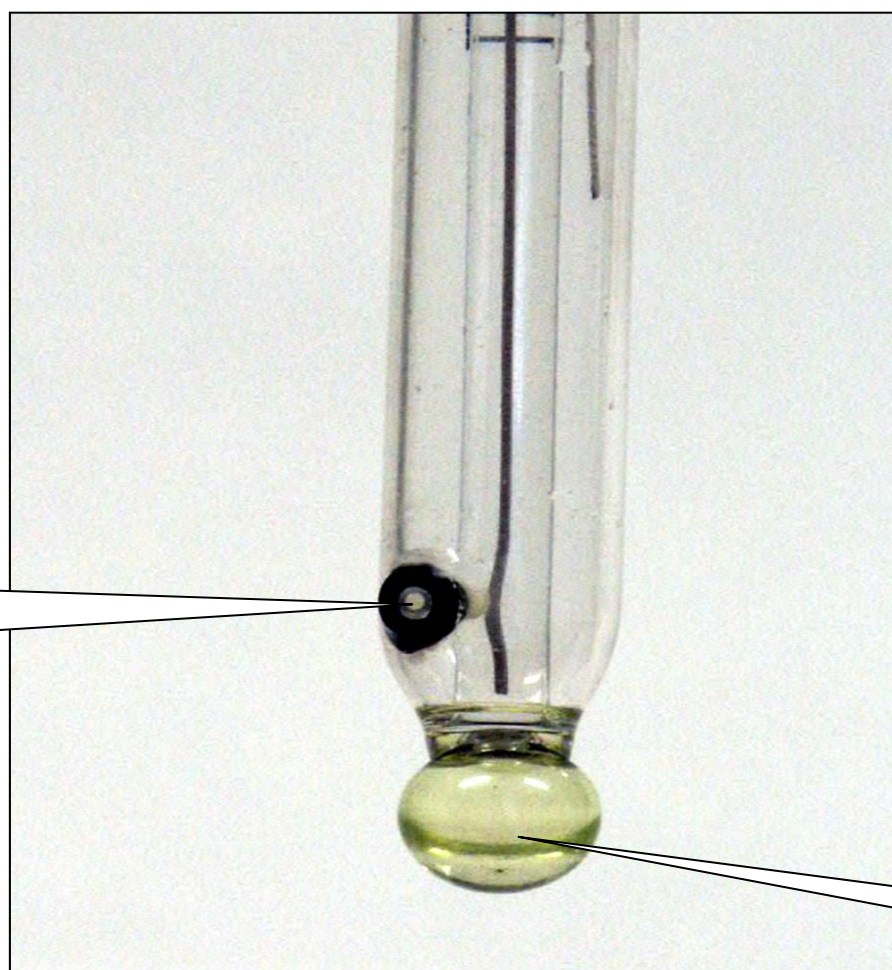
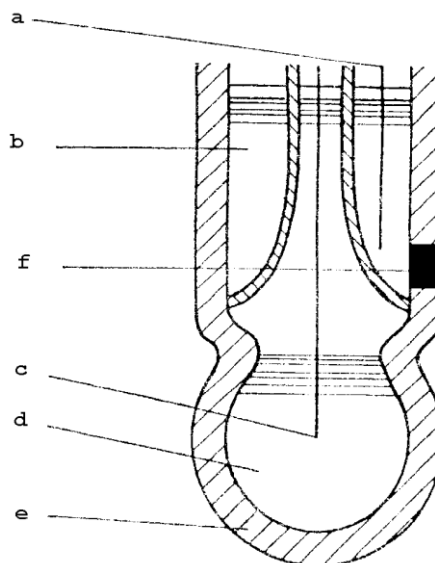
Pro zjednodušení obsluhy byla vyvinuta kombinovaná elektroda na měření pH. Tato elektroda má v sobě zabudovanou jak měřicí, tak i srovnávací elektrodu. Skládá se ze skleněné pH elektrody a jako srovnávací je nejčastěji použita argentschloridová elektroda.



## Kombinovaná skleněná elektroda na měření pH

Schéma kombinované elektrody na měření pH

- a - Ag/AgCl referentní elektroda
- b - roztok KCl
- c - vnitřní referentní elektroda
- d - roztok HCl
- e - skleněná membrána
- f - fritta

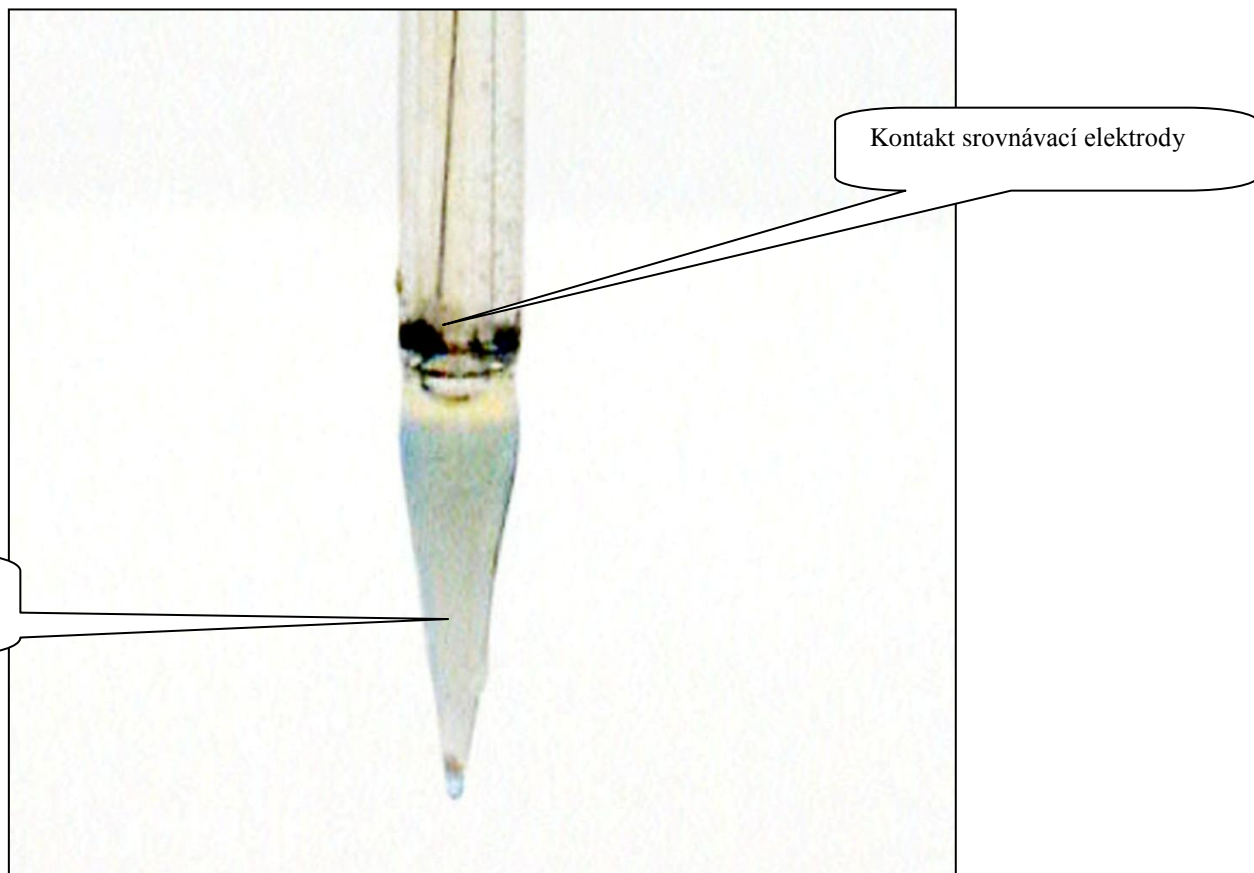


Kontakt  
srovnávací  
argentochlorido  
vé elektrody

Skleněná měřicí  
membrána

## Kombinovaná vpichovací skleněná elektroda na měření pH

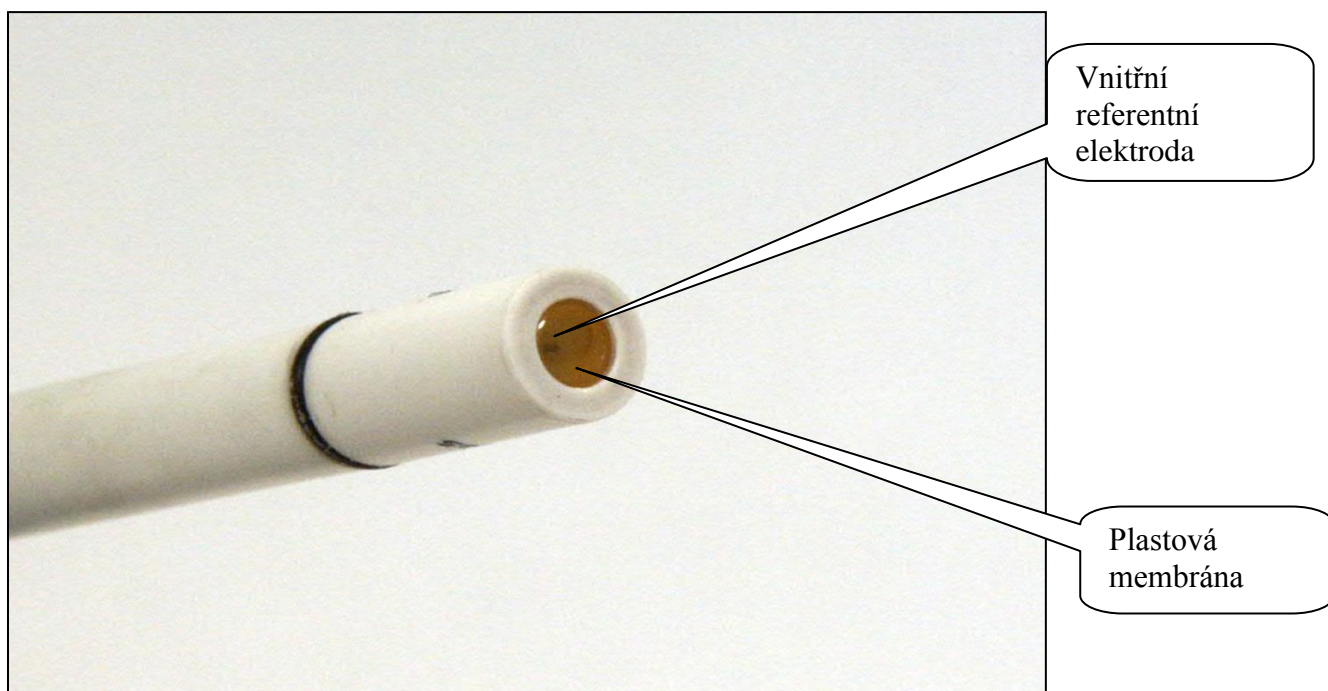
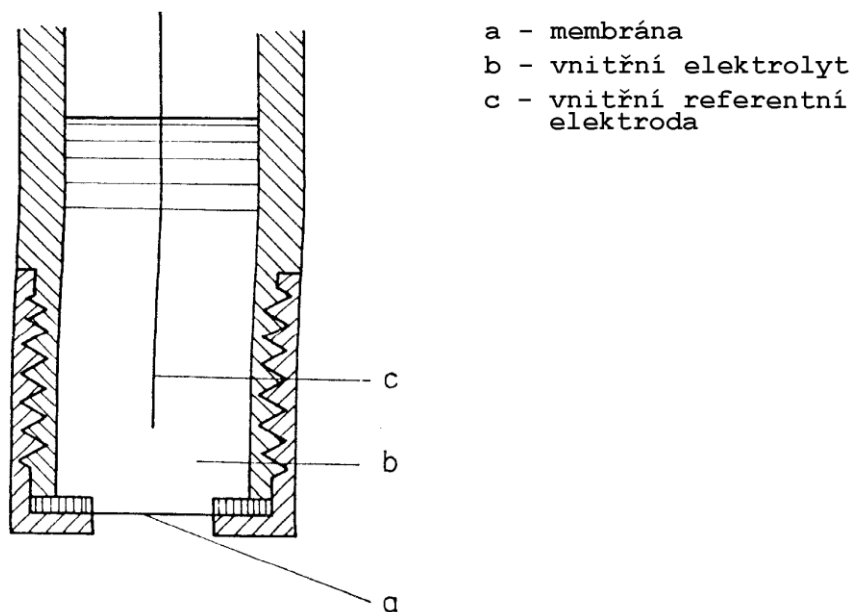
Pro některé speciální aplikace, především pro účely kontroly potravin, užití protravinářském průmyslu, ale i jinde, byla vyvinuta speciální elektroda na měření pH. Složení elektrody je totožné s klasickou skleněnou pH elektrodou. Rozdíl je v konstrukci skleněné membrány. Ta byla vytvrzena bez ztráty citlivosti a tím je možné elektrodu vpichovat do různých matric. Hlavní podmínkou úspěšného měření je dostatečný obsah vody ( elektrolytu ) v měřené matrici. To umožní uzavření elektrického obvodu a změření vlastností matrice neboli aktivitu  $H_3O^+$  iontů. Druhou podmínkou je dostatečná měkkost matrice. Elektrodová membrána je přece jenom ze skla a má omezenou odolnost. Ta to překážka se řeší teflonovým vpichovacím bodce, kterým je možno si udělat otvor pro vnoření elektrody ( např. u dlouho zrajících sýrů nebo masných výrobků ). Nebo v těle elektrody je vložen nůž ve tvaru V. Ten překrývá vlastní vpichovací membránu a před ní vyřezává zářez do kterého se elektroda vnuřuje.



Další skupinou ISE elektrod jsou elektrody s pevně zabudovaným iontoměničím v membráně elektrody, která je z plastického material, většinou se speciálního PVC. Potenciál těchto elektrod je ovlivňován obdobně jako u pH elektrody. U těchto elektrod ovšem jde o výměnu iontů mezi iontoměničím membrány a ionty v roztoku (např.  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  ISE ).

Dnes se vyrábí velmi široké spektrum těchto elektrod, které jsou většinou použitelné pro koncentrace  $10^{-6}$  až  $10^{-1}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Schema ISE s plastovou membránou



## ☞ Cvičení 4

### Stanovení pH pomocí skleněné elektrody.

#### Princip metody:

je založen na měření elektromotorické síly *galvanického článku*, který je složen ze dvou poločlánků - elektrod. Jedna z nich má v dané soustavě potenciál stabilní, tj. elektroda srovnávací neboli referentní – např. elektroda argentschloridová a druhá je elektroda měřicí, jejíž potenciál je ovlivňován aktivitou  $\text{H}_3\text{O}^+$  v roztoku.. Pro měření pH je indikační elektrodou nejrozšířenější iontově selektivní elektroda tzv. **skleněné elektroda**.

#### Pracovní postup :

Prvním krokem, který je nutno udělat je kalibrace měřicí soustavy. Kalibrace se provádí na roztoky i známém pH. Jsou to roztoky, které jsou schopny udržet pH navzdory různým vlivům. Takovým roztokům říkáme pufry.

Při kalibraci platí obecné pravidlo, že předpokládaná změřená hodnota neznámého vzorku musí ležet uvnitř kalibračního rozpětí. U většiny roztoků přibližné pH známe nebo si je můžeme orientačně zjistit např. pH papírky. Podle této hodnoty pak zvolíme pH kalibračních roztoků.

Dnes se běžně používá u většiny přístrojů tříbodová kalibrace a základní kalibrační roztoky bývají doporučeny o pH 4,0 – 7,0 – 10,0.

#### Vlastní měření :

k vlastnímu měření použijeme skleněnou kombinovanou pH elektrodu a to buď v klasické podobě nebo vpichovací.

Při použití těchto elektrod je proto nutno dbát na to, aby byly ponořeny nebo zapichnuty do měřeného vzorku až po kontakt referentní elektrody.

Pokud při měření používáme míchadlo, což je výhodnější, je třeba aby rychlost míchání během celého měření byla konstantní.

Měřicí soustavu nastavíme na pufry. Na závěr kalibrace přístroj ukáže % teoretické směrnice. To je hodnota, která je odvozena z Nerstovy rovnice ( u jednomocných iontů jako je  $\text{H}_3\text{O}^+$

je její teoretická hodnota  $59,2 \text{ mV} = 100\%$ ). Tato hodnota by neměla klesnout pod 85% a u řady přístrojů je nastavena jako limitní.

Po úspěšné kalibraci můžeme začít měřit pH vzorků. Pokud měřené pH silně kolísá, není elektroda správně ponořena či zabodnuta nebo je elektroda poškozena.

V případě roztoků používáme takové množství vzorku, aby byla elektroda ponořena i s kontaktem referenční elektrody. Pokud používáme míchadlo nesmí nám zachycovat o elektrodu, aby nedošlo k mechanickému poškození měřící skleněné baňky. I mikroskopické trhlinky znemožňují správnou funkci elektrody.

**Pozor** : před každým ponořením elektrody do měřeného roztoku je nutné elektrodu buď opláchnout destilovanou vodou, nebo ji do ní ponořit a potom se spodní strany opatrně odsát nebo v případě vpichovací elektrody otřít zbytek vody buničitou vatou.

**PO SKONČENÍ MĚŘENÍ ELEKTRODU VŽDY PONOŘ DO UCHOVÁVACÍHO ROZTOKU - DESTILOVANÁ VODA NEBO PUFR O pH 7. NIKDY NENEČEJ SKLENĚNOU MEMBRÁNU VYSYCHAT NA VZDUCHU.**

# Protokol o laboratorním vyšetření

**Vzorek:** .....

**Práci provedl:** .....

**Dne:** .....

---

**Postup :**

**Výpočet :**

**Výsledek:**

## 5.9. OPTICKÉ METODY – STRUČNÝ PŘEHLED

Optické metody jsou fyzikální metody založené na využití interakce elektromagnetického záření s analyzovanou látkou. Následkem interakcí na úrovni jader, elektronů, atomového obalu i molekul může docházet ke změnám všech charakteristik elektromagnetického záření - intenzity, vlnové délky, rychlosti šíření, směru kmitů. Typ interakce závisí kromě struktury částic na vlnové délce záření.

Optické metody můžeme rozdělit na:

### 5.9.1. Spektroskopické metody

- založené na emisi záření
- založené na absorpci záření
- založené na působení silného magnetického pole na zkoumanou  
Látku

#### 5.9.1.1. Emisní spektrální analýza ( ESA )

Sleduje se záření vysílané atomy, ionty nebo molekulami určované složky. Aby atomy vysílaly záření, je nutné je přivést do excitovaného stavu. Při deexcitaci elektronů je uvolňováno ( emitováno ) záření. Emitované záření se monochromátorem rozloží na jednotlivé složky, které se od sebe liší vlnovou délkou. Analýzou spektra - frekvence a intenzity záření - analyzované látky se zjistí její chemické složení. Intenzita spektrálních čar závisí na obsahu sledovaného prvku, je tedy možné tyto metody využívat v kvalitativní i kvantitativní analýze.

Příklady metod :

Atomová emisní spektrofotometrie ( AES ) - zdrojem excitace elektronů je vysoká teplota vyvolána například elektrickým výbojem, vysokoenergetickým plamenem apod. Každý prvek má svoji typickou elektronovou strukturu a proto za daných podmínek bude uvolňovat spektrum vlnových délek typické pouze pro něj.

Luminiscenční analýza – luminescence je jev, kdy zdrojem excitace elektronu je nízkoenergetické elektromagnetické záření dodávané z externího zdroje (například dioda), ale také záření vznikající při chemických reakcích (chemiluminescence), energií elektrického pole (elektroluminescence), mechanickou energií apod. Látky, které jsou schopny excitace i takovými nízkoenergetickými metodami nazýváme luminifory. Další typickou vlastností těchto látek je, že nedochází k uvolnění zachycené energie ihned, ale se spožděním.

Luminescence se může dělit podle doby, která uplyne mezi excitací elektronu a jeho návratem na základní hladinu a to na :

- Fluorescenci - kdy čas potřebný k vyzáření elektromagnetického záření je v rozmezí  $10^{-15}$  až  $10^{-8}$  s

- Fosforescenci kdy čas potřebný k vyzáření elektromagnetického záření je v rozmezí  $10^{-3}$  s až několik minut.

### 5.9.1.2. Absorpční spektrální analýza (ASA)

ASA je založena na studiu absorpčního spektra po průchodu záření analyzovanou látkou. Dochází k absorpci záření. Absorpcí záření se jeho intenzita zmenší, ale **vlnová délka se nemění**. Důležité veličiny jsou:

T - transmitance (propustnost)

$$T = \frac{I_0}{I}$$

$I_0$  - původní intenzita záření

I - intenzita záření po průchodu

A – absorbance

$$A = \log \frac{1}{T}$$



Charakteristickou vlastností analyzované látky je vlnová délka, při které látka nejvíce absorbuje záření (tzv. absorpční maximum). Intenzita absorpce záření umožňuje stanovit množství sledované látky ve vzorku.

Kvantitativní ASA je založena na Lambertově - Beerově zákoně.

$$A = \alpha \cdot c \cdot l$$

A - absorbance

$\alpha$  - molární absorpční koeficient

l - tloušťka absorbující vrstvy

c - koncentrace v mol.l<sup>-1</sup>

ASA v oblasti elektronových spekter je založena na sledování absorpce záření při vlnových délkách 200 - 800 nm tj. záření v UV a ve viditelné oblasti. Významnou absorpci světla v této oblasti jeví organické sloučeniny a sloučeniny komplexní, které obsahují jako centrální atom iont přechodného prvku.

Příklady metod :

**Spektrofotometrie** - využívá schopnosti látek rozpuštěných v roztocích pohlcovat monochromatické světlo . Porovnává se pak o kolik klesla intenzita tohoto monochromatického záření proti původní intenzitě.

Tato metoda se dá dale dělit podle použité vlnové délky na metody RTG spektrofotometrii – vlnových délek rentgenového spektra, UV spektrofotometrie – za použití vlnových délek 200 – 360 nm, fotometrie – oblasti viditelných vlnových délek, IR spektrofotometrie – za použití vlnových délek nad 700 nm apod.

**Atomová absorpční fotometrie ( AAS )** – vychází s předpokladu, že prvek v plynném stavu absorbuje takové vlnové délky, které by sám emitoval. Prvek se termicky přivede do plynného stavu a pak tímto plynem prochází spectrum vlnových délek. Sleduje se které vlnové délky jsou absorbovány a o kolik klesla jejich intenzita. Metoda je vlastně opakem AES, kde se naopak sledovalo, které vlnové délky se uvolnily. Obě metody jsou jedny z nejfrekventovanějších analytických metod pro stanovení prvků a jejich případných derivátů.

### 5.9.1.3. Metody založené působením magnetického pole na zkoumanou látku

Rozeznáváme dvě základní metody:

1. měření a vyhodnocení spekter, která vznikají rozštěpením energetických hladin částic v magnetickém poli (např. metoda jaderné magnetické rezonance)

2. měření hmotnostního spektra analyzované látky, které vzniká po její ionizaci a separaci jednotlivých iontových druhů ve vnějším magnetickém poli podle jejich hmotnosti a náboje (metody hmotnostní spektroskopie)

**9.2. Nespektrofotometrické metody** - analytické metody založené na změně směru, rychlosti, optické otáčivosti záření

Například

Polarimetrie - otáčení roviny polarizovaného světla, úhel závisí na koncentraci opticky aktivní látky

Refraktometrie – metody založené na fyzikálním zjištění lomu světla. Každá látka má charakteristický index lomu

## Cvičení č. 9

### Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě luminiscencí.

Teoretické předpoklady luminiscenční analýzy :

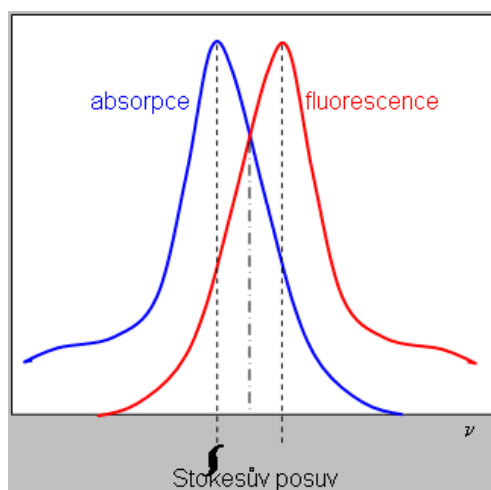
Vznik luminiscence : jev, kdy elektron v atomu přeskočí z vyšší energetické hladiny na nižší energetickou hladinu. Rozdíl mezi energetickými hladinami se vyzáří ve formě elektromagnetického záření.

Zdrojem excitace elektronu je zpravidla elektromagnetické záření dodávané z externího zdroje (například dioda ), ale také záření vznikající při chemických reakcích ( chemiluminiscence ), energií elektrického pole ( elektroluminiscence ), mechanickou energií apod.

Je to proces, při němž záření o určité vlnové délce vyvolává v látce – luminoforu - excitaci a následně uvolnění záření o maximálně stejné nebo delší ( výrazně častější případ ) vlnové délce - tzv. **Stokesův posuv fluorescence** – než mělo záření použité k excitaci. Je to dáno tím, že v jednodušším případě přeskakuje-li elektron přímo z excitované hladiny na základní energetickou hladinu, tak frekvence a tudíž i vlnová délka excitujícího a vyzářeného elektromagnetického záření je totožná. Častěji se ale mezi excitovanou a základní hladinou vyskytuje ještě jedna nebo více energetických hladin. V tom případě se zmenšuje frekvence vyzářeného elektromagnetické záření a tím se sníží jeho energie a zároveň zvětší vlnová délka, oproti elektromagnetickému záření, které se použilo k excitaci.

$$E = h \cdot c / \lambda \quad (\text{Stokesův posuv fluorescence})$$

Grafické vyjádření Stokesova posuvu fluorescence.



( Zdroj : Ing. Jan Aubrecht: Pevné látky pro biomedicínu, ČVUT )

Luminiscence se může dělit podle doby, která uplyne mezi excitací elektronu a jeho návratem na základní hladinu a to na :

1. **Fluorescenci** - kdy čas potřebný k vyzáření elektromagnetického záření je v rozmezí  $10^{-15}$  až  $10^{-8}$  s
2. **Fosforescenci** kdy čas potřebný k vyzáření elektromagnetického záření je v rozmezí  $10^{-3}$  s až několik minut.

Metody stanovení látek na základě schopnosti luminiscence prodělaly v posledních letech bouřlivý vývoj a o jejich významu svědčí i to, že Nobelovu cenu za chemii v roce 2008 obdržela skupina vědců zabývajících se těmito jevy, konkrétně vysvětlení luminiscence u medúz pomocí GFP ( zelený luminiscenční protein) a jeho využití v molekulární biologii.

### **Stanovení rozpuštěného kyslíku ve vodě metodou luminiscenční analýzy.**

Koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě je jedním z hlavních ukazatelů kvality vody, biologického znečištění povrchových vod a důležitým parametrem aktivačního, nitrifikačního a denitrifikačního procesu v biologických čistírnách odpadních vod. V potravinářském průmyslu koncentrace kyslíku ovlivňuje například průběh kvasných procesu při výrobě potravin.

V současné době nastupuje nová generace sond na měření rozpuštěného kyslíku ve vodě a to sondy označované LDO (Luminescent Dissolved Oxygen) a RDO (Rugged Dissolved Oxygen) , založené na luminiscenční technologii. Optická metoda využívá schopnosti kyslíku zhaset luminiscenci, která vzniká na povrchu senzoru opatřeného luminiscenční vrstvou, ozářením modrým světlem. Tato luminiscenční vrstva je obvykle tvořena nosičem dobře propustným pro elektromagnetické záření určitých vlnových délek a v něm je rozptýlen luminofor – je uváděn například kov ruthenium. Při přechodu elektronů z vybuzeného do základního stavu se emituje červené světlo. Časový interval od okamžiku osvětlení modrým světlem do okamžiku vyzáření červeného světla je úměrný koncentraci rozpuštěného kyslíku ve vodě.

Měření se provádí tak, že excitační dioda LED vyše pulzní modré světlo. Světelný impulz prochází přes průhledný materiál nosiče na luminofor, kterému předá část své zářivé energie. To vede k tomu, že některé elektrony v luminoforu přeskočí ze základní energetické hladiny na vyšší hladinu. Během několika mikrosekund se vrátí zpět na svou původní energetickou hladinu a to přechodem přes několik energetických hladin za současného vyzáření energie, kterou ztrácejí ve formě červeného světla (Stokesův posuv).

Když jsou molekuly kyslíku v kontaktu s luminoforem, dochází k těmto dvěma účinkům:

Molekuly kyslíku jsou schopné absorbovat energii elektronů z vyšší hladiny a umožnit jim, aby se vrátily na základní energetickou hladinu bez vyzáření světla. Čím vyšší je koncentrace kyslíku, tím výraznější je snížení intenzity emitovaného červeného světla. Molekuly kyslíku také vyvolávají „nabuzení“ luminoforu, takže elektrony se vracejí z vyšší energetické hladiny rychleji. Délka života vyzářeného červeného světla se proto zkrátí. Oba jevy se označují jako zhášení. Koncentrace kyslíku se tudíž může stanstanovit buď na rychlosti zhášení nebo na snížení intenzity emitovaného světla. Jednodušší je změřit čas. Proto je měření kyslíku založeno na čistě fyzikálním měření času efektu zhášení luminiscence. Výběr pulzního modrého excitačního světla má za následek emisi intenzivní, měřitelné červené luminiscence, čímž se zajistí široký rozsah měření a nízký detekční limit.

Optická metoda má proti elektrochemickým řadu výhod. Měření je stabilní, velmi rychlé a přesné, není rušeno interferencemi. Sonda nevyžaduje složitější čištění elektrod, ani výměnu vnitřního elektrolytu, jak u elektrochemických metod měření.

**Název úlohy :**.....

**Práci provedl:**.....

**Dne: .....**

---

**Výsledky :**