

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Základy vybraných experimentálních chemických metod

Eva Otyepková, Robert Pucek, Libor Kvítek, Aleš Panáček, Michal Otyepka

Olomouc 2013



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

„Inovace bakalářského studijního oboru Aplikovaná chemie“
CZ.1.07/2.2.00/15.0247

Základy vybraných experimentálních chemických metod

Eva Otyepková, Robert Prucek, Libor Kvítek, Aleš Panáček, Michal Otyepka

OBSAH:

Úvod	v
Laboratorní řád a bezpečnost práce	vi
Protokol	xv
Příprava mangananu draselného	1
Příprava acetylacetonátu nikelnatého	2
Příprava acetylacetonátu kobaltitého	3
Příprava hexanitritokobaltitanu sodného	5
Příprava komplexonátu kobaltito-draselného	7
Příprava thiosíranu sodného	8
Příprava uhličitanu sodného	10
Oranž II	11
Methylčerveň	13
Izolace eugenolu z hřebíčku vonného	15
Esterifikace	17
Příprava benzoanu ethylnatého	19
Příprava ethylesteru kyseliny octové	20
Dělení bílkovin pomocí diskontinuální elektroforézy	22
Reakce základních anorganických iontů	27
Rektifikace	37
Papírová a tenkovrstvá chromatografie	41
Stanovení cukrů v ovocných šťávách	44
Stanovení alkaloidů (chininu) v léčivém přípravku	46
Stanovení vitamínů skupiny B v droždí	47
Stanovení přírodních kyselin a vitamínu C v ovocných šťávách	49

Infračervená spektroskopie	52
Spektrofotometrické stanovení v analýze vod	58
Spektrofotometrické stanovení fosforečnanů ve vodách	59
Spektrofotometrické stanovení amonných iontů ve vodách	62
Spektrofotometrické stanovení dusitanů ve vodách.....	64
Spektrofotometrické stanovení dusičnanů ve vodách	66
Záchyt a stanovení oxidů dusíku v ovzduší	68
Volumetrie v analýze vod	72
Stanovení CHSK_{Mn}	73
Stanovení obsahu Ca^{2+} a Mg^{2+}	76
Stanovení neutralizační kapacity přírodních vod	79
Stanovení kyseliny octové v obchodním octě	82
Stanovení obsahu kyseliny fosforečné v Coca-Cole®	86
Stanovení vitamínu C v Celaskonu®	90
Plynová chromatografie	93
Stanovení obsahu methanolu v destilátu	96

ÚVOD

Skripta Základy vybraných experimentálních chemických metod jsou určena posluchačům studijních programů Aplikovaná chemie, Management v chemii a Ekochemie. Učební text obsahuje návody k jednotlivým laboratorním úlohám.

Na začátku skript jsou řazeny úlohy zabývající se jednoduchou anorganickou a organickou syntézou, ale také vícestupňovou organickou syntézou. Je zde možné též nalézt úlohy zabývající se izolací organické látky z přírodního materiálu a přípravou esterů. Studenti si dále mohou vyzkoušet separaci látek pomocí elektroforézy v polyakrylamidovém gelu, provést analytické důkazy základních anorganických iontů, ověřit si základy papírové a tenkovrstvé chromatografie, vyzkoušet a porozumět úlohám využívajících IR a UV-Vis spektroskopie. V závěru skript jsou uvedeny úlohy zabývající se titracemi (neutralizační, potenciometrická, atd.) a také úloha využívající plynovou chromatografii.

Každá laboratorní úloha kromě syntetických je uvedena teoretickou částí, za kterou následuje úkol, souhrn nutného experimentálního vybavení včetně chemikálií. Dále je uveden pracovní postup a pokyny pro vyhodnocení dané úlohy a vypracování protokolu.

Vydání těchto skript bylo podpořeno projektem Evropské unie „Inovace bakalářského studijního oboru Aplikovaná chemie“ CZ.1.07/2.2.00/15.0247.

LABORATORNÍ ŘÁD A BEZPEČNOST PRÁCE

Práce v laboratoři je spojena s použitím látek, přístrojů a aparatur, které jsou nebezpečné z hlediska požárního nebo z hlediska škodlivosti lidskému zdraví. Aby nedocházelo ke zbytečným úrazům ani k jinému poškození zdraví, je nutno dodržovat určitá bezpečnostní opatření, především laboratorní řád a dbát pokynů vedoucího cvičení.

Laboratorní řád a bezpečnost práce

S tímto laboratorním řádem musejí být povinně seznámeni posluchači v první hodině každého laboratorního cvičení a svým podpisem proškolení potvrdí.

- Do laboratoře si posluchači berou pouze věci nezbytné k práci, zejména přezůvky, pracovní plášť, návod k práci, psací potřeby a laboratorní deník. Posluchači jsou povinni přicházet do laboratoře včas a řádně připraveni tak, aby účelně využili času stanoveného pro dané cvičení.
- V rámci přípravy na laboratorní cvičení musí posluchači předem prostudovat pracovní návod dané úlohy, seznámit se s chemickým principem a praktickým provedením úlohy, provést předepsané výpočty, vyhledat předepsané konstanty a seznámit se s fyzikálními a chemickými vlastnostmi (včetně toxicity) používaných látek. Taktéž se seznámí s principem použitých přístrojů a způsobem jejich ovládní.
- K provedení práce smí posluchači přistoupit až po přezkoušení znalostí vedoucím cvičení. Zjistí-li vedoucí cvičení, že se posluchač na úlohu řádně nepřipravil, vykoná posluchač úlohu v náhradním termínu, nepřipravenost na úlohu je klasifikována jako neomluvená absence.
- V chemické laboratoři je studentům dovoleno pracovat pouze za dozoru vedoucího cvičení. Před zahájením cvičení nesmějí být prováděny žádné manipulace s přístroji a jiným materiálem připraveným pro cvičení.
- K vlastnímu provedení úlohy může posluchač přistoupit až po kontrole aparatury a přípravných výpočtů vedoucím cvičení.
- V laboratoři se mohou provádět jen práce uvedené v návodu k příslušné úloze za dodržení všech bezpečnostních a hygienických předpisů a pravidel. Jiné práce je dovoleno vykonávat jen na příkaz vedoucího laboratorního cvičení.

- Posluchači nesmí samovolně měnit předepsaný postup práce ani provádět práce, které nesouvisí se splněním zadané úlohy.
- Jednotliví posluchači používají ke své práci pouze vyhrazený prostor a pomůcky, které jim byly přiděleny, a také za ně osobně zodpovídají.
- Při práci jsou posluchači povinni důsledně udržovat pořádek a čistotu na pracovních stolech i v laboratoři.
- Před zahájením práce zkontrolují posluchači podle seznamu úplnost vybavení na stole, po skončení prací uvedou pracovní místo do původního stavu a předají je vedoucímu cvičení.
- Posluchači si vedou laboratorní deník (sešit, ne jednotlivé papíry, které se mohou lehce ztratit), do něhož během cvičení zapisují vlastní pozorování a výsledky měření. Po skončení práce předloží tyto záznamy vedoucímu cvičení ke kontrole, což vedoucí cvičení stvrdí podpisem.
- Vypracovaný laboratorní protokol o provedené úloze posluchač odevzdá vždy následující cvičení.
- V laboratoři je **zakázáno** jíst, pít a kouřit. Rovněž je **zakázáno** laboratorní nádobí používat k jídlu, pití a přechovávání potravin. Při přerušení nebo ukončení práce si vždy umýt ruce mýdlem pod tekoucí vodou.
- Při práci je nutno používat předepsané ochranné prostředky, zejména plášť, přezůvky, brýle a rukavice, popř. další, pokud to vyžaduje povaha úlohy.
- Nezkoušet žádnou chemikálii chutí, při zkoušce čichem opatrně přivanout výpary mávnutím ruky, nikdy nečichat přímo k nádobě.
- Tuhé chemikálie se nikdy nesmí brát nechráněnou rukou, ale nabírat vždy lžičkou.
- S žiravinami je nutno pracovat maximálně opatrně, používat předepsaných ochranných pomůcek. Při rozpouštění tuhého hydroxidu se musí sypat hydroxid po malých částech do vody za stálého míchání. Nikdy se nenalévá voda na hydroxid! Při ředění kyselin se nalévá kyselina po tyčince do vody za stálého míchání pomalu a opatrně, nikdy obráceně!
- Se skleněnými lahvemi s hořlavinami a žiravinami manipulovat se zvýšenou opatrností.
- Rozlije-li se žiravina nebo jedovatá látka, rychle se zneškodní předepsaným způsobem za použití ochranných pomůcek.

- Rozlitá kyselina dusičná se nesmí odstraňovat pilinami, hadry a jinými organickými látkami. Před odstraněním musí být zneutralizována a není-li to možné, tedy alespoň maximálně zředěna. Nádobí znečištěné organickými látkami se nesmí čistit kyselinou dusičnou (nebezpečí bouřlivých reakcí, vývin oxidů dusíku a samovznícení).
- Rozlité kyseliny, zejména koncentrované, je třeba nejprve opatrně zředit vodou, mírně zneutralizovat posypáním uhličitanem (např. soda, křída apod.) nebo politím zředěnými roztoky alkálií, následuje opatrné spláchnutí vodou nebo tekutinu necháme vsáknout do pilin, hadrů, apod. Při asanaci je nutno dbát na to, aby se nezamořila příliš velká plocha.
- Rozlitá kyselina chloristá se musí silně zředit vodou a k setření se použije nehořlavý materiál, nikdy ne bavlněný nebo celulózový. Materiál, kterým byla kyselina chloristá stírána, je nutno ihned proprat v tekoucí vodě.
- Kyselinu chloristou je nutno uchovávat v lahvích se zabroušeným hrdlem a odděleně od ostatních chemikálií, zejména organických. Lahve s kyselinou chloristou se nesmějí pokládat na dřevěné regály, nýbrž na skleněné, porcelánové, keramické nebo jiné ohnivzdorné a jiné neabsorbující podložky, aby se stopy po rozlití mohly snadno odstranit.
- Zásobní láhve s roztoky je nutno uchopovat nálepkou do dlaně, nikdy nedržíme láhve jen za hrdlo.
- Zátky lahví se nesmějí pokládat potřísněnou plochou na desku stolu (snížení možnosti poleptání, otravy a kontaminace).
- Žiravé a jedovaté látky se pipetují zásadně bezpečnostními pipetami, nikdy nepipetovat přímo ústy!
- Při manipulaci s látkami v otevřených nádobách (např. zkumavkách) je nutno udržovat ústí nádoby odvrácené od sebe i od ostatních pracovníků. Přesvědčit se o nezávadnosti použitého nádobí, zvláštní pozornost věnovat při zahřívání zkumavek nad plamenem. Zkumavka musí být suchá.
- Všechny manipulace s látkami dýmavými a dráždivými, jedy, koncentrovanými kyselinami a rozpouštědly provádíme jen v zapojené digestoři s dobrým odtahem. Při vývoji sirovodíku si počínat opatrně (prudce jedovatý).
- Při práci s etherem je nutno úzkostlivě dbát všech bezpečnostních opatření (možnost vznícení i od horkých součástí).

- Při práci s hořlavými kapalinami je nutno zabezpečit dobré odvětrání vzniklých par, které jsou zpravidla těžší vzduchu a mohou se vznítit i od vzdáleného plamene nebo i tepelného zdroje bez plamene.
- Při destilaci hořlavin použít pouze nutné množství a odstranit z blízkého okolí všechny hořlaviny. Dále je nutno neustále kontrolovat přítok vody do chladiče a užívat elektrického vaříče.
- Při rozliti hořlaviny zhasnout hořáky, elektrické spotřebiče vypnout v pojistkové skříně, intenzivně větrat. Je-li rozlité větší množství hořlavin, opustit laboratoř a použít hasicí přístroje.
- Zbytky jedů likvidovat dle pokynů vedoucího cvičení.
- Odpad hořlavin a olejů je zakázáno vylévat do kanalizace, k likvidaci se používá určených nádob.
- Louhy a kyseliny je možno vylévat do kanalizace po důkladném zředění vodou (1:30).
- Zbytky organických roztoků se slévají do zvláštních odpadních nádob (zvlášť rozpouštědla chlorovaná a zvlášť nechlorovaná).
- Pro práci se rtuťí platí oborová norma OPE 34 3689 (hladká pracovní plocha beze spár se zvýšeným okrajem, vaničky nebo misky mají být i pod přístrojem se rtuťí). Rtuť se nesmí splachovat do odpadu, ale musí být pečlivě sesbírána a její zbytky likvidovány zinkem nebo sírou.
- Při práci s alkalickými kovy je nutno vrátit zbytky zpět do lahve s petrolejem. Zbytky alkalických kovů se likvidují 96% ethanolem.
- Zachovávat opatrnost při běžném umývání laboratorního skla, přesvědčit se, zda nejsou v nádobkách zbytky alkalických kovů.
- Při práci se sklem je třeba chránit se před pořezáním použitím ochranných pomůcek (rukavice, jelenice, hadr apod.). Zasuňuje-li se skleněná trubička do zátky, nesmí být použito násilného tlaku, sklo se drží u otvoru, do něhož se vsunuje. Zasunutí se usnadní ovlhčením trubičky glycerinem. Střepey a jiné odpadky s ostrými hranami musí být odkládány do nádob zvlášť k tomu určených.
- Zacházet opatrně s tlakovými lahvemi na plyn, chránit je před prohřátím a pádem. Nepoužívat lahve s poškozeným uzávěrem a nedosti zřetelným označením obsahu.

Nemazat ventily ocelových lahví olejem, neotírat je mastným hadrem. Tlakové lahve musí být ukotveny.

- Všechny závady, které se vyskytnou během práce, je nutno okamžitě hlásit vedoucímu cvičení.
- Každé poranění, poleptání, požití látky, stejně jako bolesti hlavy, hučení v uších a jiné příznaky je **nezbytně nutné** neprodleně hlásit. Veškeré úrazy, poleptání, otravy apod. je nutno evidovat.
- Po skončení práce je nutno uzavřít vodu, vypnout elektrické spotřebiče a uvést pracovní místo do původního stavu. Je nutno uzavřít všechny nádoby s chemikáliemi a dát na své místo.
- Před opuštěním laboratoře po skončení práce je nutno předat pracovní místo vedoucímu cvičení.

Bezpečnost práce s elektrickým zařízením

- Při práci s elektrickými přístroji smí posluchač vykonávat pouze úkony uvedené v příslušném návodu ve skriptech. Jiné činnosti smí vykonávat pouze na přímý příkaz vedoucího cvičení.
- Osoby bez elektrotechnické kvalifikace mohou samostatně obsluhovat pouze jednoduchá elektrická zařízení provedená tak, že při obsluze nemohou přijít do styku s částmi pod napětím.
- Obsluhující se smí dotýkat jen částí, které jsou pro obsluhu určeny a musí k nim mít volný přístup.
- Obsluhující se nesmí dotýkat elektrických zařízení mokřýma rukama.
- Elektrické přístroje je nutno chránit před vlhnutím.
- Při požáru hasíme elektrická zařízení pod proudem nejčastěji sněhovým hasicím přístrojem, nikdy ne vodou.
- Změny na elektrickém zařízení (např. výměna žárovky, pojistek, přepojování vodičů, ...) provádíme vždy ve stavu bez napětí.

- Udržovat, opravovat a rozšiřovat instalace, které přivádějí elektrickou energii na pracovní místo až do přístroje, smějí jen osoby tím pověřené a s potřebnou kvalifikací.

První pomoc při úrazech

I při nejvyšší opatrnosti a dodržování všech bezpečnostních předpisů pro práci v chemické laboratoři dochází někdy k větším či menším úrazům. Základní pravidla poskytování první pomoci si proto musí osvojit každý pracovník laboratoře, aby mohl poskytnout pomoc nejen spolupracovníkům, ale i sobě. Laik smí ovšem poskytovat pouze první pomoc, která nenahrazuje lékařské ošetření. Při všech úrazech a zraněních je nutné postiženého po poskytnutí první pomoci ihned odeslat k lékařskému ošetření, lékaře přivolat nebo zajistit převoz do nejbližší nemocnice.

Nejčastější zranění a úrazy v chemických laboratořích je možno rozdělit do těchto skupin:

Popáleniny

Poleptání a popálení chemikáliemi

Poranění rozbitým sklem

Jiné náhlé příhody

Popáleniny

Při poskytování první pomoci je velmi důležité zabránit vstupu infekce do postižené tkáně, zvláště u popálenin rozsáhlých a hlubokých. Na popálená nebo opařená místa se nesmí sahat. Popáleniny **nikdy** neumýváme vodou. Jen malé popáleniny prvního stupně natřeme sterilní masťou na popáleniny. Popáleninu správně ošetříme tak, že zhotovíme sterilní krycí obvaz a dopravíme postiženého do nemocnice. Popálenému dáváme pít velké množství tekutin, zásadně však nealkoholické nápoje.

V případě vznícení oděvu je nutné energicky zabránit panice. Postižený nesmí pobíhat a hořící oděv nejlépe uhasíme pomocí přikrývek nebo oděvů. Když je uhašený oděv přilepen k pokožce, **nesmí se nikdy strhávat**, celá popálená část i s oděvem se zahalí do čistého prostěradla a zajistí se převoz postiženého do nemocnice.

Poleptání

Potrísnění kůže: Zasažené místo **ihned** oplachujeme silným proudem vody. Polité oděv i obuv se musí co nejrychleji odložit, a to ještě před použitím oplachů. Potrísněné vlasy či vousy musejí být odstraněny (ostříhány), aby nepůsobily dodatečnou kontaminaci.

Neutralizační roztoky:

→ při poleptání kyselinami - mýdlo, 2 % roztok NaHCO_3 (5 – 15 lžic NaHCO_3 do 1 litru vody).

→ při poleptání hydroxidy - 2 % roztok H_3BO_3 (nebo 5 lžic kyseliny citronové do 1 litru vody).

Při **zasažení očí** chemickými látkami je možno krystalky tuhé látky opatrně odstranit např. kapesníkem, stejně jako odsát velké kapky žíravín. Pak se musí otevřené (i násilím) oči ihned vyplachovat velkým množstvím vody, a to nejméně 10 – 15 minut. **Voda nesmí při proplachování téci z kontaminovaného oka do čistého!**

V žádném případě se při zasažení očí nepokoušíme o žádnou neutralizaci! Při zasažení očí zásadou lze po propláchnutí očí vodou oči **ještě vypláchnout borovou vodou** (z lékárny, nikoli vlastní příprava) nebo Ophtalem. **Při zasažení kyselinou vyplachujeme pouze vodou!** Na oči dáme po oplachu sterilní hydrofilní mul, zavážeme a postiženého v **každém případě odvezeme k lékaři nebo do nemocnice !**

Při **požití kyseliny** nebo **hydroxidu** ihned vypláchneme ústa vodou nebo raději mlékem. Ihned po požití (do 5 – 10 minut) dáme vypít 1/2 litru vlažné vody nebo mléka a pokusíme se drážděním v hrdle vyvolat zvracení. Později po požití se již o vyvolání zvracení nesnažíme, nedáváme také pít větší objemy tekutin, pouze na tlumení žízně postiženého podáváme minimální množství mléka.

Při požití kyselin – suspenze MgO v ledové vodě (asi 3 lžice do půl litru vody), nepodávat NaHCO_3 ! Při požití hydroxidů – co nejmenší množství 1% roztoku kyseliny octové (potravinářský ocet ředěný asi 1:10) nebo ledově ochlazené zředěné citrónové šťávy.

Poranění rozbitým sklem

Poranění očí: Oči převážeme sterilním obvazem s měkkou podložkou tak, abychom zabránili pohybu víčka a poraněného dopravíme k očnímu lékaři. **Laik nesmí do poraněného oka nikdy zasahovat!**

Řezné rány: ošetříme přiložením sterilního krycího obvazu. Na krvácející ránu nikdy nepřikládáme pouze vatou, ale nejprve ránu překryjeme sterilní gázou a teprve na gázu přiložíme vatou.

V případě poranění tepen a žil poraněnou končetinu zvedneme, aby nastalo co největší odkrvení poraněné oblasti a přímo na ránu přiložíme sterilní tlakový obvaz. Zcela výjimečně, při poranění velké tepny, je nutno použít pružného gumového škrtidla, které se přikládá směrem k srdci, tj. nad ránu. Stažení škrtidla musí být co nejmenší, ale takové, aby krvácení ustalo. Škrtidlo po čase uvolníme, aby tkáň neodumírala vlivem neprokrvení. **Postiženého je nutno ihned dopravit k ošetření do nemocnice!**

Jiné náhlé příhody

- **Mdloba**

Postiženého uložíme v klidu a uvolníme těsné části oděvu. Je-li v obličeji rudý, položíme ho hlavou mírně nahoru. Je-li v obličeji bledý, uložíme ho hlavou mírně dolů a nohy poněkud zvedneme (podložíme). Přikládáme studené obklady na čelo, případně postříkáme obličej a hrudník studenou vodou. Zajistíme dostatečný přívod čerstvého vzduchu, kontrolujeme dech a srdeční činnost a podle závažnosti voláme lékaře.

- **Úrazy elektrickým proudem**

Je-li někdo zasažen elektrickým proudem a dotýká se stále elektrického vedení, zajistíme ihned vypnutí proudu, tj. vypnutí pojistek, hlavního vypínače apod. Nelze-li proud vypnout, smíme se postiženého dotknout jen v tom případě, že jsme sami izolováni (dřevem, gumou apod.).

V případě, že postižený je v bezvědomí, zjistíme ihned, zda nedošlo k zástavě dýchání a krevního oběhu. Pokud ano, zahájíme ihned kříšení a okamžitě přivoláme lékařskou pomoc. **V kříšení nesmíme ustát do příchodu lékaře.**

Kříšení

- *Umělé dýchání z úst do úst* provedeme takto: Nejprve uvolníme dýchací cesty tzv. trojitým manévrem (záklon hlavy, otevření úst, předsunutí dolní čelisti) a odstraníme případné překážky v ústech či nose postiženého. Nezačne-li potom postižený sám dýchat, sevřeme rukou nosní dírky postiženého a zahájíme umělé dýchání čtyřmi rychlými vdechy během 10 sekund. Současně pohledem kontrolujeme zdvihání hrudníku, což je důkazem, že vdechnutý vzduch pronikl do plic. Pokud se místo hrudníku zvedá břicho, zakloníme více hlavu. Krk je možno při záklonu hlavy podložit např. smotaným ručníkem, košilí apod. Pak hmatáme tep na krční tepně. Je-li hmatný, pokračujeme v umělém dýchání rychlostí 1 vdech za 5 sekund. Není-li tep hmatný, je nutná kombinace umělého dýchání a nepřímé srdeční masáže.

- *Nepřímá srdeční masáž:* Postiženého uložíme na pevnou podložku. Levou ruku položíme prohnutou dlaní na hrudní kost postiženého tak, aby se prsty této ruky nedotýkaly žeber. Dolní okraj dlaně má být asi 3 cm nad hrotem mečovitého výběžku hrudní kosti. Pravou ruku položíme dlaní rovnoběžně na levou. Napneme lokty a nakloníme se nad postiženého, aby tlak směřoval přímo dolů. Hrudník stlačujeme pravidelně, plynule a nepřerušovaně s frekvencí asi 60 stlačení za minutu. Při správném stlačení mají ruce klesnout asi 3 cm pod normální polohu hrudníku.

- *Kombinace umělého dýchání a nepřímé srdeční masáže:*

a) dva záchránci: 1 vdech za 5 sekund

1 stlačení hrudníku za 1 sekundu

b) jeden záchránce: střídá se 15 stlačení hrudníku (celkem asi za 11 sekund) a 2 rychlé vdechy.

Tísňová telefonní čísla

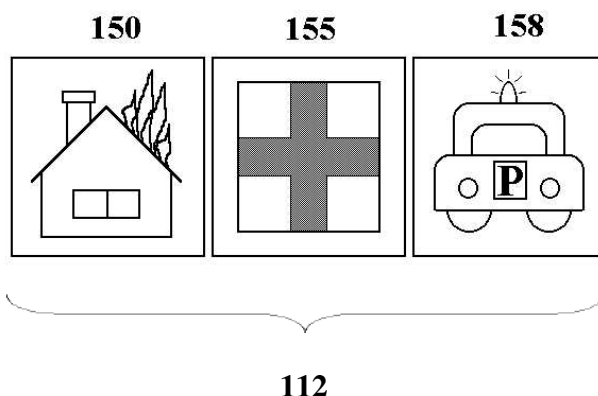
150 ... hasiči

155 ... lékař (sanitka)

158 ... policie

112 kombinovaná záchranná služba

(zadarmo i z mobilního telefonu)



Při požití toxické látky volat toxikologické informační středisko

224 919 293

PROTOKOL

Protokol o vykonané laboratorní úloze je základní dokument, kde student uvádí všechna naměřená a vypočtená data, tabulky a grafy. Hodnocení jeho obsahové i formální úrovně je součástí celkového hodnocení posluchače a slouží jako jeden z podkladů k udělení zápočtu. Kromě věcné správnosti musí laboratorní protokol splňovat formální požadavky kladené na odborný text, musí obsahovat (s výjimkou výslovně uvedených odkazů na převzatá, např. tabelární data) pouze výsledky získané při práci studenta v laboratoři. V případě nedostatků ve zpracování protokolu (nesprávné výsledky, nesprávný způsob jejich prezentace, jiné formální, ale i gramatické chyby) je protokol vrácen k přepracování. Opakované nedostatky ve zpracování protokolu mohou vést k tomu, že práce nebude uznána. Protokol student vypracovává samostatně na papír formátu A4 zásadně na počítači, včetně grafů a tabulek. Jednotlivé listy musí být spojeny kancelářskou sešívačkou. Vypracovaný protokol student odevzdá vždy v následujícím laboratorním cvičení.

Protokol musí mít následující náležitosti:

Jméno a příjmení, studijní obor

Datum (cvičení, ne vypracování protokolu!)

Název úlohy

Úkol: - uvedeme, co je předmětem (cílem) experimentální práce.

Pomůcky: - uvedeme použité přístroje a laboratorní sklo

Chemikálie: - obsahují seznam použitých chemikálií, včetně látkových koncentrací roztoků

Postup: - postup práce při provádění experimentu (vždy v minulém čase v 1.os.j.č. nebo v trpném rodě)

Chemické rovnice: - chemické rovnice včetně správného vyčíslení (např. pomocí Microsoft Equation, Editor rovnic, ChemSketch apod.)

- v programu Microsoft Word vybrat na horní liště *Vložit – Objekt – Editor rovnic resp. ACD/ChemSketch*

Aparatura: - náčrt aparatury (v případě použití), vše na počítači (v programu např. ChemSketch), nezapomeneme na název aparatury

Tabulka: - obsahuje naměřené, příp. vypočtené hodnoty,

- do prvního sloupce uvádíme nezávisle proměnné, do druhého sloupce závisle proměnné

- musí obsahovat záhlaví sloupců či řádků včetně symbolů uváděných veličin, jednotek (v hranatých závorkách) a koncentrací použitých roztoků

Graf:

- grafické znázornění naměřených, resp. vypočtených hodnot, vše na počítači (v programu např. Microsoft Excel)

- nezapomeneme na název grafu (např. Graf 1: závislost něčeho na něčem), osy s popisem (tj. symboly veličin a jednotky - jednotky uvádíme v hranaté závorce)

- v grafu izolované experimentální body (dostatečně velké cca 3-4 mm; nespojovat čarou), pokud je možné proložit body nějakou teoretickou závislostí (např. přímkou pomocí lineární regrese), tak musí být zobrazena i „spojnice trendu“ a rovnice závislosti

- zvolit vhodné měřítko osy (dle měřených veličin), ať není v grafu volná plocha a body se závislostí nejsou třeba jen na malé ploše o rozměrech např. 1 x 1 cm

Výpočet:

- pro jednu vybranou hodnotu (v tabulce vyznačen třeba řádek) uvedeme vzorový výpočet s dosazenými konkrétními hodnotami včetně celého postupu výpočtu

- nezapomenout uvést všechna ředění, která jste během práce prováděli, a počítat s nimi

- číselné hodnoty uvádět ve správném tvaru (např. místo 0,00012345 mol/l správně uvést $1,234 \cdot 10^{-4}$ mol/l – zde před číslem 10 uvádíme středovou tečku ne „obyčejnou tečku za větou“)

Závěr:

- zde uvedeme shrnutí toho, co bylo předmětem úlohy, konečný výsledek nebo výsledky, srovnání získaných veličin s tabelovanými nebo očekávanými hodnotami včetně uvedení rel. chyby v %, vysvětlení případných příčin odchylek od očekávaných hodnot

Příprava mangananu draselného K_2MnO_4

Úkol: Připravte manganan draselný a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 10 g manganistanu draselného
40% roztok hydroxidu draselného
pár krystalků modré skalice (pentahydrát síranu měďnatého)

Pomůcky: Erlenmayerova baňka 250 ml
kádinka 150 ml
váženka
tyčinka
frita
vaříč

Chemická reakce: $4 KMnO_4 + 4 KOH \rightarrow 4 K_2MnO_4 + 2 H_2O + O_2$

Postup:

10 g manganistanu draselného zahříváme k varu s desetinásobným nadbytkem 40% roztoku hydroxidu draselného v Erlenmayerově baňce tak dlouho, až roztok zezelená. Reakci lze značně urychlit přidávkem malého krystalku modré skalice jako katalyzátoru. Vodu vypařenou během zahřívání je třeba doplňovat. Po skončení reakce směs ochladíme ledem, čímž dojde k vyloučení tmavých krystalků, které odsajeme na fritě a vysušíme v exsikátoru.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

Manganan draselný tvoří temně zelené až černé krystalky (v dopadajícím světle červenofialové), rozpustné v roztocích alkalických hydroxidů na zelený roztok. Vodou nebo kyselinami se okamžitě disproportionuje na oxid manganičitý a manganistan draselný. Vhodíme několik krystalků do zkumavky s vodou a pozorujeme difúzní stopy, které přechází od zelené do fialové díky zpětné oxidaci na manganistan (děj se někdy označuje jako tzv. *chameleon*).

Vyhodnocení:

Z reakce vypočtete teoretický výtěžek a výtěžnost reakce.

Příprava acetylacetonátu nikelnatého $Ni(acac)_2 \cdot 2 H_2O$

Úkol: Připravte acetylacetonát nikelnatý a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 15 g hexahydrátu chloridu nikelnatého
12 ml acetylacetonu
25 ml ethanolu
17 g octanu sodného

Pomůcky: Erlenmayerova baňka 250 ml, příp. 100 ml
kádinka 250 ml, příp. 100 a 50 ml
odměrný válec 50 ml
frita č. 3
nálevka
pipety
vaříč

Chemická reakce: $NiCl_2 + 2Hacac + 2H_2O \rightarrow Ni(acac)_2 \cdot 2H_2O + 2HCl$

Pozn. acetylaceton $\rightarrow Hacac \Rightarrow CH_3COCH_2COCH_3$

Postup:

K roztoku 15 g $NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ v 50 ml destilované vody přidáváme za míchání 12 ml acetylacetonu v 25 ml ethanolu. K výsledné směsi pak přidáváme roztok 17 g octanu sodného ve 40 ml destilované vody. Po krátkém povaření a následném ochlazení v lednici vyloučené krystalky odsajeme, promyjeme destilovanou vodou a vysušíme.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

Acetylacetonát nikelnatý tvoří modrozelené jehličkovité krystalky, nerozpustné ve vodě, alkoholu, rozpustné v benzenu, acetonu. Bezvodou sůl (smaragdově zelená) lze získat rekrystalizací z horkého toluenu.

Vyhodnocení:

Z reakcí a navážek vypočtete výtěžnost reakce.

Příprava acetylacetonátu kobaltitého $Co(acac)_3$

Úkol: Připravte acetylacetonát kobaltitý a stanovte procentuální výtěžek reakce. Nezapomeňte si nejprve z $Co(NO_3)_2$ a Na_2CO_3 připravit $CoCO_3$. Potřebné množství Na_2CO_3 si vypočítejte.

Chemikálie: 2,5 g dusičnanu kobaltnatého
20 ml acetylacetonu
30 ml 10% peroxidu vodíku
uhličitan sodný

Pomůcky: Erlenmayerova baňka 250 ml
kádinka 250 ml
odměrný válec 50 ml
frita č. 3
nálevka
pipetky
váženky
vaříč

Chemická reakce: $2CoCO_3 + 6Hacac + H_2O_2 \rightarrow 2Co(acac)_3 + 4H_2O + 2CO_2$

Pozn. acetylaceton \rightarrow Hacac \Rightarrow $CH_3COCH_2COCH_3$

Acetylacetonát kobaltitý se připravuje oxidací uhličitanu kobaltnatého za přítomnosti acetylacetonu.

Postup:

2,5 g dusičnanu kobaltnatého spolu s odpovídajícím množstvím uhličitanu sodného rozpustíme v trošce destilované vody, přidáme 20 ml acetylacetonu (Hacac) a zahříváme v malé Erlenmayerově baňce na teplotu 95 °C. Za míchání přikapáváme pomalu 30 ml 10% peroxidu vodíku (pozor na vzkypění směsi, nutno přidávat po kapkách po dobu cca 45 minut!). Kapalina dostane zelenou barvu a větší část produktu se vyloučí po ochlazení ledem jako zelené krystaly. Produkt odsajeme na fritě a sušíme při 100 °C.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

Acetylacetonát kobaltitý tvoří tmavě zelené krystaly rozpustné v organických rozpouštědlech, nerozpustné ve vodě. Hustota $\rho = 1,43 \text{ g/cm}^3$; t.t. $213 \text{ }^\circ\text{C}$.

Vyhodnocení:

Z reakcí a navážek vypočtete výtěžnost reakce.

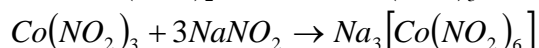
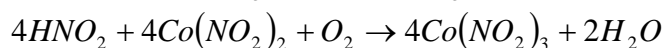
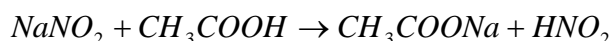
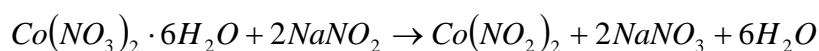
Příprava hexanitritokobaltitanu sodného $Na_3[Co(NO_2)_6]$

Úkol: Připravte hexanitritokobaltitan sodný a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 15 g dusitanu sodného
5 g hexahydrátu dusičnanu kobaltnatého
2,5 ml ledové kyseliny octové
100 ml ethanolu

Pomůcky: kádinka 100 ml
baňka 100 (250) ml
odměrný válec 50 ml
pipeta 5 ml
zátky, skleněné trubičky
váženka
tyčinka
frita
vaříč

Chemické reakce:



Postup:

V 15 ml horké destilované vody rozpustíme 15 g dusitanu sodného a po ochlazení vzniklého roztoku na 50 °C vsypeme do něj 5 g krystalického dusičnanu kobaltnatého. Po rozpuštění dusičnanu kobaltnatého přidáme za stálého míchání reakční směsi po malých dávkách 2,5 ml ledové kyseliny octové. Kapalinu pak vlijeme do baňky, kterou uzavřeme dvakrát vrtanou zátkou. Jedním otvorem zátky prochází skleněná trubička, jejíž spodní konec sahá pod hladinu kapaliny, v druhém otvoru je zasazena zahnutá trubička, končící těsně pod zátkou, která je druhým koncem napojena na vodní vývěvu. Po zapojení vodní vývěvy prosáváme reakční směsí asi hodinu vzduch. Pak roztok zfiltrujeme od nepatrné žluté sraženiny a k čistému filtrátu přidáme 30 ml ethanolu. Směs necháme za občasného protřepávání asi 1-2 h stát. Pak vyloučené krystaly hexanitritokobaltitanu sodného odsajeme a promyjeme třikrát ethanolem.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

Hexanitritokobaltitan sodný tvoří žlutý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě. Poměrně špatně se rozpouští v alkoholu a v etheru. Jeho vodného roztoku se používá v analytické chemii k důkazu draselných iontů (Fisherova sůl).

Vyhodnocení:

Z reakce vypočtete teoretický výtěžek a výtěžnost reakce.

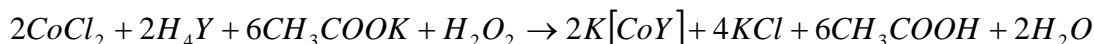
Příprava komplexonátu kobaltito-draselného $K[CoY] \cdot 2H_2O$

Úkol: Připravte komplexonát kobaltito-draselný a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 8 g hexahydrátu chloridu kobaltnatého
20 g octanu draselného
10 g kyseliny ethylendiamintetraoctové (Komplexon II)
30 ml 3% peroxidu vodíku
200 ml ethanolu

Pomůcky: kádinka 100 ml, 200 ml, 800 ml
odměrný válec 50 ml, 100 ml
váženka
tyčinka
frita
vaříč

Chemická reakce:



Postup:

8 g hexahydrátu chloridu kobaltnatého, 20 g octanu draselného a 10 g kyseliny ethylendiamintetraoctové (Komplexon II) suspendujeme v 60 ml destilované vody a zahřejeme téměř k varu. Po kapkách přidáváme 30 ml 3% peroxidu vodíku. Vzniklý roztok ochladíme a za míchání přidáme 60 ml ethanolu. Stáním v lednici se vyloučí surový produkt, který odsajeme, rozpustíme ve 30 ml teplé destilované vody a přidáme 25 ml ethanolu. Pozvolným ochlazováním se vyloučí dobře vyvinuté krystalky čisté komplexní sloučeniny, které odsajeme, promyjeme 50% ethanolom, ethanolom a etherem a vysušíme za laboratorní teploty.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

Temně fialové krystalky, výborně rozpustné ve vodě. Anion $[CoY]^-$ patří k nejstálějším komplexním částicím.

Vyhodnocení:

Z reakce vypočtete teoretický výtěžek a výtěžnost reakce.

Příprava thiosíranu sodného $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$

Úkol: Připravte thiosíran sodný a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 16 g heptahydrátu siřičitanu sodného
2 g síry

Pomůcky: baňka 250 ml
odměrný válec 50 ml
kádinka 150 ml, 600 ml
Liebigův chladič, hadice
váženka
tyčinka
frita
vaříč

Chemická reakce: $Na_2SO_3 + S \rightarrow Na_2S_2O_3$

Postup:

16 g $Na_2SO_3 \cdot 7 H_2O$ rozpustíme v baňce v 32,5 ml destilované vody a k získanému roztoku přidáme 2 g jemně rozetřené roubíkové síry. Baňku zazátkujeme zátkou s otvorem, do něhož zasuneme zpětný Liebigův chladič, kterým necháme cirkulovat vodu. Obsah baňky zahříváme tak dlouho, až se prakticky všechna síra v roztoku siřičitanu rozpustí, což nastane asi po dvou hodinách varu. Po skončení reakci obsah baňky zfiltrujeme do kádinky, filtrát zahustíme na vodní lázni a necháme krystalovat. Matečné louhy po první krystalizaci silně zahustíme a po naočkování krystalkem pentahydrátu thiosíranu sodného (vylučování krystalků bývá bržděno tím, že $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$ snadno vytváří přesycené roztoky), necháme v klidu krystalovat. Oba získané produkty po oddělení matečného louhu spojíme a rekrystalizaci vyčistíme. Získaný preparát vysušíme mezi listy filtračního papíru.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

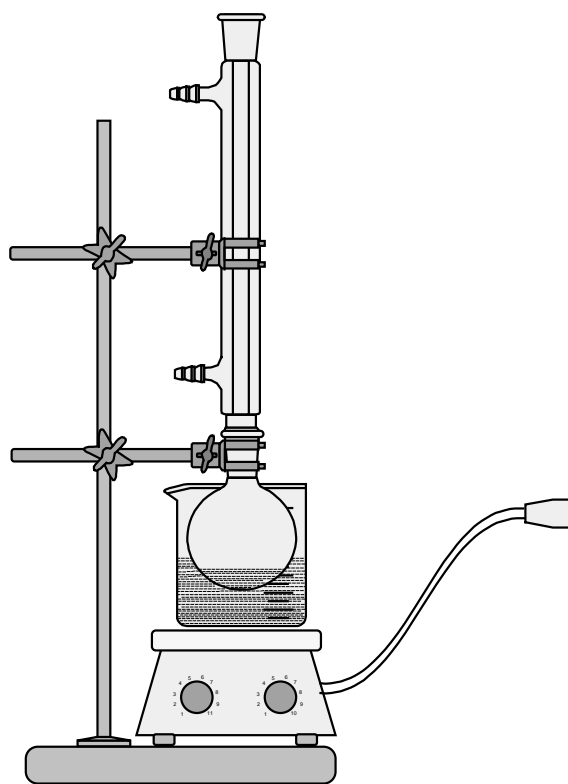
Vlastnosti:

$Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$ tvoří bezbarvé, na vzduchu stálé a při 50 °C tající krystalky. Ve vodě je snadno rozpustný. Jeho vodné roztoky nejsou ve styku se vzduchem stálé. Vlivem CO_2 se z nich uvolňuje síra. Jodem se roztoky thiosíranu oxidují na tetrathionany, chlorem (silnější oxidace) až na sírany.

Vyhodnocení:

Z reakce vypočtete teoretický výtěžek a výtěžnost reakce.

Aparatura 1: Destilační aparatura se zpětným chladičem



Příprava uhličitanu sodného Na₂CO₃

Úkol: Připravte uhličitan sodný a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 30 g chloridu sodného

120 ml amoniaku

Pomůcky: baňka 250 ml, 1000 ml

odměrný válec 150 ml

nálevka

zátky, trubičky, hadičky

promývačka

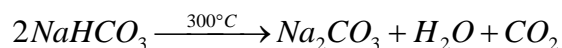
frita

váženka

porcelánová miska

tlaková lahev s CO₂

Chemická reakce: $NH_4OH + NaCl + CO_2 \rightarrow NaHCO_3 + NH_4Cl$



Postup:

Do baňky o obsahu 250 ml odměříme 120 ml konc. roztoku amoniaku, přidáme 30 g chloridu sodného a třepeme tak dlouho, až se veškerá sůl rozpustí. Potom roztok zfiltrujeme do litrové baňky, kterou uzavřeme dobře těsnící zátkou, již prochází skleněná trubička až ke dnu baňky. Do roztoku zavádíme přes promývačku proud čistého CO₂ za neustálého protřepávání. Občas vypustíme nahromaděný plyn nadzvednutím korkové zátky. Až roztok přestane absorbovat CO₂ (přes promývačku nejde plyn), ochladíme reakční směs v lednici a vyloučené krystalky NaHCO₃ ostře odsajeme, promyjeme asi 10 ml ledové vody a vysušíme mezi listy filtračního papíru na vzduchu. Vyžiháním na porcelánové misce přejde NaHCO₃ v bezvodý normální Na₂CO₃.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

Hydrogenuhličitan sodný je bílý prášek, omezeně rozpustný ve studené vodě. Je znám jako jedlá soda. Normální uhličitan sodný – soda – je dobře rozpustný ve vodě, roztoky v důsledku hydrolyzy reagují silně zásaditě. Má bohaté použití v průmyslu skla, mýdel, barvířství atd.

Vyhodnocení:

Z reakce vypočtete teoretický výtěžek a výtěžnost reakce.

Oranž II

(sodná sůl 4-[(2-hydroxy-1-naftyl)azo]-benzensulfonové kyseliny)

Primární aromatické aminy a aminoderiváty lze kyselinou dusitou diazotovat na diazoniové soli, které pak reagují s fenoly a aromatickými aminy za vzniku azosloučenin, obvykle intenzivně zbarvených (azobarviva). Reakci je též možno použít k důkazu přítomnosti NO_2^- iontů v roztoku.

Nejprve je nutné připravit diazoniovou sůl, jež vzniká v kyselém prostředí za přítomnosti dusitanů. Vzhledem k její nestabilitě se musí pracovat za snížené teploty. Při této reakci (*kopulaci*) se spojí dusík diazokupiny s uhlíkem v poloze *para* (nebo, je-li obsazena, v poloze *ortho*) pasivní komponenty (fenolu, aminu). U naftalenových derivátů probíhá kopulace do polohy 1 (u α -derivátů) a do polohy 4 (u β -derivátů). Kopulaci provádíme obvykle v prostředí alkalickém s fenoly a v kyselém s aminy.

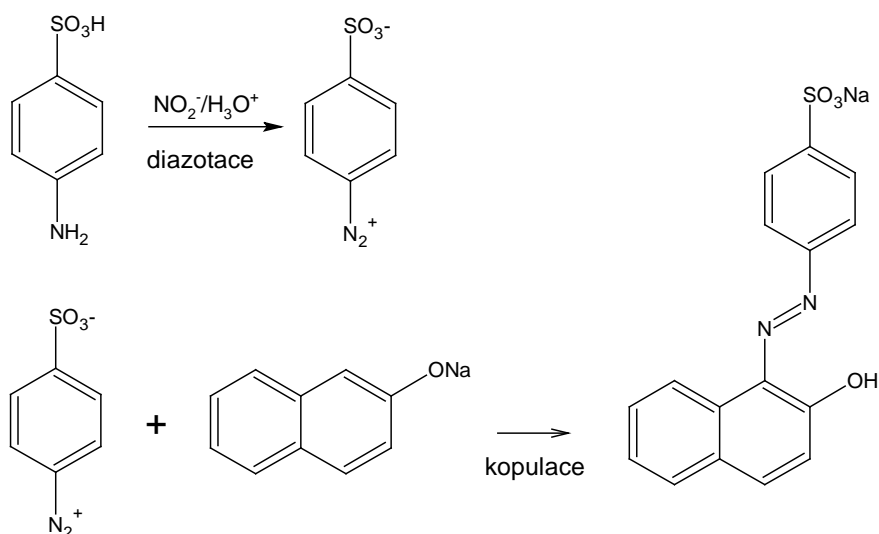
Úkol: Připravte sloučeninu Oranž II.

Chemikálie: 4,8 g (27,7 mmol) 4-aminobenzensulfonové kyseliny
2,95 g (27,7 mmol) uhličitanu sodného
1,9 g (27,7 mmol) dusitanu sodného
3,6 g (24,6 mmol) 2-naftolu
20 ml 10% hydroxidu sodného
10 g (0,17 mol) chloridu sodného
kyselina chlorovodíková

Pomůcky: váženky
kádinky 50, 100, 250, 400 ml (2 ks)
Erlenmayerova baňka 250 ml
odměrný válec 50 ml, 5 ml
frita č. 3
hrnec na led
vaříč
skleněná tyčinka, špachtle

Oranž II získáme kopulací diazotované kyseliny sulfanilové s alkalickým roztokem β -naftolu:

Chemická reakce:



Postup:

4,8 g kyseliny 4-aminobenzensulfonové a 2,95 g uhličitanu sodného rozpustíme v 50 ml destilované vody za varu. Po ochlazení na laboratorní teplotu přidáme 1,9 g dusitanu sodného. Mícháme do rozpuštění. Poté vzniklou směs vlijeme na 25 g drceného ledu a 5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové. Vyloučí se bílá krystalická látka. Suspenzi takto připravené diazoniové soli přidáme do roztoku 3,6 g 2-naftolu ve 20 ml 10% hydroxidu sodného, mícháme 5-10 minut a zahřejeme do rozpuštění. Do teplého roztoku přidáme 10 g chloridu sodného. Ochlazením se vyloučí Oranž II, kterou odsajeme a promyjeme nasyceným roztokem chloridu sodného. Takto vzniklý produkt obsahuje asi 20% NaCl.

Přečištění: Surový produkt rozpustíme v minimálním množství destilované vody za varu, za horka zfiltrujeme a necháme zchladnout na 80°C . Poté přidáme 100 ml ethanolu a vychladíme v ledové lázni. Vyloučené krystalky odsajeme a vysušíme na vzduchu. Výtěžek bývá $\sim 7,5$ g (87%).

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vyhodnocení:

Z navážky spočítejte teoretický výtěžek, srovnajte se skutečným výtěžkem, jaká je výtěžnost reakce?

Vlastnosti:

Oranž II ($M_r = 350,29$), sodná sůl kyseliny β -naftoazobenzensulfonové, jasně červené barvivo. Krystalovat ji lze z vody, rozpustnost při 20°C je asi 2 g ve 100 ml vody.

Methylčerveň

(kyselina 2-[4-(N,N-dimethylaminofenyl)azo]-benzoová

Úkol: Připravte methylčerveň a stanovte procentuální výtěžek reakce.

Chemikálie: 6,5g (0,05 mol) kyseliny antranilové
3,6 g (0,05 mol) dusitanu sodného
8,5 g (8,9 ml, 0,07 mol) N,N-dimethylanilinu
6,8 g (0,083 mol) octanu sodného
hydroxid sodný
10 ml 10 % roztoku kyseliny octové
90 ml methanolu
toluen
led
12,5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové

Pomůcky: kádinky 50, 100, 250, 400 ml (2 ks)

Erlenmayerova baňka 250 ml

odměrný válec 50 ml, 10 ml

váženky

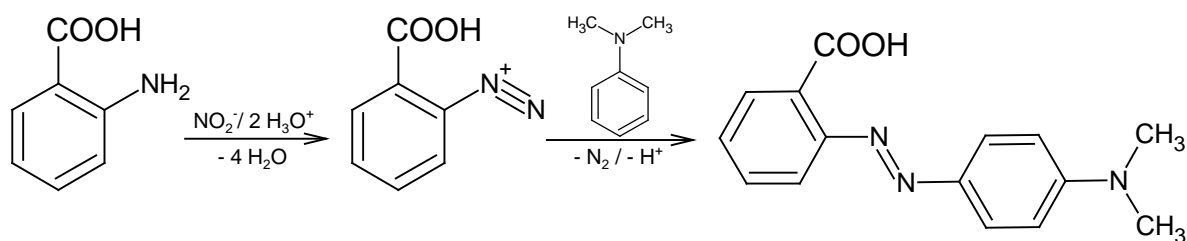
frita č. 3

hrnec na led

vaříč

skleněná tyčinka, špachtle

Chemická reakce:



Postup:

V baňce rozpustíme 6,5 g kyseliny anthranilové v 5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové a 15 ml vody za současného zahřívání. Případné nečistoty odfiltrujeme. Roztok přelijeme do 250 ml baňky ponořené do ledové lázně a za současného míchání přidáme 25 g drceného ledu

a 7,5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové. Po zchlazení roztoku pod 3°C pomalu přidáváme studený roztok 3,6 g dusitanu sodného v 7 ml destilované vody až do ukončení reakce, což sledujeme jodidoškrobovým papírkem. Ke vzniklému roztoku diazoniové soli přidáme rychle 8,5 g čistého N,N-dimethylanilinu. Mícháme ještě 10-15 minut při teplotě do 5 °C.

V kádince rozpustíme 6,8 g krystalického octanu sodného v 10 ml destilované vody, 5 ml tohoto roztoku přidáme k reakční směsi a necháme ji stát v ledové lázni 60 minut za občasného míchání. Poté za současného míchání přidáme zbytek roztoku octanu sodného k chlazené směsi a za občasného míchání necháme stát dalších 30 minut. Přidáváme právě potřebné množství N,N-dimethylanilinu, aby směs měla zřetelný pach dimethylanilinu (obvykle potřebujeme 5 ml 20 % roztoku) a necháme stát za laboratorní teploty 1 hodinu (tvorba azosloučenin je velmi pomalá reakce, která se však urychlí zvýšením pH roztoku). Pevnou látku odsajeme, promyjeme postupně malým množstvím destilované vody, 10 ml 10% kyseliny octové (na odstranění dimethylanilinu) a nakonec destilovanou vodou. Pevnou sloučeninu suspendujeme v 50 ml metanolu. Směs zahříváme za neustálého míchání 10 minut pod zpětným chladičem na vodní lázni, ochladíme v ledové lázni a odfiltrujeme. Promýváme 40 ml studeného methanolu a vysušíme na vzduchu. Produkt překrystalujeme z toluenu.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

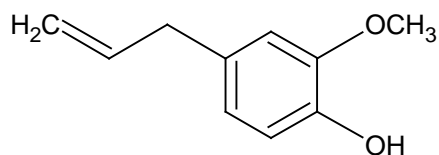
Methylčerven (M_r = 269,3). Barevná změna z červené na žlutou nastává v rozmezí pH 4,2-6,3. T.t. = 170 – 175 °C

Vyhodnocení:

Z reakce vypočtete teoretický výtěžek a výtěžnost reakce.

Izolace eugenolu z hřebíčku vonného

[2-metoxy-4-(2-propenyl)-fenol, 4-allyl-2-methoxyfenol]



Úkol: Proved'te izolaci eugenolu z hřebíčku vonného

Chemikálie: 25 g hřebíčku vonného
45 ml (34,0 g) dichlormethanu
hydroxid sodný
síran sodný

Pomůcky: baňka 250 ml
aparatura s vodní parou
dělicí nálevka 250 ml
kádinka 150, 250, 800 ml
Erlenmayerova baňka 250 ml
porcelánová miska
odměrný válec
vaříč

Postup:

25 g celého hřebíčku přidáme do 100 ml teplé destilované vody (40 °C) v 250 ml baňce s kulatým dnem a připojíme aparaturu pro destilaci s vodní parou. Baňku zahříváme a současně přivádíme páru z vyvíječe. Vydestilujeme 60 ml roztoku, přidáme k destilované směsi dalších 60 ml destilované vody a vydestilujeme dalších 60 ml roztoku.

120 ml destilátu vneseme do 250 ml dělicí nálevky a extrahujeme třikrát 15 ml dichlormethanu. Extrakt protřepáváme asi dvě minuty a poté dichlormethan dekantujeme.

Extrahujeme zbývající dichlormethanový roztok třikrát 10 ml 5% vodného roztoku NaOH. Dichlormethanovou vrstvu vysušíme síranem sodným, dekantujeme do odvážené Erlenmayerovy baňky a rozpouštědlo odpaříme. Odparek obsahuje acetyleugenol a další neutrální složky těkající s vodní parou.

Vodnou vrstvu okyselíme konc. kyselinou chlorovodíkovou a eugenol extrahujeme třikrát 8 ml dichlormethanu. Spojené extrakty vysušíme síranem sodným, dekantujeme, přeneseme do zvážené Erlenmayerovy baňky a odpaříme. Z množství odparku spočítáme výtěžek eugenolu.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vlastnosti:

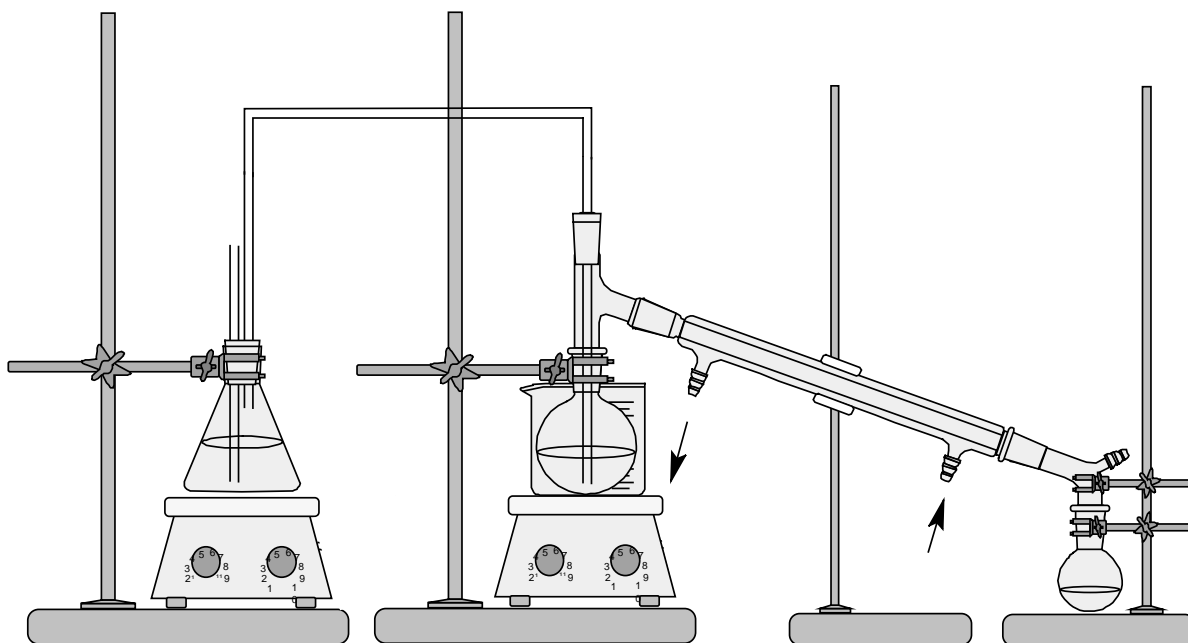
Eugenol je bezbarvá až bledě žlutá olejovitá kapalina extrahovaná z některých esenciálních olejů, zvláště z hřebíčku, muškátového oříšku, skořice a bobkového listu. Je částečně rozpustný ve vodě a dobře rozpustný v organických rozpouštědlech. Má příjemnou, kořenitou hřebíčkovou vůni.

Eugenol ($M_r = 164,2$). T.v. = 255 °C

Vyhodnocení:

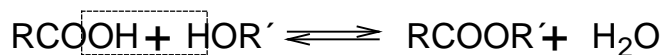
Z reakce vypočtete teoretický výtěžek.

Aparatura 2: Destilační aparatura pro destilaci s vodní parou



Esterifikace

Estery jsou funkční deriváty karboxylových kyselin. Připravují se reakcí karboxylových kyselin s alkoholy nebo s fenoly.



K přípravě esterů je vhodné použít vyšší alifatické kyseliny nebo aromatické kyseliny, aby vznikly produkty s charakteristickými vůněmi.

Při esterifikaci za určitou dobu nastane rovnovážný dynamický stav. Reakční rychlost je v obou směrech stejná. Aby reakce probíhala ve prospěch esterů, musí se porušit rovnovážný stav např. tak, že se vzniklý ester nebo voda odstraňuje. Má-li ester nižší bod varu, pak se prostě oddestiluje. Pro urychlení reakce se přidávají katalyzátory, např. konc. kyselina sírová, nebo se do směsi alkoholu a kyseliny zavádí chlorovodík. Přidá-li se koncentrovaná kyselina sírová ve větším množství, převezme ještě další úkol, totiž váže vznikající vodu, a tím se průběh reakce ve prospěch esterů značně podpoří.

Má-li ester vysoký bod varu, lze vodu odstranit jako azeotropní směs.

Při esterifikaci se nejčastěji postupuje tak, že se v baňce opatřené teploměrem a zpětným, popř. sestupným chladičem zahřívá příslušná směs alkoholu a organické kyseliny s koncentrovanou kyselinou sírovou.

Tuhé kyseliny a alkoholy se esterifikují tak, že se rozpustí v indiferentním rozpouštědle (tj. takovém, které nereaguje ani s kyselinou, ani s alkoholem) a zavádí se suchý chlorovodík. Místo karboxylové kyseliny lze použít její sůl, anhydrid, halogenid, amid apod.

Tabulka 1: Přehled přípravy některých esterů s jejich charakteristickými vůněmi.

Alkohol	Kyselina	Ester	Vůně
ethanol	k. octová	ethylacetát	po ovoci
1-butanol	k. octová	butylacetát	po ovoci (ananas) *
1-pentanol	k. octová	pentylacetát	po ovoci
amylalkohol (pentanol)	k. octová	amylacetát	po ovoci - hruškách
ethanol	k. máselná	ethylbutanoát	po broskvích (ananas) *
methanol	k. máselná	methylbutanoát	po ananasu
ethanol	k. benzoová	ethylbenzoát	po mátě (karafiátech) *
1-pentanol	k. benzoová	pentylbenzoát	po ambře
1-pentanol	k. salicylová	pentylsalicylát	po orchidejích
1-butanol	k. propionová	butylpropionát	po rumu
methanol	k. salicylová	methylsalicylát	po karamelu

* v různých lit. pramenech uváděno různě

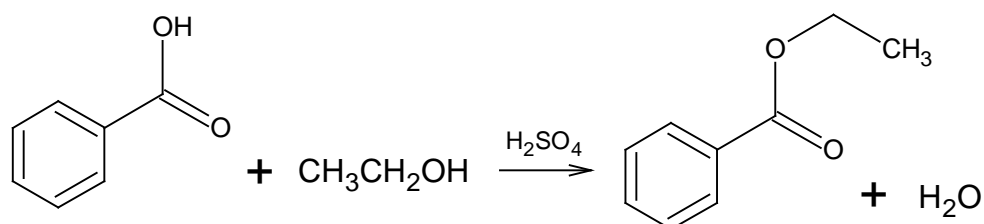
Příprava benzoanu ethylnatého (ethylbenzoát)

Úkol: Připravte benzoan ethylnatý (ethylbenzoát)

Chemikálie: 1 g kyseliny benzoové
5 ml ethanolu
1 ml konc. kyseliny sírové
chlorid sodný

Pomůcky: baňka s kulatým dnem 100 ml
kádinka 150, 600 ml (hrnec na vodní lázeň)
dělicí nálevka 100 ml
odměrný válec 10 ml, 5 ml
vaříč
Liebigův chladič, hadice
stojan, držáky
váženka

Chemická reakce:



Postup:

Do baňky nasypeme 1 g kyseliny benzoové, přilijeme 5 ml ethanolu a přidáme po kapkách asi 1 ml konc. kyseliny sírové. Obličej chráníme štítem! Baňku uzavřeme zátkou se zpětným chladičem a 10 min. zahříváme na vodní lázni. Potom obsah baňky opatrně nalijeme do kádinky se zahřátým nasyceným roztokem chloridu sodného a za horka oddělíme v dělicí nálevce. Takto získáme benzoan ethylnatý, který voní po mátě.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vyhodnocení:

Z navážky spočtete teoretický výtěžek, srovnajte se skutečným výtěžkem, jaká je výtěžnost reakce?

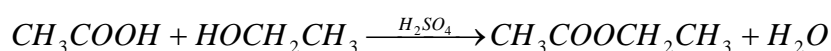
Příprava ethylesteru kyseliny octové (ethylacetát)

Úkol: Připravte ethylester kyseliny octové (ethylacetát)

Chemikálie: 6 ml kyseliny octové
5 ml ethanolu
7 ml konc. kyseliny sírové
chlorid sodný

Pomůcky: odměrný válec 10 ml
Kádinka 150, 600 ml (hrnec na vodní lázeň)
držáky
varné kamínky
Liebigův chladič
sestupný chladič
alonž
Claisenův nástavec
vaříč

Chemická rovnice:



Postup:

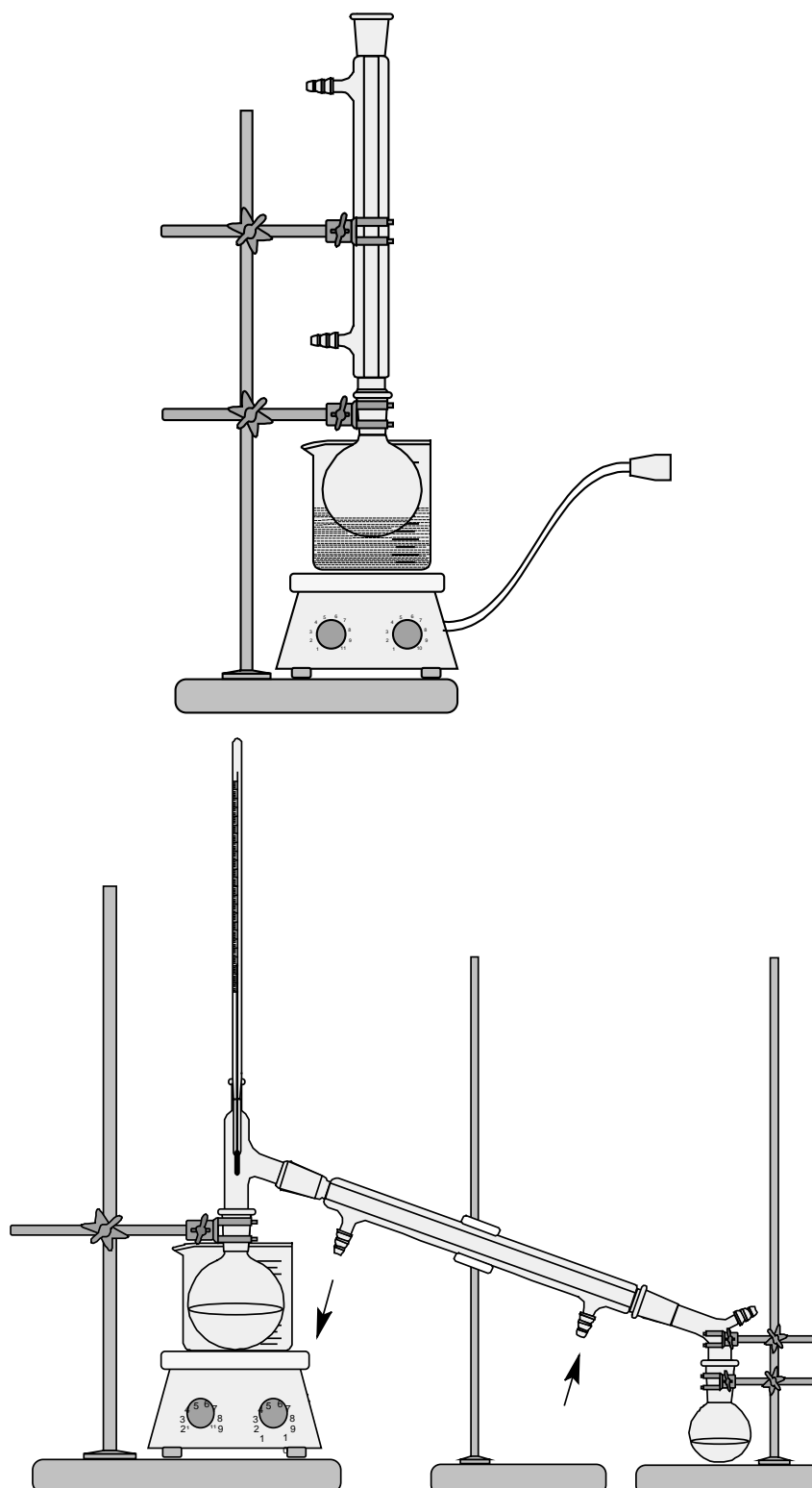
Do malé baňky k 6 ml kyseliny octové a 5 ml ethanolu opatrně, za chlazení baňky proudem vody, přiléváme 7 ml konc. kyseliny sírové. Obličej chráníme štítem! Baňku uzavřeme zátkou, kterou prochází trubice vzdušného chladiče a opatrně zahříváme reakční směs asi 7-10 min. Potom zaměníme zpětný chladič za sestupný a oddestilujeme asi 5 ml kapaliny, přisypeme půl lžičky chloridu sodného a tak vysolíme ethylester kyseliny octové, který vytvoří oddělenou vrstvu nemísitelnou s vodou, charakteristické vůně.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vyhodnocení:

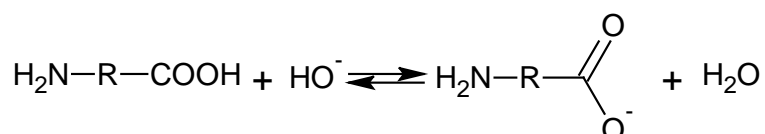
Z navážky spočtete teoretický výtěžek, srovnajte se skutečným výtěžkem, jaká je výtěžnost reakce?

Aparatura 3: Destilační aparatura se zpětným chladičem
Destilační aparatura se sestupným chladičem

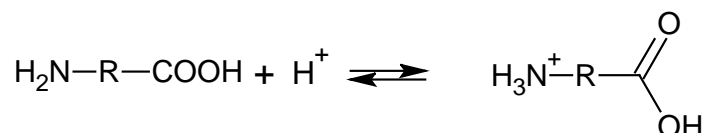


Dělení bílkovin pomocí diskontinuální elektroforézy v polyakrylamidovém gelu (PAGE)

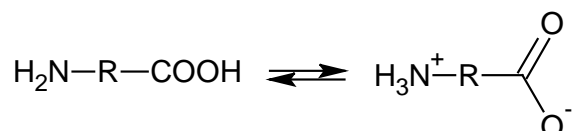
Při elektroforéze dochází k pohybu (migraci) iontů v elektrickém poli. Elektroforetické metody se tedy používají k separaci látek nesoucí elektrický náboj (ionty). Nositeli elektrického náboje jsou mimo jiné amfolyty (např. aminokyseliny). Ty získávají náboj (kladný nebo záporný) v důsledku jejich vnitřní disociace. Náboj aminokyselin ovlivňuje hodnota pH. Při vyšším pH dochází k ionizaci karboxylových skupin a aminokyseliny získávají záporný náboj:



Při nižším pH ionizují naopak zásadité skupiny a náboj molekuly je pak kladný.



V určité oblasti pH dochází u těchto látek k disociaci stejného počtu jak kyselých tak i zásaditých skupin a celkový náboj molekuly (zwitteriontu) je pak nulový.



Tato hodnota pH se nazývá *izoelektrický bod pI* a je charakteristickou konstantou pro každý amfolyt. Aminokyseliny jsou stavebními jednotkami bílkovin, a proto se bílkoviny chovají jako amfolyty. Bílkoviny jsou makromolekuly koloidní povahy a elektroforéza se často využívá k dělení těchto látek.

Příčinou pohybu koloidních částic v elektrickém poli je *elektrokinetický potenciál* (ζ -potenciál, čti zeta potenciál). Jde o potenciálový rozdíl mezi pohyblivou a fixovanou částí iontové atmosféry, tj. mezi difúzně rozptýlenými ionty v roztoku a tenkou vrstvou protiiontů, poutanou k povrchu částice.

Pohyb elektricky nabitých částic závisí na jejich velikosti, tvaru, velikosti jejich náboje a na intenzitě vloženého elektrického pole. Pohyb částice je charakterizován jejich *elektroforetickou pohyblivostí* u , což je rychlost pohybu při potenciálním spádu 1 V/cm . Vztah mezi pohyblivostí a nábojem částice Q vyplývá z rovnosti hnací *síly elektrické* a brzdící *síly třecí*. Elektrická síla je dána součinem náboje částice a *potenciálu pole* E , v němž se částice

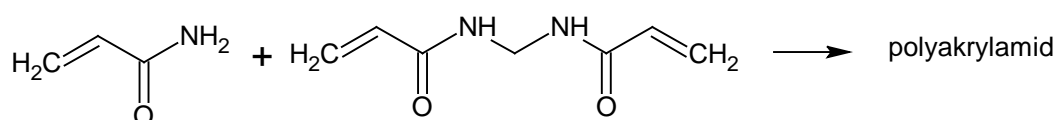
nachází. Brzdící síla je dána vztahem $B=v \cdot f$, kde v je rychlost pohybu a f je *koeficient tření*. Z rovnosti obou těchto sil a z definice pohyblivosti tedy plyne:

$$u = \frac{v}{E} = \frac{Q}{f} \quad [1]$$

Jednotkou pohyblivosti je $cm^2 \cdot s^{-1} \cdot V^{-1}$.

Elektroforéza se realizuje jako volná nebo jako zónová. V případě volné elektroforézy se vzorky látek rozpustí v pufru o určitém pH a nanasou se např. na dno U-trubice. Vzorky se pak převrství pufrem o stejném pH, do kterého se vloží elektrody. Po zavedení elektrického proudu dochází k pohybu nabitých molekul k elektrodám nesoucí opačný náboj. Dělení v tomto uspořádání je zatíženo celou řadou chyb, a proto byla zavedena elektroforéza zónová neboli na nosičích. Vzorky látek se v tomto případě nanášejí na vhodný nosič, čímž je např. filtrační papír, chromatografický papír, agarový gel, škrobový gel nebo polyakrylamidový gel. Nosič je pak navlhčen nebo přímo ponořen do roztoku pufru, do něhož jsou rovněž zavedeny elektrody. Po zavedení elektrického proudu dochází k migraci nabitých částic k opačně nabitým elektrodám stejně jako u volné elektroforézy, ovšem pohyb se děje na nosiči, což umožňuje lepší průběh, zpracování a vyhodnocení elektroforetického dělení. Částice pak na nosiči vytváří zóny, které jsou seřazené podle elektroforetické pohyblivosti. Protože je hodnota elektrického proudu nastavena na určitou konstantní hodnotu, pohybují se zóny konstantní rychlostí, ale vytváří se stupňovitý gradient potenciálu. Projevuje se zde tzv. samozaostřující efekt. Zpozdí-li se některý ion za „svou“ zónou, tj. za zónou odpovídající příslušné pohyblivosti, octne se tak v prostředí s větší hodnotou potenciálu, který ho urychlí tak, aby dohnal svou zónu (a naopak).

V praxi se velice často používá elektroforéza v polyakrylamidovém gelu (PAGE), který je inertní, mechanicky pevný, průhledný a nabízí možnost přípravy nosiče různých předem určených vlastností (hustota zesíťování gelu, gradient hustoty gelu aj.). Polyakrylamidový gel vzniká polymerací akrylamidu a N,N-methylenbisakrylamidu (BIS), která je zahájena volnými radikály vzniklými při rozkladu persíranu amonného. Do směsi se vždy přidává stabilizátor volných radikálů TEMED (N,N,N,N-tetramethylethylendiamin).



Fyzikální vlastnosti tohoto gelu jsou dány podílem akrylamidu v gelu a stupněm zasíťování. Lineární řetězce vznikají spojováním monomerů akrylamidu, příčné vazby mezi nimi jsou tvořeny BIS. Velikost pórů polyakrylamidového gelu závisí nepřímo úměrně na koncentraci akrylamidu. Čím vyšší je tedy koncentrace akrylamidu, tím jsou menší póry. Nejčastější koncentrace akrylamidu je 3 – 15 %. Koncentrace BIS obvykle odpovídá 5% celkové koncentraci akrylamidu.

Zónovou elektroforézu lze realizovat buď v kontinuálním nebo diskontinuálním systému. Diskontinuita může být jak v koncentracích gelu, tak především v pH a iontové síle. V případě pH se diskontinuita volí použitím různé hodnoty pH pufru elektrodového a pufru v gelu. Při diskontinuální elektroforéze získáváme ostřejší zóny než v případě kontinuální elektroforézy. Jako elektrodového pufru se mimo jiné používá Tris(hydroxymethyl)aminomethan/glycinátový pufr pH 8,3 (Tris/glycin). Gel pak obsahuje pufr Tris/HCl pH 9,2. Po skončení elektroforézy se rozdělené bílkoviny v gelu fixují v 10 % roztoku kyseliny chloroctové a poté barví pomocí barviva CBB R-250 (Coomassie Brilliant Blue R 250). Nakonec se gel odbarví v roztoku methanolu a kyseliny octové, přičemž zóny bílkovin zůstanou zbarveny modře.

Úkol: Rozdělte bílkovinu vaječného bílku pomocí diskontinuální elektroforézy

Chemikálie: Elektrodový pufr (0,025 mol.l⁻¹ Tris, 0,192 mol.l⁻¹ glycin, pH 8,3)
pufr do gelu (2,25mol.l⁻¹ Tris, 0,1655 mol.l⁻¹ HCl)

30 % (w/v) akrylamid

2 % (w/v) bisakrylamid

10 % (w/v) persíran amonný

vzorkovací pufr (0,125 mol.dm³ pufr do gelu, 0,01 % (w/v)
bromfenolová modř)

TEMED (*N,N,N',N'*-Tetramethylethylenediamine)

fixační roztok (10 % kys. trichloroctová)

barvicí roztok (0,1 % (w/v) CBB R-250 v 15 % (v/v) kys. octové a
45 % (v/v) methanolu)

odbarvovací roztok (40 % (v/v) methanol, 10 % (v/v) kys. octová)

vaječný bílek

Pomůcky: Kádinka (50 ml, 2 ks 100 ml)

odměrný válec

elmag. míchačka + míchadlo

automatické pipety + špičky na pipety

plastové mikrozkušavky
špachtle
misky
stříčka
třepačka
elektroforetický přístroj

Pracovní postup:

Akrylamid a BIS jsou neurotoxické látky. S jejich roztokem pracujeme vždy s co největší opatrností, v gumových rukavicích. **Nikdy tyto látky nepipetujeme ústy!**

Příprava 8 % gelu

Podle rozpisu odpipetujeme příslušná množství daných látek do kádinky.

Destilovaná voda	5,41 ml
Pufir do gelu	2,4 ml
Akrylamid	4 ml
BIS	3 ml
TEMED	50 μ l

Kádinku umístíme na elektromagnetickou míchačku nastavenou na hodnotu 250 - 300 otáček za minutu a zapneme ji. Formu na gel uzavřeme vložením dvou plíšků. Formu dáme do plastového kelímku, aby případný uniklý gel neznečistil pracovní plochu. Poté zahájíme polymeraci gelu přidávkem 140 μ l čerstvě připraveného 10 % roztoku persíranu amonného (ten si připravíme do mikrozkušavky s uzávěrem – 1 ml) do kádinky postavené na míchačce. Po promíchání (cca 8 sekund) nalijeme roztok do formy tak, aby nevznikaly bublinky. Po nalití ihned zasuneme do roztoku gelu hřebínek. Do kádinky se zbytky roztoku gelu nalijeme vodu. Gel necháme polymerizovat a připravíme si vzorky. Z roztoku vaječného bílku odpipetujeme postupně 0,1; 0,2; 0,3 a 0,4 ml do plastových mikrozkušavek a doplníme je přidávkem 0,4 ml vzorkovacího pufiru.

Z formy s gelem odstraníme plíšky (špachtlí odřízneme gel od plíšků, pak je vyjmeme) a vysuneme hřebínek. Vodu na gelu slijeme a případnou vodu v jamkách pro vzorky opatrně odsajeme injekční stříkačkou. Poté do jednotlivých jamek (krajní jamky nevyužíváme, dochází zde k deformaci zón) odpipetujeme vzorky bílkovin. Elektroforetickou vanu naplníme 180 ml elektrodového pufiru. V pufiru nesmí být přítomny bublinky. *Formu s gelem vložíme do elektroforetické vany a to pomalu a velmi opatrně, aby nedošlo k vyplavení vzorků z jamek!* Do elektrodového pufiru nejprve ponoříme pravou stranu gelu, pak pomalu stranu

levou (se vzorky). Při elektroforéze budou vzorky putovat z levé strany na pravou (ke kladné elektrodě), proto musí být vzorky na levé straně! Vanu přikryjeme víkem (kabely vedoucí na víko elektroforetické vany musí být na vzdálenější straně) a zapneme zdroj napětí, který nastavíme na hodnotu 150 V.

Po doputování zóny bromfenolové modři asi 1 cm před konec gelu (cca 80 min.) elektroforézu ukončíme. Formu s gelem vyjmeme a gel necháme opatrně sklouznout do misky. Gel několikrát propláchneme destilovanou vodou. Pro orientaci rozdělených zón na gelu odřízneme pravý dolní roh gelu. Gel pak vložíme do misky s fixačním roztokem a misku dáme na třepačku. Po 5 minutách gel vyjmeme, fixační roztok vrátíme zpět do zásobní láhve. Gel opět propláchneme a vložíme jej do misky s barvicím roztokem. Gel necháme 15 minut barvit na třepačce. Po obarvení slijeme barvicí roztok zpět do zásobní láhve, gel několikrát propláchneme destilovanou vodou a vložíme jej do misky s cca 20 ml odbarvovacího roztoku. Gel odbarvujeme jednou, popřípadě dvakrát po dobu alespoň 15 minut.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vyhodnocení:

Uurčíme počet zón na gelu a následně změříme jednotlivé vzdálenosti zón vzorků bílkovin od startovních jamek a určíme relativní pohyblivost R_f (vzdálenost středu zóny bílkoviny ke vzdálenosti konce gelu od startovních jamek). Při práci s gelem je nutné používat gumové rukavice.

Reakce základních anorganických iontů

Jedním ze stěžejních úkolů analytické chemie je důkaz a stanovení základních anorganických kationtů či aniontů. Důkaz (*kvalitativní analýza*) obvykle předchází následující stanovení (*kvantitativní analýza*). Cílem kvalitativní analýzy je určení přítomnosti jednotlivých složek v analyzovaném vzorku. Ve vodných roztocích se kvalitativní analýza provádí obvykle přímo, u ostatních materiálů je potřeba nejprve získat vhodný vzorek pro analýzu (kovy a slitiny rozpouštíme, horniny a minerály tavíme či pečeme a následně rozpouštíme, organické materiály spalujeme či mineralizujeme).

Pro důkaz volíme vhodnou analytickou reakci, po níž požadujeme, aby byla sledovatelná, dostatečně rychlá, citlivá a co nejvíce specifická. Nejčastěji se používají reakce spojené se vznikem sraženin, změnou zbarvení či vývojem charakteristického plynu. Z hlediska mechanismu lze při důkazu základních iontů používat reakce acidobazické, ale zejména srážecí, redoxní a komplexotvorné. Podle rozsahu látek, které lze reakcí dokázat, se rozlišují reakce skupinové, selektivní a specifické. Skupinové reakce jsou charakteristické pro určitou skupinu látek. Selektivní reakce dovolují za předepsaných podmínek charakterizovat omezený počet složek. Vhodnou kombinací několika selektivních reakcí pak lze jednoznačně dokázat určitý ion. Specifické reakce udávají za předepsaných podmínek přítomnost jediné látky či iontu.

Skupinové reakce

Skupinové reakce jsou hlavním vodítkem kvalitativní analýzy a dovolují charakterizovat přítomnost určité skupiny iontů v roztoku, na něž potom zkoušíme selektivní reakce. Srážecí skupinové reakce také slouží k oddělování jednotlivých skupin iontů. Skupinové reakce slouží k tomu, abychom nepřehlédli přítomnost některé složky v roztoku, a usnadňují volbu selektivních činidel.

činidlo	skupina kationtů	činidlo	skupina aniontů
zř. HCl	nerozp. chloridy	Ba ²⁺	nerozp. soli
zř. H ₂ SO ₄	nerozp. sírany	Ag ⁺	nerozp. soli
1M – (COOH) ₂	pro Ca ²⁺	KMnO ₄ (kys.)	redukující anionty
Na ₂ CO ₃	těžké kovy	I ₂	redukující anionty
(NH ₄) ₂ S	těžké kovy	KI (kys.)	oxidující anionty
H ₂ S	sulfidy nerozp. v kysel.	HCl	těkající plyny
KOH	neamfoterní hydrox.		
NH ₃ (aq)	zás. soli, rozp. amosoli		
K ₂ CrO ₄			
Na ₂ HPO ₄			
KI			

Následující přehledy jsou zaměřeny jen na běžné ionty a nejsou proto zcela úplné!

SKUPINOVÉ REAKCE KATIONTŮ

Zředěná HCl

Ag⁺ - bílá sraženina rozpustná v NH₃(aq.) na světle fialoví, šedne až černá

Hg₂²⁺ - bílá sraženina, amoniakem černá

Pb²⁺ - bílá sraženina, v horké vodě snadno rozpustná, amoniakem nerozpustná

Zředěná H₂SO₄

Pb²⁺ - bílá krystalická sraženina, rozpustná v octanu amonném, sirovodíkem černá

Ca²⁺ - bílá krystalická sraženina, vzniká jen z koncentrovaných roztoků, snáze se utvoří přidáním alkoholu

Kyselina šťavelová

Ca²⁺ - bílá kr. sraženina

Hg₂²⁺ - bílá sraženina

Ag⁺, Pb²⁺ - bílé sraženiny neochotně rozpustné v nadbytku činidla (lze oddělit srážením HCl a sraženinu odfiltrovat)

Sirovodík (srážení nerozpustných sulfidů z kyselého prostředí)

Ag⁺ - černá sraženina, nerozpustná v amoniaku a sulfidu amonném

- Pb^{2+} - černá sraženina, nerozpustná v sulfidu amonném
- Hg_2^{2+} - černá sraženina
- Hg^{2+} - černá sraženina, nerozpustná v horké zředěné kys. dusičné (liší se od ostatních sulfidů)
- Cu^{2+} - černá sraženina, rozpustná v kys. dusičné za tepla
- Bi^{3+} - černohnědá sraženina
- Cd^{2+} - žlutá sraženina, barva závisí na pH roztoku
- Zn^{2+} - bílá sraženina jen ze slabě kyselých roztoků!

Sulfid amonný

sráží všechny kationy vyjma alkalických kovů a kovů alkalických zemin, tedy sráží i předchozí skupinu, avšak některé z nich jsou v nadbytku sulfidu rozpustné a vyloučí se zpět až okyselením

- Co^{2+} - černá sraženina
- Ni^{2+} - černá sraženina
- Zn^{2+} - bílá sraženina
- Fe^{2+} - černá sraženina, postupně oxiduje a hydrolyzuje na hnědý hydroxid
- Fe^{3+} - černá sraženina, postupně hydrolyzuje na hnědý hydroxid
- Cr^{3+} - špinavě zelená sraženina hydroxidu
- Al^{3+} - bílá rosolovitá sraženina hydroxidu

Alkalický hydroxid

sráží většinu kationtů (vyjma alkalických kovů a kovů alkalických zemin) jako hydroxidy, které u ušlechtlejších kovů snadno hydratují za vzniku oxidů, teoreticky se všechny hydroxidy v nadbytku rozpouštějí na hydroxosloučeniny (ty které se rozpouštějí nad $\text{pH} = 14$ označujeme jako neamfoterní a ve vodném roztoku nedosáhneme jejich rozpuštění – Co^{2+} , Fe^{3+} , Bi^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Mg^{2+}).

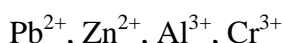
- Ag^+ - hnědá sraženina Ag_2O
- Pb^{2+} - bílá sraženina rozpustná v nadbytku
- Hg_2^{2+} - černá sraženina, směsí oxidů a rtuti
- Hg^{2+} - žlutá sraženina HgO
- Cu^{2+} - modrá sraženina, povařením přechází na hnědočerný CuO
- Bi^{3+} - bílá sraženina, za varu se vylučuje žlutá sraženina BiO(OH)
- Cd^{2+} - bílá sraženina, rozpustná v amoniaku

- Co²⁺ - modrá sraženina, dalším přidáváním růžoví, na vzduchu hněde
- Ni²⁺ - světle zelená sraženina, amoniakem se rozpouští na fialově modrý roztok
- Zn²⁺ - bílá sraženina, snadno rozpustná v kyselinách, nadbytkem se rozpouští v alkalických hydroxidech (od pH = 13,4)
- Fe²⁺ - bílá sraženina, okamžitě oxiduje, zelená a hněde až na hydroxid železitý
- Fe³⁺ - hnědá sraženina (rez), která se v přítomnosti organických hydroxysloučenin (kyseliny vinná, citronová, glukóza, glycerin) snadno rozpouští, čehož lze využít pro maskování Fe³⁺ iontů
- Cr³⁺ - šedozelená sraženina, rozpustná v kyselinách i přebytku činidla
- Al³⁺ - bezbarvá rosolovitá sraženina amfoterní povahy, organické polyhydroxysloučeniny zamezují srážení hydroxidu
- Ca²⁺ - bílá sraženina slabě rozpustná ve vodě (1,2 g na 1 l při 20 °C)

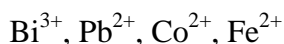
přehled iontů nerozpustných v nadbytku 2M alkalického hydroxidu



přehled iontů rozpustných v nadbytku 2M alkalického hydroxidu



přehled iontů, jejichž oxidace kapkou H₂O₂ je doprovázena barevnou změnou



Reakce s amoniakem

- Ag⁺ - černohnědá sraženina Ag₂O v nadbytku se snadno rozpouští na [Ag(NH₃)₂]⁺, který stáním poskytuje krystaly třaskavého stříbra
- Hg₂²⁺ - černá sraženina nerozpustná v nadbytku amoniaku
- Hg²⁺ - bílá sraženina amidosoli špatně rozpustná v přebytku
- Cu²⁺ - světle zelená sraženina v nadbytku se rozpouští na fialověmodrý roztok [Cu(NH₃)₄]²⁺
- Cd²⁺ - bílá sraženina v nadbytku rozpustná na bezbarvý [Cd(NH₃)₄]²⁺
- Co²⁺ - modrá sraženina v nadbytku rozpustná na hnědožluté roztoky (luteo-soli)
- Ni²⁺ - světle modrá sraženina v nadbytku snadno přechází na modré roztoky [Ni(NH₃)₄]²⁺
- Fe²⁺ - velmi snadno poskytuje přímo oxidaci vzdušným kyslíkem sraženiny hydroxidu železitého
- Fe³⁺ - hydroxid železitý

Zn^{2+} - obtížné srážení hydroxidu zinečnatého, který se může rozpouštět v nadbytku činidla

přehled nerozpustných sraženin

Bi^{3+} , Pb^{2+} , Hg_2^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Cr^{3+} , Al^{3+}

přehled rozpustných sraženin

Ag^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+}

Reakce s Na_2HPO_4

fosforečnany jsou většinou nerozpustné ve vodě, rozpustné jsou pouze fosforečnany alkalických kovů s výjimkou lithného, srážíme činidlem a sledujeme rozpustnost vzniklé sraženiny ve zředěné kys. dusičné, octové, chlorovodíkové, v amoniaku a alkalickém hydroxidu, podle chování lze kationty rozdělit do čtyř skupin

ve zředěné kyselině octové se nerozpouštějí

Bi^{3+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Ag^+ , Hg_2^{2+}

v 0,1M HCl či 0,1M HNO₃ jsou špatně rozpustné fosforečnany

Bi^{3+}

v koncentrovaném amoniaku se rozpouští

Ag^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+}

v koncentrovanějším alkalickém hydroxidu se snadno rozpouštějí

Pb^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+}

Reakce s jodidem draselným

Ag^+ - žlutá sraženina

Pb^{2+} - žlutá sraženina, v přebytku činidla se snadno rozpustí, v horké vodě snadno rozpustná a opětovným ochlazením se vylučují třpytivé šupinky jodidu olovnatého (zlatý déšť)

Hg_2^{2+} - žlutohnědá sraženina

Hg^{2+} - červenooranž. sraženina v přebytku se rozpustí na bezbarvý tetrajodortu'natan

Cu^{2+} - bílá sraženina CuI, přidáním alkoholu se rozpustí jod a vynikne barva sraženiny

Bi^{3+} - černohnědá sraženina snadno hydrolyzující na červený BiOI, v přebytku se rozpustí na žlutý roztok tetrajodobizmutitanu

Fe^{3+} - v kyselém prostředí oxiduje jodid na jod, který zbarví škrobový maz modře

Reakce s chromanem draselným

dává některé charakteristické sraženiny

- Ag^+ - červenohnědá sraženina
- Pb^{2+} - žlutá sraženina
- Cu^{2+} - hnědožlutá sraženina z neutrálního roztoku
- Cd^{2+} - žlutavá sraženina z neutrálních roztoků za tepla
- Hg_2^{2+} - červenohnědá sraženina
- Hg^{2+} - červenohnědá sraženina
- Co^{2+} - červenohnědá sraženina, lépe se sráží za tepla
- Ni^{2+} - čokoládověhnědá sraženina za tepla
- Zn^{2+} - žlutá sraženina z neutrálních roztoků
- Fe^{2+} - žlutohnědá sraženina v kys. prostředí zelené roztoky Cr^{3+}
- Fe^{3+} - hnědá sraženina
- Bi^{3+} - žlutooranžová sraženina
- Al^{3+} - žlutá rosolovitá sraženina jen ze slabě kyselých roztoků

Dělení skupin kationtů

Dokonalá soustava dělení kationtů již není nutným předpokladem pro dokazování jednotlivých iontů, neboť je dostatek selektivních reakcí. Dělení je tak volné a závisí na povaze vzorku. Vyhýbáme se vždy několikanásobnému postupnému dělení za sebou. Pro oddělení některých skupin kationtů lze použít tyto reakce.

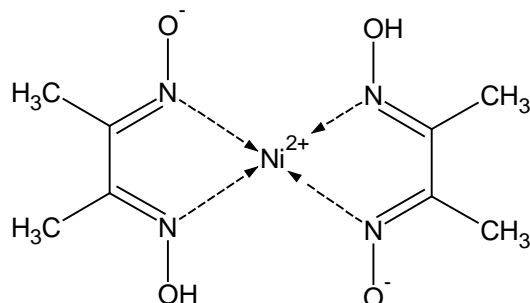
1. vysrážíme-li uhličitánem amonným a sulfidem amonným vzorek, v roztoku zůstanou jen ionty Na^+ a K^+
2. HCl vysrážíme skupinu nerozpustných chloridů Ag^+ , Hg_2^{2+} , Pb^{2+}
3. H_2SO_4 vysrážíme skupinu nerozpustných síranů Pb^{2+} , Ca^{2+}

Vybrané selektivní reakce kationtů

- Na^+ - velmi intenzivně barví plamen žlutooranžově
- K^+ - plamen barví fialově (sodíkové zbarvení se filtruje modrým kobaltovým sklem); velmi málo rozpustný je chloristan draselný
- Ca^{2+} - barví plamen oranžovočerveně, kyselina šťavelová je dosti selektivním činidlem při srážení z neutrálních roztoků
- Fe^{3+} - $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ poskytuje ve slabě kys. prostř. modrou sraženinu berlínské modři; SCN^- dávají ve slabě kyselém prostředí intenzivně červené roztoky
- Co^{2+} - převedení na $\text{Co}[\text{CoCl}_4]$ je spolehlivá reakce, na filtrační papír nanese 1 kapku konc. kys. chlorovodíkové a 1 kapku vzorku, a vysušíme v blízkosti

plamene, za přítomnosti Co^{2+} vznikne modrá skvrna; rodanidy zbarvení roztoků solí kobaltnatých prohlubují

Ni^{2+} - Čugajevovo činidlo (dimethyldioxim, diacetylglyoxim) dává ve slabě alkalickém prostředí ($\text{pH} = 7 - 9$) červenou sraženinu $\text{Ni}(\text{DH})_2$



Cu^{2+} - $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ dává v neutrálním či slabě kyselém prostředí červenohnědou sraženinu či roztok, pro důkaz lze využít i skutečnosti, že halogenidy či pseudohalogenidy (Br^- , I^- , SCN^- , CN^-) snadno poskytují měďnou sůl a halogen, který lze snadno dokázat

Ag^+ - jodid stříbrný je extrémně nerozpustný a v amoniakálním roztoku se odbarvuje, specificky lze AgI srážet tak, že ke kapce vzorku přidáme kapku 10% EDTA, kapku amoniaku a kapku KI , tak vzniká pouze sraženina bílého AgI , ostatní kationty jsou maskovány; typická je reakce s chromanem draselným

Zn^{2+} - jediný bílý sulfid ZnS ; $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ dává bílou sraženinu v neutrálním prostředí

Cd^{2+} - jde o poměrně vzácný prvek, typický je žlutý sulfid CdS vznikající z mírně kyselých roztoků (ostatní rušivé kationty lze maskovat CN^-)

Pb^{2+} - vysráží se žlutý PbI_2 , který se rozpustí v horké vodě, a postupně se roztok ochladí, žluté lesklé šupinky jsou specifickým průkazem přítomnosti Pb^{2+} iontů; sraženina síranu olovnatého po přikápnutí sulfidu sodného černá

NH_4^+ - silné zásady uvolňují amoniak, který lze prokázat čichem nebo ovlhčeným lakmusovým papírkem či kapkou Nesslerova činidla, která hnědne

SKUPINOVÉ REAKCE ANIONTŮ

Důkaz aniontů je založen na skupinových a selektivních reakcích a nevyžaduje dokonalou soustavu postupného dělení, tak jak ji známe u kationtů. Řada reakcí aniontů je velmi typická a taktéž počet aniontů ve vzorcích nebývá velký. Pro srážecí reakce je potřeba odstranit všechny rušivé kationty těžkých kovů.

Skupinové reakce s Ba²⁺

- SO₄²⁻ - bílá sraženina, nerozpustná v minerálních kyselinách
- CrO₄²⁻ - světle žlutá sraženina, rozpustná v minerálních kyselinách
- PO₄³⁻ - bílá sraženina, rozpustná již v kys. octové
- B(OH)₄⁻ - bílá sraženina vzniká až po přidání amoniaku, zředěné roztoky se nesráží
- CO₃²⁻ - bílá sraženina, rozpouští se kys. octovou za šumění (vývoj CO₂)

Skupinové reakce s Ag⁺

- CrO₄²⁻ - červenohnědá sraženina, rozpustná v kys. dusičné i amoniaku
- SO₃²⁻ - bílá sraženina, rozpustná v kys. dusičné, amoniaku a nadbytku siřičitanu, povařením se vylučuje stříbro
- PO₄³⁻ - žlutá sraženina, snadno rozpustná v kys. octové i amoniaku
- B(OH)₄⁻ - bílá sraženina vzniká z koncentrovaných roztoků, povařením černá, zředěné roztoky dávají žluté až hnědé sraženiny
- CO₃²⁻ - žlutá sraženina, povařením vzniká oxid stříbrný a uvolňuje se oxid uhličitý
- NO₂⁻ - bílá či žlutavá krystalická sraženina jen z koncentrovanějších roztoků
- SO₄²⁻ - bílá krystalická sraženina jen z koncentrovanějších roztoků
- Cl⁻ - bílá sraženina, rozpustná v amoniaku, na světle fialoví, šedne až černá
- Br⁻ - nažloutlá sraženina, rozpustná v koncentrovaném amoniaku
- I⁻ - žlutá sraženina, nerozpustná ve zředěné kys. dusičné, v amoniaku bělá
- [Fe(CN)₆]⁴⁻ - bílá sraženina nerozpustná ve zředěné kys. dusičné, špatně rozpustná ve zředěném amoniaku, lépe v koncentrovaném, může být zbarvena hnědě přítomností [Fe(CN)₆]³⁻
- [Fe(CN)₆]³⁻ - červenohnědá sraženina, snadno rozpustná ve zředěném amoniaku
- SCN⁻ - bílá sraženina, nerozpustná ve zředěné kys. dusičné, špatně rozpustná ve zředěném amoniaku
- SH⁻ - černá sraženina

přehled stříbrných solí nerozpustných ve zředěné kyselině dusičné

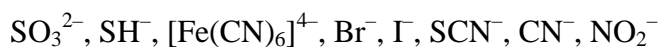
Cl⁻, Br⁻, I⁻, SCN⁻, CN⁻, [Fe(CN)₆]⁴⁻, [Fe(CN)₆]³⁻, SH⁻, IO₃⁻ (z této skupiny se v amoniaku nerozpouštějí I⁻, SH⁻; špatně se amoniakem rozpouštějí Br⁻, SCN⁻, [Fe(CN)₆]⁴⁻)

přehled stříbrných solí rozpustných ve zředěné kys. dusičné

CrO₄²⁻, SO₃²⁻, PO₄³⁻, B(OH)₄⁻, CO₃²⁻ (NO₂⁻, SO₄²⁻)

Oxidace roztokem KMnO₄

oxidaci manganistanem provádíme po okyselení vzorku kapičkou 1M kys. sírové, dochází-li k prokazatelné spotřebě manganistanu, mohou být přítomny tyto ionty



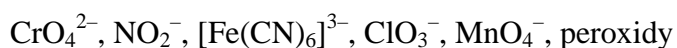
Oxidace roztokem jodu

ke vzorku přidáme roztok jodu v jodidu draselném, zrno pevného uhličitanu sodného a kapičku škrobového mazu, je-li spotřeba jodu zřejmá, mohou být přítomny



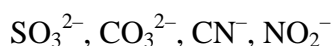
Redukce kyselinou jodovodíkovou

redukci provádíme jodidem draselným v kyselém prostředí



Anionty těkavých kyselin

při okyselení uvolňují následující anionty plynné produkty



Vybrané selektivní reakce aniontů

Cl⁻ - s Ag⁺ vzniká bílá sraženina, rozpustná v amoniaku, na světle fialoví, šedne až černá

SO₄²⁻ - s Ba²⁺ vzniká v prostředí zředěné kys. dusičné nerozpustný síran barnatý

SCN⁻ - se Fe³⁺ ionty dávají intenzivně červené roztoky; při oxidaci manganistanem v kyselém prostředí uniká z roztoku kyanovodík ☹

NO₃⁻ - vzorek (asi 1 ml) opatrně podvrstvíme několika kapkami roztoku difenylaminu v konc. kyselině sírové, podobně reagují i jiná oxidační činidla dusitany, chlorečnany, jodičnany, železité soli, manganistany, chromany, peroxydy aj., vyšší selektivity dosáhneme přidáním pevného siřičitanu sodného v prostředí 3M kys. sírové, kdy ruší pouze dusitany (dusitany lze z roztoku odstranit močovinou v prostředí 1M kys. sírové)

NO₂⁻ - s rodanidem draselným dává v okyselených roztocích červené roztoky ON.SCN, které se varem rozkládají za odbarvení; kyanoželeznatan draselný se barví v prostředí kys. octové nepatrným množstvím dusitanů žlutě (dusičnany reakci neovlivňují); chlorid amonný za horka rozkládá dusitany za vývoje dusíku; lze využít diazotaci a následnou kopulaci za vzniku diazobarviva – k roztoku aromatického

aminu ve zředěné kys. octové či 0,1M HCl se přidá vodný roztok dusitanu a protřepe, po několika minutách se kopuluje s aminem či fenolem

PO_4^{3-} - molybdenová soluce (7,5 g molybdenanu amonného se rozpustí za tepla v 50 ml vody a roztok se vleje do 50 ml kys. dusičné) sráží žlutou sraženinu molybdátofosforečnanu amonného, při zahřátí je reakce průkazná i u zředěných roztoků

Cvičení:

Dokazované kationty:

Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Al^{3+} , Bi^{3+} , Fe^{3+}

Dokazované anionty:

NO_3^- , NO_2^- , Cl^- , Br^- , I^- , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , MnO_4^- , SCN^-

Úkol: Na tečkovací destičce si vyzkoušejte všechny dostupné skupinové reakce kationtů a aniotů.

Chemikálie: roztoky dokazovaných iontů
skupinová, příp. specifická činidla

Pomůcky: tečkovací destička
pipetky

Vyhodnocení:

Vlastní pozorování zpracujte do protokolu (vč. chemických rovnic). Určete složení neznámého vzorku a potvrďte jej specifickými reakcemi.

Rektifikace (protiproudová destilace)

Úvod:

Z praktického hlediska slouží rektifikace k rozdestilování směsi látek, jejichž teploty varu se liší jen o několik stupňů. Jednoduchá destilace je v takovém případě málo efektivní, neboť výsledná směs se v zastoupení složek často liší od původní jen nepatrně a jsme nuceni destilaci i několikrát opakovat, což je proces velmi zdlouhavý a energeticky náročný. Proto byla vyvinuta metoda rektifikace, která umožňuje v jednom pracovním kroku od sebe oddělit jednotlivé složky.

Princip rektifikace:

V uzavřené nádobě se mezi kapalinou a její párou brzy ustaví dynamická rovnováha. Tato rovnováha je však při destilaci porušována, neboť neustále odvádíme páru a odebíráme kondenzát. Při destilaci směsi přechází do páry vedle nejtěkavějšího podílu i podíly méně těkavé a po čase se mezi jednotlivými podíly ustavuje rovnováha (závislá na teplotě). Značná část méně těkavých složek opět kondenzuje, kdežto nejtěkavější podíl zůstává v páře. Při klasické destilaci je oblast, v níž dochází k ustavování rovnováhy, poměrně malá a rychlost odběru páry velká, tudíž se nestačí ustavit rovnováha a rozdělení ztrácí na účinnosti. Existuje několik možností, jak přispět k dokonalejšímu ustavení rovnováhy:

- zvětšit oblast, v níž dochází k ustalování rovnováhy např. vložením svislé trubice mezi baňku a chladič
- zvětšit plochu uvnitř této oblasti, na níž může méně těkavější podíl kondenzovat.

Na větší ploše kondenzují méně těkavé složky a stékají protiproudně dolů do baňky, čímž se zajistí dokonalá látková i energetická výměna kapalina-plyn a podpoří se ustavení rovnováhy, což příznivě ovlivní kvalitu rozdělení. Protiproudové destilaci se říká *rektifikace*. Svislé trubici mezi baňkou a chladičem či nástavcem se říká *rektifikační kolona*.

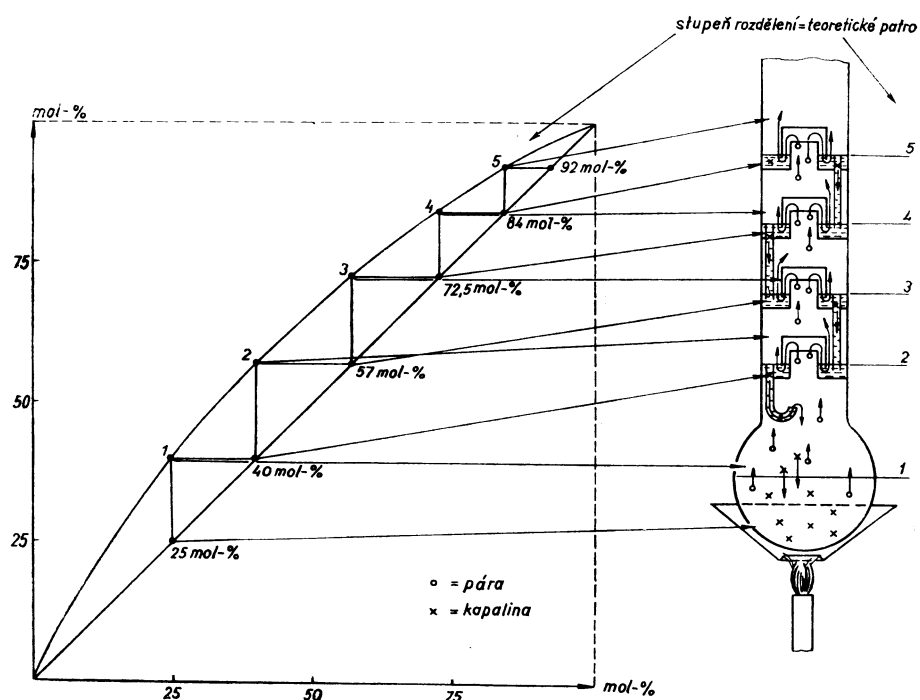
Teoretické patro:

Kvalitu destilační kolony vyjadřujeme počtem teoretických pater, což je počet kroků, které jsme provedli na fázovém diagramu (viz obr. 1).

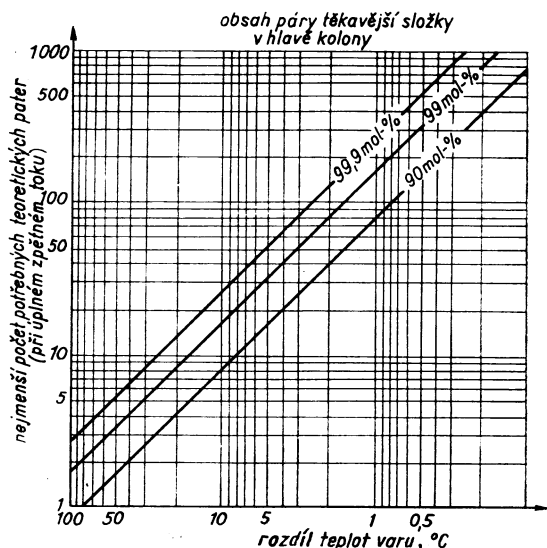
Je však třeba poznamenat, že na skutečných patrech nedochází k ustavení ideální rovnováhy, což zapříčiňuje zejména trvalý odběr kondenzátu. Tím je počet teoretických pater poněkud nižší, než počet pater skutečných. *Teoretické patro* je definováno jako oblast, kde

dojde k úplné výměně látek a energie. Počet teoretických pater na koloně se zjišťuje destilací standardních směsí.

Platí, že čím blíže jsou teploty varu jednotlivých směsí, tím větší počet teoretických pater je potřeba k dokonalému oddělení, jednotlivých složek. Nejmenší počet potřebných teoretických pater lze odhadnout z Braggova-Lewisova diagramu (viz obr. 2). Nalezené hodnoty však platí pouze pro ideální případ, kdy neodebíráme z kolony kondenzát tedy za tzv. úplného refluxu.



Obr. 1: Srovnání rovnovážných křivek a patrové kolony s ideálně pracujícími patry



Obr. 2: Braggův-Lewisův diagram

Refluxní poměr:

Refluxní poměr v je podíl množství zpětného toku R (ml) k množství odebíraného destilátu D (ml).

$$v = \frac{R}{D} \quad [2]$$

Platí, že čím menší je refluxní poměr (čím je odběr destilátu větší), tím hůře se ustavuje rovnováha a tím klesá i počet teoretických pater v koloně. Refluxní poměr se běžně nastavuje na hodnotu $v = 5 - 50$. Na rektifikačních kolonách lze refluxní poměr nastavit kohoutem v hlavě kolony.

Úkol: Srovnajte účinnost rektifikační kolony a klasické destilace

Chemikálie: směs methanol/ethanol o různém složení

Pomůcky: baňka 1000 ml
 rektifikační kolona
 vaříč (topné hnízdo)
 zkumavky
 odměrný válec 10 ml
 Abbeho refraktometr

Postup:

Baňku pod rektifikační kloboučkovou kolonou naplníme 1 l vzorku (směs methanol/ethanol). Opatrně nasadíme baňku na konec kolony a spojíme svorkou. Postupně pak velmi pomalu a opatrně zvýšíme stojany s topným hnízdem. Během utahování topného hnízda dbáme na to, aby baňka a hnízdo do sebe dobře zapadaly, **neutahujeme těsně, mezi baňkou a hnízdem musí být malá vůle!** Zasadíme do kohoutu v hlavě kolony teploměr a zkontrolujeme uzavření kohoutu. Dále pustíme chladicí vodu do zpětného chladiče velmi malým proudem, dbáme, aby hadice dobře těsnily a voda tak nekapala až na topné hnízdo. Zapneme oba okruhy topného hnízda na maximální výkon. Jakmile začnou vařit téměř všechna patra kolony, vypneme jeden okruh a stáhneme výkon asi na 1/3. Necháme v koloně ustavit rovnováhu (min. 30 minut). Jakmile se v koloně ustavila rovnováha, začneme s jímáním frakcí. Jímáme jednotlivé frakce vždy po 10 ml. Kohout umožňuje naráz odebrat cca 3,5 ml frakce (nastavení konkrétního refluxního poměru je s používaným typem ventilu nemožné). Odebíráme tedy 3krát vždy po stejném časovém intervalu 5 (lépe 10 či 15) minut a spojujeme frakce po 10 ml (čím déle se bude rovnováha ustavovat, tím vyšší účinnost bude kolona mít). Počet odebraných frakcí je limitován délkou cvičení a aparatura by měla být odstavena cca 30 minut před ukončením cvičení a to tak, že se nejprve vypne topné hnízdo a po 15 minutách se zastaví přívod chladicí vody.

Pro srovnání účinnosti rektifikační kolony a klasické destilace, vydestilujeme z 500 ml vzorku tři frakce po 5 ml.

Vyhodnocení:

U jednotlivých frakcí určíme složení směsi refraktometricky. Nejprve proměříme sadu standardů a sestavíme kalibrační závislost. Při všech měřeních dbáme na to, abychom měřily vzorky za konstantní teploty. Následně změříme vzorek před rektifikací a pak jednotlivé frakce z rektifikace a destilace. Z naměřených indexů lomů určíme složení směsi. Změřená data uvedeme v přehledném tvaru a srovnáme účinnost klasické destilace a rektifikace. Na základě Braggova-Lewisova diagramu odhadneme počet teoretických pater v koloně a srovnáme se skutečným počtem pater. Jaký by byl potřeba počet teoretických pater pro dokonalé rozdělení směsi?

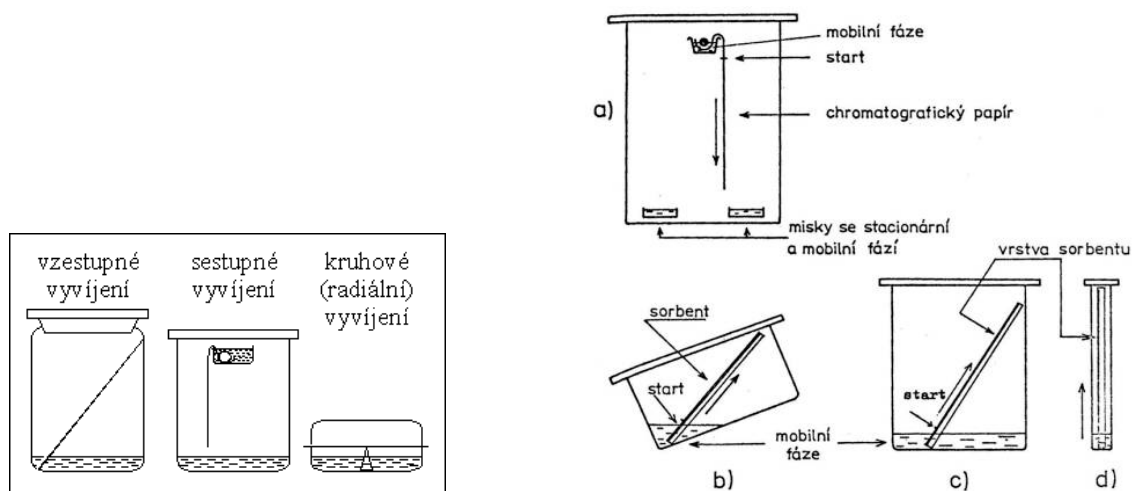
Vlastnosti:	T_v :	Methanol	64,70 °C
		Ethanol	78,29 °C
Index lomu:		Methanol	1,32840 (20 °C); 1,32652 (25 °C)
		Ethanol	1,36143 (20 °C); 1,35941 (25 °C)

Papírová a tenkovrstvá chromatografie

Jednou z nejrozšířenějších analytických metod je bezesporu chromatografie, umožňující účinnou separaci látek nutnou pro spolehlivou identifikaci a kvantifikaci složek sledovaného vzorku. K rozdělení látek dochází na základě jejich různé pohyblivosti v systému dvou fází – stacionární (zakotvené) a mobilní (pohyblivé). Různé látky se liší ve svých adsorpčních vlastnostech, v hodnotách rozdělovacích koeficientů, ve svých rozměrech či ve svých nábojích, což lze vše využít v chromatografii k jejich rozdělení na vhodném chromatografickém zařízení. Stacionární fází může být pevná látka (papír, SiO_2 , Al_2O_3) ale i kapalná fáze zakotvená na pevném nosiči, mobilní fází pak bývá kapalina či plyn. Z hlediska provedení (uspořádání chromatografického zařízení) dělíme chromatografii na plošnou a sloupcovou, z hlediska určujícího mechanismu dělení látky mezi stacionární a mobilní fází pak chromatografii adsorpční, rozdělovací, iontově výměnnou a další.

Papírová chromatografie byla po určitou dobu v praxi nejpoužívanější metodou plošné chromatografie. Její největší výhodou je ekonomicky nenáročné chromatografické médium, využitelné pro separaci širokého množství látek od anorganických iontů až k složitým biomolekulám. Základním separačním mechanismem je v případě papírové chromatografie rozdělovací rovnováha mezi vodou či jiným rozpouštědlem zakotveným v papíru a použitou mobilní fází. U látek s velkým počtem polárních skupin se často uplatňuje jejich silná interakce přímo s celulózou, v takových případech převládá adsorpční mechanismus dělení. Důležitou charakteristikou použitého chromatografického papíru (jedná se o speciální papír, ne např. obyčejný filtrační papír) je průtoková rychlost mobilní fáze – podle ní rozlišujeme chromatografické papíry s rychlým, standardním a pomalým průtokem. Rychlost průtoku významně ovlivňuje dobu separace a samozřejmě i její účinnost. Dodávány jsou však i papíry speciálně upravené – např. hydrofobizované apod.

Před použitím nastříháme chromatografický papír na proužky o minimální délce 10 cm a šířky podle počtu nanášených vzorků. Chromatografii na papíře provádíme buď ve vzestupném provedení, kdy je papír zavěšen v chromatografické komoře a spodním okrajem je namočen do mobilní fáze anebo v sestupném provedení, kdy je papír zavěšen ve vaničce s mobilní fází a ta putuje dolů.



Obr. 3: Chromatografie – provedení

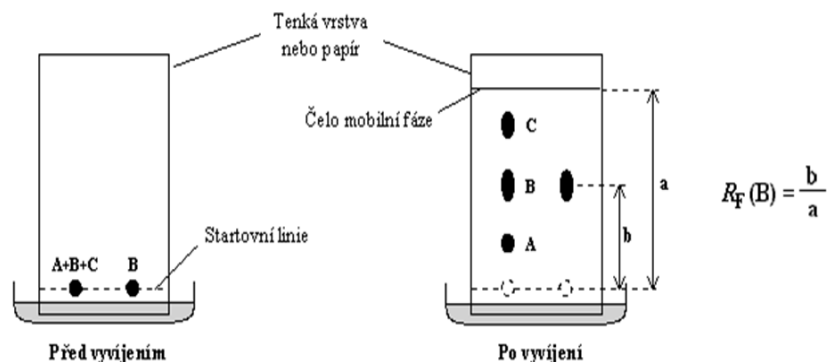
a) *sestupné vyvíjení* – v horní části se umístí žlábek s mobilní fází

b), c), d) *vzestupné vyvíjení* – mobilní fáze se umístí na dně nádoby (s dobře těsnícím víkem) a vzlíná vzhůru

(převzato z internetu: http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/AJAME.htm, <http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/tlpcp.html>)

Vzorek nanášíme na vyznačený start, který by měl být alespoň 1 cm nad hladinou mobilní fáze, rozestupy mezi jednotlivými nanášenými vzorky by měly být alespoň 0,5 až 1 cm, od okraje papíru pak minimálně 1 cm. Vzorek se nanáší po odstranění rušících látek (např. extrakcí) ve vhodném rozpouštědle mikropipetou či injekční stříkačkou tak, aby skvrna vznikající na startu nebyla příliš rozměrná (raději postupné nanášení po oschnutí předchozí dávky). Při přípravě a nanášení vzorku je třeba brát v úvahu, že příliš velké množství analyzované látky ve vzorku zapříčiňuje tvorbu rozvleklých skvrn. Optimální množství látky ve vzorku se pohybuje v rozmezí 0,1 až 100 μg v závislosti na její rozpustnosti v mobilní fázi (čím méně je rozpustná, tím menší množství látky) a na citlivosti detekce. Protože nanášený objem se pohybuje v rozmezí 2 až 20 μl , pohybuje se vhodná koncentrace nanášeného roztoku v rozmezí 0,1 až 5%. Před zahájením vyvíjení chromatogramu je potřeba naplnit chromatografickou komoru (vyšší skleněná nádoba s víkem a stojánkem pro uchycení papíru) mobilní fází a přibližně 15 až 20 min. nechat ustavit v komoře rovnováhu par mobilní fáze. Volba složení mobilní fáze ovlivňuje pohyblivost chromatografovaných látek podle pravidla podobné rozpouští podobné. Proto pro polární látky se používají směsi polárních organických rozpouštědel (alkoholy) s vodou a přídavkem kyseliny či báze, nepolární látky se pak chromatografují ve směsích nepolárních rozpouštědel (v takovém případě je třeba atmosféru komory sytit vodními parami z misticčky s vodou). Pohyblivost látky na chromatogramu se

vyjadřuje hodnotou R_F , která se určuje jako poměr vzdálenosti, kterou urazí skvrna stanovované látky, ke vzdálenosti, kterou urazí čelo rozpouštědla.



Obr. 4: Schéma chromatogramu – pohyblivost látky – hodnota R_F (retenční faktor, známý také jako retardační faktor)

(převzato z internetu: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Chromatografie>)

Při papírové chromatografii je vhodná vzdálenost, kterou urazí na chromatogramu čelo rozpouštědla asi 5 až 10 cm. Detekce chromatografovaných látek se provádí po vyjmutí papíru a jeho vysušení buď přímo vizuálně, pokud jsou chromatografované látky barevné, nebo se využívá jejich fluorescence pod UV zářením, či se provádí postřik detekčním činidlem za vzniku barevných skvrn. Univerzální detekční činidlo představuje konc. kyselina sírová, protože většina organických látek pod jejím dehydratačním vlivem uhelnatí a tvoří tmavé skvrny (obvykle je nutno zahřát). To ovšem platí i pro samotný chromatografický papír, takže je lépe využít v tomto případě specifitějších detekčních činidel. Podle polohy skvrny látky ve vzorku ve srovnání se standardem, případně i stejného chování při detekci, určíme kvalitu látky, kvantitu pak odhadujeme z porovnání velikosti či intenzity zabarvení skvrn vzorku a standardu.

Tenkovrstvá chromatografie (TLC, Thin Layer Chromatography) je případem plošné chromatografie s převládajícím adsorpčním mechanismem dělení analyzované směsi látek. Vlastní chromatografický experiment se provádí na tenké vrstvě sorbentu (celulóza, silikagel, alumina) naneseného na vhodné podložce (sklo, kovová fólie). Vzorek se ve velmi malém množství (μl) nanáší na začátek vrstvy (start) společně se standardy obdobně jako v případě papírové chromatografie. Po zaschnutí nanesených vzorků se vrstva vloží do vyvíjecí komory s vhodnou směsí rozpouštědel (mobilní fáze) tak, aby startovní linie byla nad hladinou, a komora se uzavře. Dodržují se obdobná pravidla jako u papírové chromatografie, vyvíjení chromatogramu probíhá tak dlouho, dokud se čelo vztlínající směsi rozpouštědel nepřiblíží k okraji desky. Poté se chromatogram vyjme, vysuší a vhodným způsobem detekce se zjistí, kam doputovaly látky obsažené ve vzorku. K detekci se používají

stejné postupy jako v papírové chromatografii, mnohdy se používají vrstvy upravené fluorescenční látkou, fluoreskující při osvětlení UV zářením. Stanovované látky velmi často tuto fluorescenci zhasíjí, takže se pod UV lampou objevují na chromatogramu v podobě tmavých skvrn. Využívají se i další způsoby detekce, založené na postřiku chromatogramu vhodným činidlem, které se stanovovanou látkou vytváří barevnou sloučeninu.

Papírovou a tenkovrstvou chromatografií lze stanovovat širokou škálu organických i anorganických látek při vysoké citlivosti a nízké ekonomické náročnosti. Metoda je povětšinou i časově velmi pohotová, takže je velmi rozšířená v průmyslu v oblasti mezioperační kontroly. Vzhledem ke své univerzálnosti je vhodná i pro první orientaci ve složení neznámého vzorku v oblasti sledování znečištění životního prostředí, medicíně i chemickém výzkumu.

Stanovení cukrů v ovocných šťávách

Chromatografické chování cukrů je v hlavní míře určeno hydrofilním charakterem jejich molekuly, daným velkým počtem hydroxylových skupin. Díky nim se dobře rozpouští ve vodě, ale také silně interagují zejména s celulózu, což způsobuje jejich obtížnou eluovatelnost při chromatografii na papíře či na celulózových tenkých vrstvách. Při chromatografii na silikagelu je nutné použití pufrovaných roztoků, protože jinak dochází k rozdělení chromatografické skvrny na dvě, náležející otevřené a cyklické formě cukru. Pro detekci cukrů je k dispozici velké množství detekčních činidel, často je používán anisaldehyd či naftoresorcinol v kyselině sírové, roztok směsi anilinu s difenylaminem v kyselině fosforečné, amoniakální roztok dusičnanu stříbrného, benzidin, močovina či síran ceričitý. Prvá tři činidla dávají mnohdy specifické barevné reakce s jednotlivými monosacharidy a disacharidy, takže již ze zabarvení skvrny lze určit, o který z monosacharidů se jedná. Cukry lze chromatografovat rovněž jako deriváty – např. hydrazony a osazony, acetáty, methyl či amino deriváty.

Úkol: Stanovte cukry přítomné ve vzorku ovocné šťávy

Chemikálie : acetátový pufr pH=5 o koncentraci $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

acetone

roztok anisaldehydu v kyselině octové (1:100 objemově)

konc. kyselina sírová

standardy glukózy, fruktózy a sacharózy (0,5% vodné roztoky – uchovávat v chladu)

vzorek ovocné šťávy (ředit 10x).

Pomůcky:

chromatografická vyvíjecí komora

chromatografická tenká vrstva typu Silikagel G

mikropipeta

odměrné válce 50, 25 a 5 ml

3 ks kádinka 150 ml

Petriho miska o průměru min. 12 cm

pinzeta

fixýrka

umělohmotná miska.

Postup:

Připravíme si 50 ml mobilní fáze o složení aceton-voda (9:1). Mobilní fázi nalijeme do vyvíjecí komory ve vrstvě okolo 1 cm a komoru uzavřeme. Na SiO₂ destičce si vyznačíme tužkou startovní linii a starty pro jednotlivé vzorky a standardy (1 cm od okraje a 0,5 cm od sebe). Vrstvu pak impregnujeme v 0,02 M roztoku acetátového pufru (naředíme 10x zásobní roztok, stačí cca 20 ml pufru) v Petriho misce. Po vyjmutí necháme vrstvu okapat a lehce oschnout. Na start nanese standardy a studovaný vzorek mikropipetou v množství 5 µl. Po oschnutí skvrn vložíme destičku do komory a uzavřeme. Necháme chromatogram vyvíjet, dokud hladina vztlínající mobilní fáze nedosáhne cca 1 cm pod okraj destičky. Poté destičku vyjmeme, označíme čelo rozpouštědla a necháme oschnout volně na Petriho misce. Detekci provedeme roztokem anisaldehydu v kyselině octové, ke kterému těsně před postřikem přidáme 0,2 ml koncentrované kyseliny sírové (na 10 ml roztoku anisaldehydu).

Vyhodnocení:

Po vybarvení vyhodnotíme polohy a barvy skvrn standardů a vzorku a určíme přítomné cukry. Z porovnání intenzity zabarvení skvrn vzorku a standardů odhadneme obsah jednotlivých cukrů ve vzorku ovocné šťávy. Stanovíme rovněž R_F pro jednotlivé standardy a vzorky.

Stanovení alkaloidů (chininu) v léčivém přípravku

Chromatografické chování alkaloidů se v první řadě odvíjí od toho, že v kyselém prostředí jakožto dusíkaté báze tvoří soli, kdežto v alkalickém prostředí jsou přítomny jako volné báze. Tyto báze jsou dobře rozpustné v organických rozpouštědlech, soli naopak ve vodě či alkoholech, čímž je dána základní volba rozpouštědel pro vyvíjení chromatogramu. Při chromatografii na papíře se obvykle volí soustavy kyselé, protože v případě chromatografie volných bazí je třeba papír impregnovat formamidem. Při detekci alkaloidů lze využít jejich fluorescenci v UV, kdy navíc z intenzity fluorescence lze srovnáním se standardem opět odhadovat i kvantitu zjištěného alkaloidu ve studovaném vzorku. Z chemické detekce je použitelné Dragendorffovo činidlo (roztok hydroxid-dusičnanu bizmutitého a KI v kyselině octové), se kterým reaguje většina alkaloidů.

Úkol: Stanovte chinin ve vzorku léčiva

Chemikálie :
kyselina octová
butanol
0,1 M kyselina chlorovodíková
1% stand. roztok chininu
vzorek léčiva s obsahem chininu

Pomůcky :
chromatografická vyvíjecí komora
stojánek
chromatografický papír (např. Whatman)
mikropipeta
odměrné válce 100 a 25 ml
3 ks kádinka 150 ml
Petriho miska o průměru min. 12 cm
pinzeta
třecí miska
Erlenmayerova baňka 100 ml
nálevka ve stojanu
filtrační papír.

Postup:

Připravíme si mobilní fázi o složení butanol-kyselina octová-voda (75:10:15 ml). Mobilní fázi nalijeme do vyvíjecí komory a komoru uzavřeme. Vzorek léčiva po homogenizaci na třecí misce extrahujeme kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ v Erlenmayerově baňce (na 10 g vzorku 75 ml kyseliny). Po filtraci extrakt použijeme přímo k vlastnímu chromatografickému stanovení. Na chromatografickém papíru si vyznačíme tužkou startovní linii a starty pro vzorek a standard (minimálně 1 cm od okraje a 0,5 cm od sebe). Na start nanášíme standard a studovaný vzorek mikropipetou v množství 5 μl . Po oschnutí skvrn pověsíme papír do komory na věšáček tak, aby spodní část zasahovala do mobilní fáze a start byl přítom nad hladinou a uzavřeme. Necháme chromatogram vyvíjet, dokud hladina vzlínající mobilní fáze nedosáhne dráhy 7 - 10 cm. Poté papír vyjmeme a necháme nejprve oschnout volně na Petriho misce a krátce dosušíme v sušárně při mírně zvýšené teplotě (do 60 °C). Detekujeme pod UV lampou.

Vyhodnocení:

Z porovnání intenzity zabarvení skvrn vzorku a standardu pod UV lampou odhadneme obsah chininu ve vzorku. Stanovíme rovněž R_F pro standard a vzorek.

Stanovení vitamínů skupiny B v droždí

Vitamíny skupiny B jsou rozpustné ve vodě, od čehož se odvíjí i používané vyvíjecí soustavy pro jejich chromatografické stanovení na tenké vrstvě - jejich důležitou součástí je voda. Pověštinou jsou používány kyselé vyvíjecí soustavy s kyselinou octovou, neboť v nich jsou tyto látky stabilnější vůči oxidaci vzdušným kyslíkem. Další nevýhodou látek ze skupiny vitamínů je jejich citlivost ke světlu, což je právě významné u vitamínů skupiny B. Proto je třeba vzorky i chromatogramy chránit před přímým slunečním zářením. Detekce vitamínů skupiny B je vcelku jednoduchá, protože některé z nich jsou barevné a všechny fluoreskují či naopak zhasí fluorescenci pod UV zářením.

Úkol: Stanovte vitamíny skupiny B přítomné ve vzorku kvasnic

Chemikálie : kyselina octová
acetone
methanol
toluen

standardy vitamínů skupiny B

vzorek droždí.

Pomůcky : chromatografická vyvíjecí komora
chromatografická tenká vrstva typu Silikagel G
mikropipeta
odměrné válce 50, 25 a 5 ml
kádinka 150 ml (3 ks)
Erlenmayerova baňka 100 ml
Petriho miska o průměru min. 12 cm
pinzeta
fixýrka
třecí miska
nálevka
filtrační papír.

Postup:

Připravíme si mobilní fázi o složení CH_3COOH -aceton-methanol-toluen (v poměru 2,5:2,5:10:35 ml). Mobilní fázi nalijeme do vyvíjecí komory ve vrstvě okolo 1 cm a komoru uzavřeme. Odvážený 1 g vzorku droždí po homogenizaci na třecí misce s 2 ml kyseliny octové převedeme do Erlenmayerovy baňky dalším podílem kyseliny octové do celkového objemu 5 ml a důkladně obsah baňky promícháme. Po filtraci extrakt použijeme přímo k vlastnímu chromatografickému stanovení. Na destičce typu Silikagel G si vyznačíme tužkou startovní linii a starty pro vzorek a standardy (1 cm od okraje a 0,5 cm od sebe). Na start nanese standardy a studovaný vzorek mikropipetou v množství 5 μl . Po oschnutí skvrn vložíme destičku do komory (start musí být nad hladinou mobilní fáze) a uzavřeme. Necháme chromatogram vyvíjet, dokud hladina vzlínající mobilní fáze nedosáhne cca 1 cm pod okraj destičky. Poté destičku vyjmeme, označíme čelo rozpouštědla a necháme oschnout volně na Petriho misce. Detekci provedeme přímo na základě zabarvení barevných vitamínů skupiny B pod UV lampou.

Vyhodnocení:

Vyhodnotíme polohy a barvy skvrn standardů a vzorku a určíme přítomné vitaminy. Z porovnání intenzity zbarvení skvrn vzorku a standardů odhadneme obsah jednotlivých vitaminů ve vzorku a vypočteme jejich přibližný obsah v mg/g vzorku. Určíme rovněž R_F pro jednotlivé standardy a vzorky.

Stanovení přírodních kyselin a vitamínu C v ovocných šťávách

Pro chromatografické stanovení přírodních polykarboxylových a hydroxykyselin lze při chromatografii na papíře použít kyselé i bazické vyvíjecí soustavy. Dokonce je velmi vhodné oba typy soustav zkombinovat v dvourozměrné chromatografii. V první fázi se chromatogram vyvíjí v alkalické soustavě, po vysušení papíru se pokračuje v kolmém směru v kyselé vyvíjecí soustavě. Množství nanášených kyselin by se mělo pohybovat v rozmezí od 20 do 100 μg . Při detekci těchto kyselin lze s výhodou využít acidobazické indikátory resp. lze využít i jejich redukčních účinků na stříbrné soli (dusičnan stříbrný v amoniakálním roztoku). Protože velmi obdobně se chová kyselina askorbová, vitamin C, lze současně stanovit i její obsah ve vzorku.

Úkol: Stanovte kyseliny přítomné ve vzorku ovocné šťávy

Chemikálie : kyselina octová

butanol

vzorek ovocné šťávy

standard kys. citronové (k. 2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylová)

standard kys. jantarové (k. butandiová)

standard kys. šťavelové (k. ethandiová)

standard kys. vinné (k. 2,3-dihydroxybutandiová)

standard kys. askorbové

roztok indikátoru methylčerveň

0,1 mol/dm⁻³ dusičnan stříbrný

5 mol/dm⁻³ amoniak

Pomůcky : chromatografická vyvíjecí komora
stojánek
chromatografický papír (např. Whatman)
mikropipeta
odměrné válce 50 a 25 ml
kádinka 150 ml (3 ks)
Petriho miska o průměru min. 12 cm
pinzeta
nálevka ve stojanu
filtrační papír.

Postup:

Připravíme si kyselou mobilní fázi o složení butanol-kyselina octová-voda (50:10:25 ml). Mobilní fázi nalijeme do vyvíjecí komory a komoru uzavřeme. Pokud vzorek ovocné šťávy obsahuje pevné částice, je nutné jej přefiltrovat. Po filtraci použijeme vzorek bez dalších úprav přímo k vlastnímu chromatografickému stanovení. Na proužku papíru si vyznačíme tužkou startovní linii a starty pro vzorek a standardy (minimálně 1 cm od okraje a 1 cm od sebe). Na start nanášíme standardy a studovaný vzorek mikropipetou v množství 5 μ l. Po oschnutí skvrn pověsíme papír do komory na věšáček tak, aby spodní část zasahovala do mobilní fáze a start byl přítom nad hladinou a komoru uzavřeme. Necháme chromatogram vyvíjet, dokud hladina vztlínající mobilní fáze nedosáhne dráhy alespoň 7 - 10 cm. Poté papír vyjmeme a necháme nejprve oschnout volně na Petriho misce a krátce dosušíme v sušárně při mírně zvýšené teplotě (do 60 °C). Detekujeme nejprve pod UV lampou. Z porovnání intenzity zbarvení skvrn vzorku a standardu odhadneme obsah jednotlivých kyselin ve vzorku. Stanovíme rovněž R_F pro standard a vzorek. Další detekci provedeme roztokem indikátoru methylčerveň, opět porovnáme intenzity zbarvení a určíme R_F . Poslední detekci provedeme amoniakálním roztokem dusičnanu stříbrného (smísíme 2 ml 0,1 M- AgNO_3 a 5 ml 5 M- NH_3). Opět porovnáme intenzity zbarvení vzniklých skvrn a jejich R_F . V závěru uvedeme R_F všech standardů a jim odpovídající stanovené kyseliny ve vzorku, včetně odhadu jejich zastoupení ve vzorku v jednotkách g/ml.

Vyhodnocení:

Vyhodnotíme polohy a barvy skvrn standardů a vzorku a určíme přítomné kyseliny. Z porovnání intenzity zbarvení skvrn vzorku a standardů odhadneme obsah jednotlivých kyselin ve vzorku ovocné šťávy a vypočteme jejich přibližný obsah v mg/g vzorku. Určíme rovněž R_F pro jednotlivé standardy a vzorky.

Infračervená spektroskopie

Infračervenými spektry se sledují vibrační a rotační přechody v molekulách. Pokud je změna těchto vibračních či rotačních stavů spojena se změnou dipólových momentů, dochází k absorpci záření charakteristické pro danou vazbu v molekule. Největší význam při identifikaci organických sloučenin má oblast spektra v rozmezí vlnočtů **400 - 4000 cm⁻¹**. V této oblasti se organické sloučeniny projevují největším počtem absorpčních pásů. Navíc oblast mezi **650 – 1500 cm⁻¹** je typická pro každou organickou látku. Neexistují tady dvě různé organické sloučeniny se stejným spektrálním projevem v této oblasti.

Značnou výhodou infračervené spektroskopie je možnost měření vzorků ve všech skupenských stavech.

Při **měření v pevné fázi** se obvykle využívá technika KBr tablet: Malé množství vzorku (1 – 10 mg) se v kulovém mlýně rozdrtí a homogenizuje s 300 – 400 mg bromidu draselného. Při tlaku přibližně 200 kPa se vylisuje tableta, přičemž se vytvoří tzv. sklovitá modifikace KBr, u níž při průchodu infračerveného záření dochází k jen malým ztrátám intenzity záření způsobené odrazem.

Při výrobě **kvalitní tablety** je nutné dodržet následující pravidla:

- vzorek s KBr homogenizujeme v mlýně zpravidla 3 minuty
- aparát na tvorbu tablety plníme vzorkem maximálně do 1/2, jinak je tableta silná
- vzorek v aparátce rozmístujeme rovnoměrně, jinak při lisování tableta praská
- při lisování neužíváme vyšší tlak, než je uvedeno, protože jinak také dochází k praskání tablety

Stále častěji se také setkáváme s technikou KBr difusní reflektance, při níž je vzorek rozdrcený s KBr umístěn v malé kovové misce a registrováno je odražené záření. Difusní reflektance vyžaduje menší množství vzorku, je časově méně náročná a zaručuje vyšší reprodukovatelnost spekter. Kromě KBr technik lze také infračervená spektra pevných látek měřit v suspenzi parafinového oleje (Nujol, Fluorolube).

Měříme-li v kapalně fázi, používáme květy zhotovených z halogenidů alkalických kovů (nejčastěji KBr, NaCl), které je nutné mimo používání uchovávat v dokonale suchém prostředí! Rovněž rozpouštědlo používané k měření nesmí obsahovat vodu. Rozpouštědlo pro měření volíme takové, aby v měřené oblasti sledované látky absorbovalo co nejméně. Koncentrace měřených roztoků většinou nepřesahuje 10% (m).

Infračervená spektroskopie dává možnost odhadnout přítomnost jednotlivých funkčních skupin v molekule organické látky.

Při interpretaci je vhodné držet se jistých základních pravidel:

- a) Postupovat od nejvyšších vlnočtů směrem k nižším
- b) U jednotlivých pásů zhodnotit jejich polohu, intenzitu, tvar a symetrii
- c) není (ani teoreticky) možné přiřadit všechny absorpční pásy jednotlivým částem molekuly

Oblast vlnočtů, v níž organické látky absorbují infračervené záření můžeme zhruba rozdělit na dvě části:

1. oblast vibrací valenčních ($4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$)

2. oblast vibrací deformačních ($1500 - 500 \text{ cm}^{-1}$)

Toto rozdělení nelze ovšem považovat za striktní a obě oblasti se vzájemně překrývají.

V oblasti **valenčních vibrací** nalezneme absorpční pásy funkčních skupin. Vlnočty absorbujících funkčních skupin jsou poměrně specifické a na zbytku molekuly závisí jen málo. Tuto část spektra můžeme dále rozdělit na další tři části:

a) v rozsahu **$4000 - 2500 \text{ cm}^{-1}$** nalezneme **valenční vibrace vazeb vodíku**. Pro organické látky připadají předně v úvahu vazby O-H, N-H a C-H. Volná vazba **O-H** absorbuje při nejvyšších vlnočtech okolo **3600 cm^{-1}** . Projevuje se hlavně v kapalných vzorcích. U pevných vzorků je projev OH skupin přehlušen absorbcí vody obsažené v KBr. V případě, že jde o hydroxyl vázaný vodíkovou vazbou, posunuje se vlnočet do nižších oblastí, pás se stává intenzivnějším a širším. Intramolekulárně a intermolekulárně vodíkovou vazbou vázaný hydroxyl rozlišíme měřením kapalných vzorků při různých koncentracích. Relativní intenzita a vlnočet intramolekulárně vázaného hydroxyly se posouvá vlnočet se snižující se koncentrací k vyšším hodnotám a pás se zužuje.

Signály N-H vazeb a O-H vazeb se mohou vzájemně překrývat, avšak pásy N-H vazeb nebývají tak intenzivní a jsou ostřejší, jelikož N-H vazby netvoří tak silné vodíkové vazby.

Signály **C-H** vazeb nalezneme v oblasti **$3300 - 2700 \text{ cm}^{-1}$** . Jednotlivé typy C-H vazeb lze od sebe v IČ spektru dobře odlišit. C-H vazby alkinů absorbují okolo 3300 cm^{-1} ostře a intenzivně. C-H vazby alkenů absorbují blízko nad 3300 cm^{-1} méně intenzivně. Valenční vibrace vazeb C-H v nasycených systémech se projevuje pod 3000 cm^{-1} několika zřetelnými pásy. Aromatické C-H vazby poskytují v IČ spektru málo intenzivní, často překryté signály v rozmezí $3100 - 3000 \text{ cm}^{-1}$.

b) rozsah vlnočtů **2500 – 1900 cm⁻¹** je oblastí absorpce **trojných vazeb**, oblast je charakteristická pro nitrily a alkiny. Nepřítomnost nitrilového pásu nemusí znamenat nepřítomnost nitrilové skupiny ve zkoumané sloučenině.

c) v oblasti **1900 – 1500 cm⁻¹** absorbují **dvojně vazby**. Nejintenzivnější pásy zde poskytují karbonylové skupiny, které nalezneme v rozsahu 1800 – 1600 cm⁻¹. U derivátů karboxylových kyselin platí, že vlnočty karbonylu se zvyšuje v řadě amidy primární, amidy sekundární, karboxylové kyseliny, estery, chloridy, anhydridy.

Následující tabulka podává **přehled vybraných valenčních vibrací**.

Tabulka 2: Přehled vybraných valenčních vibrací

Absorbující vazba	Přibližný vlnočty (cm ⁻¹)	Intenzita píku a vzhled
O-H volná	3600	Střední
O-H (alkoholy, fenoly), vázaná intermolek. vodíkovým můstkem	3500 – 3100	Silná, široký pás
O-H (alkoholy, fenoly), vázaná intramolek. vodíkovým můstkem	3400 – 2500	Silná
N-H (aminy primární)	3500 – 3000	Střední, zdvojený pás
N-H (aminy sekundární)	3500 – 3000	Střední
N-H (amidy primární)	3500 – 3300	Střední, zdvojený pás
N-H (aminy sekundární, laktamy)	3450 – 3300	Střední
C-H (alkany)	2980 – 2850	Slabá, zdvojený pás
C-H (alkiny)	3300	Silná
C-H (alkeny)	3100 – 3000	Slabá
C-H (aromatické)	3050 – 2950	Velmi slabá
C-H (aldehydické)	2900 – 2700	Slabý, zdvojený pás
C≡C	2250 – 2100	Slabá až střední
C≡N	2270 – 2200	Silná, velmi ostrý
C=O (anhydridy)	1850 – 1800 a 1790 – 1740	Silná
C=O (chloridy kyselin)	1820 – 1790	Silná
C=O (estery)	1750 – 1730	Silná

C=O (amidy primární)	1690 – 1600	Silná
C=O (amidy sekundární)	1700 – 1670 a 1550 – 1500	Silné
C=O (aldehydy, ketony)	1740 – 1695	Silná
C=O (ketony cyklické šestičlenné)	1730 – 1700	Silná
C=O (ketony cyklické pětičlenné)	1750 – 1740	Silná
C=C (alkeny)	1680 – 1640	Slabá
C=C (dieny)	1650 – 1600	Silná, zdvojený pás
C=C (aromáty)	1600 – 1500	Střední, zdvojený až ztrojený pás
C=N	1700 – 1620	Střední až silná
NO₂	1550 a 1350	Silná
C-O (alkoholy, ethery, estery)	1300 – 1100	Silná
C-F	1400 – 1000	Střední
C-Cl	800 – 600	Střední
C-Br	600 – 500	Střední
C-I	500 – 400	Střední

V druhé zmíněné oblasti $1500 - 500 \text{ cm}^{-1}$ nacházíme tedy projevy *deformačních vibrací*. Tuto oblast lze pro danou sloučeninu jen stěží přesně interpretovat, neboť zde dochází ke spřáhování vibrací. Malá změna ve struktuře matečné sloučeniny se silně odrazí v souboru frekvencí této oblasti. Často se také tato část spektra nazývá „oblast otisku palce“, neboť soubor frekvencí zde nalezený je pro každou sloučeninu naprosto charakteristický a lze jej využít pro identifikaci neznámé látky na základě srovnání s katalogizovanými spektry. Mimo deformačních vibrací zde nalezneme také projevy některých valenčních vibrací. Mezi nejdůležitější patří projevy vazeb C-halogen, jejichž vlnočety klesá v pořadí C-F, C-Cl, C-Br, C-I. Do části spektra $1250 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ spadá také valenční vibrace vazby C-O alkoholů a fenolů.

Následující tabulka podává **přehled významných charakteristických deformačních vibrací**.

Tabulka 3: Přehled významných deformačních vibrací

Absorbující vazba	Přibližný vlnčet (cm^{-1})	Typ vibrace (rovinná δ , mimorovinná γ)	Intenzita signálu
N-H (prim. aminy)	1650 – 1590	δ	Střední až silná
N-H (sek. aminy)	1580 – 1480	δ	Slabá
C-H (alkany)	1470 – 1460	δ	Střední
CH ₃	1370 – 1360	δ	Silná
CH ₂ (konc. alkeny)	1360	δ	Slabá
C-H (alkany)	790 – 700	γ	Silná
C=C (alkeny)	890 – 990	γ	Silná
C-H arom.	850 – 730	γ	Silná

Úkol: Změřit IČ spektra vybraných sloučenin a poté i neznámého vzorku. Určit, o jakou sloučeninu se jedná.

Chemikálie: bromid draselný
vzorky vybraných sloučenin

Pomůcky: třecí miska s tloučkem
špachtlička
tabletovač (lis na tablety)
infračervený spektrofotometr s PC

Nejprve si rozetřeme vysušený bromid draselný (slepý vzorek) ve třecí misce, potom jej část (necelá 1 špachtlička) nasypeme do tabletovače, přikryjeme vrchní částí tabletovače, umístíme do lisu a vylisujeme tabletu, kterou se střední částí tabletovače umístíme do držáku a ten do spektrofotometru. (Pozn. Dobře vylisovaná tableta KBr je průhledná.) Změříme spektrum a uložíme jej.

Odvážíme si potřebné množství vybrané vysušené sloučeniny a vysušeného bromidu draselného. Vše důkladně rozetřeme ve třecí misce. Potom nabereme asi necelou jednu špachtličku této směsi a nasypeme do tabletovače (musí být zakryté dno). Přidáme vrchní část tabletovače, umístíme do lisu a vylisujeme tabletu. Střední část tabletovače s tabletou umístíme do držáku a ten dále do spektrofotometru. Změříme spektrum, které si nezapomeneme uložit.

Nakonec nasypeme vysušený vzorek (směs neznámé látky s KBr, takže už jej nemusíme k neznámému vzorku přidávat) do tabletovače, vylisujeme tabletu a změříme spektrum.

Tabulka 4: Mísení měřené sloučeniny s KBr pro přípravu tablety

<i>sloučenina</i>	<i>m</i>	<i>m (KBr)</i>
2,4-dinitroanilin	0,03 g	1,5 g
2-aminofenol	0,03 g	3,0 g
imid kys. ftalové	0,03 g	1,5 g
kys. 3,5-dinitrobenzoová	0,03 g	3,0 g
kys. 3,5-dinitrosalicylová	0,03 g	3,0 g
kys. 4-dimethylaminobenzoová	0,03 g	3,0 g
kys. antranilová	0,03 g	1,5 g
kys. benzoová	0,03 g	3,0 g
kys. ftalová	0,02 g	3,0 g
kys. šťavelová	0,03 g	1,5 g
m-dinitrobenzen	0,03 g	1,5 g
p-nitrobenzaldehyd	0,03 g	1,5 g
p-nitrofenol	0,04 g	3,0 g
pyrogallol	0,03 g	1,5 g
kys. p-nitrobenzoová	0,03 g	1,5 g

Vyhodnocení:

Na základě změřených spekter přiřadíme jednotlivé vlnočty signálů daným vibracím a u neznámého vzorku určíme, o jakou látku se jedná.

Spektrofotometrické stanovení v analýze vod

Ultrafialová a viditelná spektrofotometrie

Princip metody

Spektrofotometrie je založena na interakci elektromagnetického záření a molekulou stanovované látky, kterou dané elektromagnetické záření prošlo. Pokud měřená látka je schopná absorbovat elektromagnetické záření, bude se prošlý tok záření lišit od vstupního. Úkolem spektrofotometrie je pak studovat, při jakých vlnových délkách a k jak intenzivnímu pohlcení záření došlo.

Molekuly mají schopnost pohlcovat elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek. Je to dáno tím, že mohou existovat jen v určitých kvantových stavech, které se liší obsahem energie. Jestliže má molekula přejít ze stavu s nižší energií do stavu s energií vyšší musí absorbovat záření o frekvenci ν , která právě odpovídá rozdílu energií mezi energetickými hladinami E_2 a E_1 obou kvantových stavů podle Planckovy podmínky:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad [3]$$

kde

c je rychlost světla, λ vlnová délka, h Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J·s).

Podstatou UV a Vis spektrometrie je absorpce UV a Vis záření (200 až 800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů. Proto tato spektra nazýváme elektronová a spektrometrii elektronovou spektrometrií. Nejnáročnější jsou přechody mezi elektronovými energetickými hladinami. K těmto přechodům dochází při absorpci ultrafialového (190 až 400 nm) a viditelného záření (400 až 800 nm). Absorpce záření se měří na přístrojích, které se nazývají absorpční spektrofotometry.

Podíl zářivých toků Φ (prošlý tok záření) a Φ_0 (vstupující tok záření) se nazývá propustnost neboli transmittance T

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0} \quad [4]$$

Na spektrofotometru můžete odečíst i absorbanci A , tedy záporně vzatý logaritmus propustnosti:

$$A = -\log T = \log \left(\frac{\Phi_0}{\Phi} \right) \quad [5]$$

Závislost propustnosti či absorbance na vlnové délce se nazývá *absorpční spektrum*.

Kvantitativní analýza je založena na *Lambert-Beerově zákoně*, podle kterého je hodnota absorbance A při vlnové délce λ přímo úměrná látkové koncentraci c . Lambert-Beerův zákon platí pro monochromatické záření a pro nízké koncentrace, řádově menší než 10^{-2} mol/l. Nejjednodušším ověřením platnosti tohoto zákona je proměření závislosti absorbance na různé koncentraci několika kalibračních roztoků při stejné vlnové délce a ve stejné kyvetě. Výsledná závislost musí být přímková a nazýváme ji *kalibrační křivkou*.

Spektrofotometrické stanovení fosforečnanů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah fosforečnanů ve vodě

Chemikálie: 0,07165 g dihydrogenfosforečnan draselný KH_2PO_4
13,3 ml kyselina sírová H_2SO_4
1 g molybdenan amonný $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
0,06875 g vinan antimonylo-draselný $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$
0,088 g kyselina askorbová ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 50 ml, 25 ml (8 ks)
kádinka 250 ml, 100 ml (2 ks)
váženka
lžička
spektrofotometr a kyvety
stopky

Postup:

Dihydrogenfosforečnan draselný (KH_2PO_4), zásobní roztok standardu ($c = 0,005268$ mol/l):

Pro přípravu zásobního roztoku se naváží 71,65 mg vysušeného dihydrogenfosforečnanu draselného (sušení 2 hodiny při 105°C). Toto množství bylo rozpuštěno v destilované vodě v odměrné baňce 100 ml a doplněno destilovanou vodou po rysku. *Pozn.* Před vlastním měřením se zásobní roztok 50x naředí.

Kyselina sírová (H_2SO_4), ($c = 2,5$ mol/l):

Za stálého chlazení a míchání se přidá 13,3 ml 96% kyseliny sírové do 100 ml odměrné baňky se 75 ml destilované vody a doplní se po rysku destilovanou vodou.

Molybdenan amonný ((NH₄)₆MoO₂₄·4H₂O):

Ve 25 ml odměrné baňce se rozpustí 1 g molybdenanu amonného v destilované vodě.

Vinan antimonylo-draselný (K(SbO)C₄H₄O₆·0,5 H₂O) - působí jako katalyzátor:

Ve 25 ml odměrné baňce se rozpustí 0,06875 g vinanu antimonylo-draselného v destilované vodě.

Kyselina askorbová (C₆H₈O₆):

V 50 ml odměrné baňce se rozpustí 0,88 g kyseliny askorbové a doplní se do 50 ml destilovanou vodou.

Směsný roztok:

Do kádinky s 50 ml kyseliny sírové (2,5 mol/l) bylo za stálého míchání přidáno 15 ml připraveného roztoku molybdenanu amonného, 5 ml roztoku vinanu antimonylo-draselného a 30 ml roztoku kyseliny askorbové. Pro uchování roztoku je nutné ho skladovat v chladu a tmavé láhvi. Pak je roztok stálý asi 2 měsíce.

Spektrofotometrické stanovení:

Pro spektrofotometrické stanovení je potřeba šest odměrných baněk o objemu 25 ml. Do baněk se napipetuje dané množství (postupně 1,25; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5ml) 50x zředěného standardního zásobního roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného. Do každé baňky se dále přidá 3,25 ml směsného roztoku. Odměrné baňky se doplní destilovanou vodou po rysku a roztok se promíchá. Po 30 minutách se změří hodnoty absorbance proti slepému vzorku v 1 cm kyvetách při vlnové délce 880 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem (odměrná baňka se naplní z $\frac{3}{4}$ analyzovanou vodou, přidá se 3,25 ml směsného roztoku, baňka se doplní analyzovanou vodou po rysku a roztok se promíchá). Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 5: Příprava kalibračních roztoků (PO₄)³⁻.

V KH ₂ PO ₄ (ml)	c (PO ₄) ³⁻ (mg/l)	Absorbance (λ=880 nm)
1,25	0,5	
2,5	1	
5	2	
7,5	3	
10	4	
12,5	5	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistěte obsah fosforečnanů ve vzorku vody. Dle obsahu fosforečnanů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Spektrofotometrické stanovení amonných iontů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah amonných iontů ve vodě

Chemikálie: 0,3714 g chlorid amonný NH_4Cl
10 g salicylan sodný $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$
20 g dihydrát citronan sodný $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
2,5 g hydroxid sodný NaOH
0,1 g nitroprusid sodný $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0,2 g dichlorisokyanuratan $\text{C}_3\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 50 ml, 25 ml (10 ks)
kádinka 100 ml
pipety
třecí miska s tloučkem
váženka
lžička
spektrofotometr a kyvety

Postup:

Chlorid amonný (NH_4Cl), zásobní roztok standardu:

V odměrné baňce o objemu 100 ml se rozpustí v destilované vodě 371,4 mg vysušenému chloridu amonného (2 hodiny při 105 °C). Zásobní roztok se uchovává v tmavé láhvi a v chladu. Roztok je stálý alespoň měsíc. *Pozn.* Pro měření se zásobní roztok 50x naředí.

Činidlo I:

V kádince s 50 ml destilované vody se rozpustí 10 g salicylanu, 10 g citronanu a 2,5 g NaOH .

Činidlo II:

V třecí misce se rozetře 0,1 g nitroprusidu, 0,2 g dichlorisokyanuratanu a 10 g citronanu.

Spektrofotometrické stanovení:

Do šesti odměrných baněk o objemu 25 ml se napipetuje dané množství 50x zředěného zásobního roztoku standardu o známé koncentraci (postupně 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 ml). Do každé baňky se přidá 10 kapek činidla I a lžička činidla II. Baňky se promíchají a doplní se destilovanou vodou po rysku. Po 10 minutách se změří hodnoty

absorbance proti slepému vzorku v 1 cm kyvetách při vlnové délce 660 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem. Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 6: Příprava kalibračních roztoků $(\text{NH}_4)^+$.

V NH_4Cl (ml)	c $(\text{NH}_4)^+$ (mg/l)	Absorbance ($\lambda=660$ nm)
0,25	0,25	
0,5	0,5	
0,75	0,75	
1	1	
1,25	1,25	
1,5	1,5	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistíte obsah amonných iontů ve vzorku vody. Dle obsahu amonných iontů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Spektrofotometrické stanovení dusitanů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah dusitanů ve vodě

Chemikálie: 0,375 g dusitan sodný NaNO_2
10 ml kyselina fosforečná H_3PO_4
4 g amid kyseliny sulfanilové $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$
0,2 g NED dihydrochlorid (N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamin
dihydrochlorid) ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{NH}_2\cdot 2\text{HCl}$)
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml a 25 ml (8x)
pipety
váženka
lžička
spektrofotometr a kyvety

Postup:

Dusitan sodný (NaNO_2), zásobní roztok standardu ($c = 0,013588 \text{ mol/l}$):

Ve 100 ml odměrné baňce se rozpustí 375 mg dusitanu sodného. Baňka se doplní destilovanou vodou po rysku. Roztok se uchovává v chladu a v uzavřené tmavé skleněné láhvi. *Pozn.* Pro měření se zásobní roztok 100x zředí.

Vybarvovací činidlo:

Do 100 ml odměrné baňky s destilovanou vodou se napipetuje 10 ml kyseliny fosforečné. Potom se přidá 4 g amidu kyseliny sulfanilové, 0,2 g NED dihydrochloridu a doplní se destilovanou vodou po rysku.

Spektrofotometrické stanovení:

Do šesti odměrných baněk objemu 25 ml se napipetuje postupně 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5 ml standardního 100x zředěného zásobního roztoku dusitanu sodného. Do každé odměrné baňky se pak přidá 10 kapek vybarvovacího činidla. Pak se baňky doplní po rysku destilovanou vodou. Absorbance se změří po 10 minutách proti slepému vzorku v 1 cm kyvetách při vlnové délce 540 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem. Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 7: Příprava kalibračních roztoků (NO₂)⁻.

V NaNO ₂ (ml)	c (mg/l) (NO ₂) ⁻	Absorbance (λ= 540 nm)
0,25	0,25	
0,5	0,5	
0,75	0,75	
1	1	
1,5	1,5	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistěte obsah dusitanů ve vzorku vody. Dle obsahu dusitanů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Spektrofotometrické stanovení dusičnanů ve vodách

Úkol: Spektrofotometricky stanovte obsah dusičnanů ve vodě

Chemikálie: 0,4076 g dusičnan draselný KNO_3
10 ml kyselina fosforečná H_3PO_4
1 g amid kyseliny sulfanilové $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$
0,05 g NED dihydrochlorid (N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamin
dihydrochlorid) ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{NH}_2\cdot 2\text{HCl}$)
práškový zinek Zn
síran sodný Na_2SO_4
vzorek vody (donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 25 ml
kádinka
pipety
třecí miska s tloučkem
spektrofotometr a kyvety

Postup:

Dusičnan draselný (KNO_3), zásobní roztok standardu:

Ve 100 ml odměrné baňce se rozpustí v destilované vodě 0,4076 g dusičnanu draselného a doplní destilovanou vodou po rysku. *Pozn.* Pro měření musí být zásobní roztok 10x naředěn.

Vybarvovací činidlo:

Do odměrné baňky o objemu 25 ml s destilovanou vodou se napipetuje 10 ml kyseliny fosforečné. Dále se přidá 1 g amidu kyseliny sulfanilové a 0,05 g NED dihydrochloridu. Baňka se doplní destilovanou vodou po rysku.

Redukční činidlo:

K redukci dusičnanů na dusitany se použije práškový zinek. Zinek je potřeba naředit s inertní látkou, neboť při redukci zinkem vzniká velké množství vodíku. Docházelo by tak k chybám v měření. Zinek se naředí síranem sodným v poměru 1:20 a směs dokonale rozetře v třecí misce.

Spektrofotometrické stanovení:

Do šesti odměrných baněk objemu 25 ml se napipetuje 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; ml zásobního 10x zředěného roztoku dusičnanu draselného. Do každé baňky se poté napipetuje 0,5 ml kyseliny fosforečné. Potom se přidá 10 kapek vybarvovacího činidla a malé množství (malou lžičku) práškového zinku naředěného síranem sodným. Odměrné baňky se doplní destilovanou vodou po rysku a 10 minut se reakční směs nechá reagovat. Absorbance se měří v 1 cm kyvetách proti slepému vzorku při vlnové délce 540 nm. Stejný postup se provede s analyzovaným vzorkem. Z kalibrační přímky se pak následně určí koncentrace neznámého vzorku.

Tabulka 8: Příprava kalibračních roztoků (NO_3^-).

V KNO_3 (ml)	c (NO_3^-) (mg/l)	Absorbance ($\lambda=540$ nm)
0,5	4	
1	8	
2	16	
3	24	
4	32	
5	40	

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační přímky zjistíte obsah dusičnanů ve vzorku vody. Dle obsahu dusičnanů určete, do jaké třídy jakosti vod patří.

Záchyt a stanovení oxidů dusíku v ovzduší

Sloučeniny dusíku v ovzduší se vyskytují jako oxidy, kyselina dusičná a amoniak. Oxidy dusíku NO_x jsou v atmosféře převážně ve formě oxidu dusného, dusnatého, dusitého a dusičitého. Oxid dusný není považován za škodlivinu. Pokud hovoříme o oxidech dusíku jako o škodlivinách, jsou tím míněny NO a NO_2 .

Působení bakterií v anaerobních podmínkách je hlavním zdrojem oxidu dusnatého - NO. Roční globální emise se odhadují na $4,5 \cdot 10^{10}$ kg·rok⁻¹, průměrné koncentrace pozadí se pohybují pod 10 ppb (V/V). Oxidace NO na NO_2 , tvorba nitrátů a pravděpodobně i další mechanismy limitují střední dobu existence jak NO, tak i NO_2 v atmosféře na tři až čtyři dny. Produkce oxidů dusíku závislá na činnosti člověka, je poměrně malá, asi $5 \cdot 10^{10}$ kg·rok⁻¹ vyjádřená jako NO_2 . Toto množství je však soustředěno do hustě obydlených oblastí. Automobilové motory přispívají k těmto emisím asi 40 %, elektrárny 21 % a průmyslové teplárny asi 20 %. Primárním produktem spalování je oxid dusnatý, vznikající reakcí vzdušného dusíku a kyslíku při teplotách $>1000^\circ\text{C}$. NO dále reaguje s kyslíkem a tvoří reaktivnější NO_2 . Oxidy dusíku zvyšují oxidační potenciál atmosféry a působí nepříznivě na vnitřní orgány. Předpokládá se, že NO_x se v krvi váží na červené krevní barvivo a zhoršují přenos kyslíku z plic do tkáně. Některé náznaky ukazují, že oxidy dusíku mají určitou roli při vzniku nádorových onemocnění. Ve vyšších koncentracích působí NO_x dráždivě na dýchací cesty.

Všechny studie charakterizují oxid dusičitý jako podstatně škodlivější polutant než oxid dusnatý. Při vyšších koncentracích reaguje oxid dusičitý s nenasycenými mastnými kyselinami adicí na dvojnou vazbu a produkuje kyseliny obsahující $-\text{NO}_2$ skupinu. Při nízkých koncentracích (řádově ppm NO_2) iniciace začíná převážně abstrakcí allylického vodíku. Přitom vzniká molekula HNO_2 , která může působit na organické aminy za vzniku nitrosaminů.

V ovzduší může docházet jak k oxidaci NO, tak k redukcí NO_2 . Většina NO_x však nakonec přejde na nejstabilnější formu, kterou je kyselina dusičná. Reakcí kyseliny HNO_3 s prachovými alkalickými částicemi, jako jsou CaO a MgO, případně s NH_3 , vznikají tuhé částice, které jednak sedimentují, jednak jsou z atmosféry vymývány srážkami. Množství dusíku, které se nyní dostává do půdy, už není zanedbatelné v porovnání s množstvím dodávaným v hnojivech. Ionty NO_3^- příznivě ovlivňují růst rostlin, ale při vyšších koncentracích dochází k úhynu ryb a k nežádoucímu rozmnožení některých druhů vodních rostlin. Imisní limity obou oxidů v ovzduší se přepočítávají na oxid dusičitý.

Ke stanovení NO_x jsou používány zejména metody:

- a) chemiluminiscenční
- b) fotometrická
- c) coulometrická

Fotometrická metoda stanovení

Fotometrická metoda je založena na absorpci NO_2 v roztoku s následnou diazotační a kopulační reakcí, přičemž absorpce může probíhat jak v kyselém, tak i v alkalickém roztoku. Absorpce v kyselém prostředí se v současné době již nepoužívá. K alkalické absorpci NO_2 se používá roztok 0,1 M NaOH s přídavkem 0,05% 2-methoxyfenolu (guajakolu) k potlačení disproportionace NO_2 . Jako absorpční kapalina se používá též triethanolamin. Dokonalost absorpce závisí na rychlosti průtoku vzduchu absorberem. Např. pro absorber o objemu 100 ml se 40 ml absorpčního roztoku, se doporučuje průtok vzduchu $0,35 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$. K exponovanému absorpčnímu roztoku se přidá naftylethylendiamin a potom kyselina sulfanilová nebo její amid v kyselině fosforečné. Červené zbarvení se měří fotometricky při 540 nm. Pokud má být stanoven i oxid dusnatý, je třeba vzduch před absorpcí oxidovat v trubičce naplněné oxidem chromovým na křemelině.

Úkol: Stanovte obsah oxidů dusíku v ovzduší

Chemikálie: 75 mg dusitanu sodného NaNO_2
0,1 mol/l hydroxid sodný NaOH
2-methoxyfenol
0,5 g amid kyseliny sulfanilové
0,025 g N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochlorid
2,5 ml kyselina fosforečná H_3PO_4

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml (2ks), 50 ml (2ks), 25 ml (6 ks)
pipeta dělená 5 ml (1 ks), dělená 2 ml (1 ks)
odměrný válec 100 ml
váženka + špachtle
pipetovací balonek
membránové čerpadlo

absorber
spektrofotometr a kyvety (1 cm)
váhy (přesnost 1 mg)

Postup:

Příprava roztoků:

Základní roztok NaNO₂:

75,0 mg se rozpustí ve 100 ml destilované vody; 0,72 molu NaNO₂ = 1 mol NO₂;
1 ml tohoto roztoku odpovídá 0,5 mg NO₂.

Standardní roztok NaNO₂ :

1 ml základního roztoku NaNO₂ se zředí v odměrné baňce redestilovanou vodou do 100 ml. 1 ml roztoku odpovídá 5 µg NO₂.

Vybarvovací roztok:

do 25 ml odměrné baňky se nalije 15 ml destilované vody, napipetuje 2,5 ml konc. H₃PO₄, přidá 0,5 g amidu kyseliny sulfanilové, 0,025 g N-(1-naftyl)ethylendiamin dihydrochloridu a doplní destilovanou vodou po rysku.

Odběr vzduchu :

Zkoumaný vzorek vzduchu se přesává přes absorbér naplněný 20 ml absorpčního roztoku (0,1 M NaOH s přidavkem 0,05 % 2-methoxyfenolu). Odebírá se 20 litrů vzduchu při průtoku 0,5 l.min⁻¹.

Kalibrační křivka:

Do 25 ml odměrných baněk se odměří 0,25; 0,50; 1,0; 1,5; 2,5 ml standardního roztoku NaNO₂, tj. 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 µg NO₂ v 1 ml. Do každé baňky se přidá 2 ml vybarvovacího roztoku, promíchá se, doplní se destilovanou vodou po rysku a opět se promíchá. Po 20 minutách se změří absorbance při 540 nm.

Postup stanovení :

Z absorbéru se odebere absorpční roztok do 25 ml odměrné baňky, přidá se 2 ml vybarvovacího roztoku, promíchá se, doplní destilovanou vodou po rysku a opět se promíchá. Po 20 minutách se na spektrofotometru změří absorbance při 540 nm. Z kalibrační křivky se

zjistí obsah NO_2 v 1 ml absorbentu. Získaný výsledek se přepočte na objem prosávaného vzduchu.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vyhodnocení:

Na základě kalibrační křivky vypočtete obsah NO_2 v 1 ml absorbentu, pak získaný výsledek přepočítejte na 20 l prosátého vzduchu přes absorbér a následně na 1 m^3 vzduchu. Obsah NO_2 v 1 m^3 vzduchu pak porovnejte s tabulkovými imisními limity obsahu NO_2 v 1 m^3 vzduchu.

Volumetrie v analýze vod

Odměrná (titrační) stanovení (jinak též volumetrie), patří mezi klasické metody kvantitativní analýzy, které si i přes prudký nástup instrumentálních metod udržely v analytické praxi významnou pozici díky jednoduchosti provedení při vysoké přesnosti stanovení zejména koncentrovaných soustav. Základem metody je rychle a kvantitativně probíhající reakce mezi stanovovanou látkou (analytem) v roztoku a přidávaným roztokem titračního činidla (odměrným roztokem) o známé koncentraci. Okamžik, kdy dojde podle stechiometrie příslušné reakce k přesnému vyrovnání množství analytu i činidla – bod ekvivalence, je indikován buď vizuálně na základě barevné či jiné změny roztoku analytu (obvykle za přídavku indikátoru) nebo objektivně vhodnou instrumentální metodou (pH, vodivost). Podle typu probíhající chemické reakce mezi analytem a titračním činidlem rozlišujeme acidobazické, redoxní, srážecí a komplexometrické titrace, podle způsobu provedení pak titrace přímé a zpětné. Při zpětné titraci se k roztoku analytu o známém objemu přidá nejprve přesné množství odměrného činidla v nadbytku a ten se pak určí zpětnou titrací vhodným odměrným roztokem (např. jodometrie).

Vlastní provedení odměrného stanovení tak spočívá v přidávání titračního činidla z kalibrované nádoby – byrety ke známému objemu V_a roztoku analytu. Aby bylo možno z hodnoty přidaného objemu V_t titračního činidla v bodě ekvivalence určit koncentraci c_a analytu, je třeba znát přesnou koncentraci c_t tohoto činidla, který se určí opět titračně za pomoci vhodného standardu. V některých případech je přímo samo titrační činidlo standardem (NaCl v argentometrii). Pro výpočet stanovované koncentrace analytu je navíc třeba tzv. titrační faktor (f_t), což není nic jiného než poměr stechiometrických koeficientů analytu a titračního činidla v reakci probíhající při titraci. Samotný výpočet pak probíhá na základě podmínky chemické ekvivalence obou roztoků:

$$c_a = f_t \cdot V_t \cdot c_t / V_a \quad [6]$$

Při analýze vod se odměrná analýza využívá zejména pro zjištění skupinových ukazatelů znečištění – tzv. chemická spotřeba kyslíku $CHSK_{Mn}$ realizovaná manganistanovou metodou, resp. $CHSK_{Cr}$ při níž se titrace provádí odměrným roztokem dichromanu draselného. Další oblastí využití jsou pak zejména anorganické ionty vyskytující se ve vodách ve vyšších než stopových koncentracích – zde se jedná hlavně o ionty Ca^{2+} a Mg^{2+} způsobující tzv. tvrdost vody, mnohdy např. o ionty Cl^- a další. Poslední oblast využití odměrných metod v analýze vod je pak neutralizační kapacita vody, důležitá zejména z hlediska znečištění látkami kyselé či zásadité povahy.

Nároky na vlastní stanovení (zejména hodnoty limitních množství znečišťujících látek) se odlišují podle typu vod, které jsou podrobovány analýze. Různé typy vod rozlišujeme podle několika kritérií – původu, výskytu a použití. Podle původu se vody dělí na přírodní a odpadní. Přírodní vody se pak podle výskytu dělí na atmosférické, povrchové a podzemní, v některých případech pak ještě zvláštní (např. minerální vody). Podle použití je pak rozeznávána voda pitná, užitková, provozní a odpadní, ale existují i další speciální typy - kojenecká, stolní balená voda a další. Je jasné, že požadavky např. na pitnou vodu a vodu provozní budou v mnoha směrech odlišné, z hlediska odměrných stanovení jsou tu např. odlišné nároky na celkovou tvrdost vody. Při analýze všech typů vod se řídíme příslušnými normami, pro vodu pitnou je to v současné době vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 376/2000 Sb., pro vodu povrchovou jsou to zejména nařízení vlády ČR č. 82/1999 Sb. stanovující ukazatele přípustného znečištění povrchových vod a ČSN 75 7221 „Klasifikace jakosti povrchových vod“. Podle této normy se dělí tekoucí povrchové vody do pěti tříd jakosti podle svého znečištění, jedním z hlavních ukazatelů je zde již zmíněná $CHSK_{Cr}$.

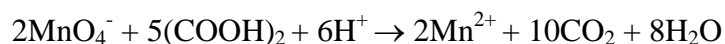
Stanovení $CHSK_{Mn}$ - chemické spotřeby kyslíku manganistanovou metodou

Chemická spotřeba kyslíku je v principu případem redox titrace, při níž jsou organické látky ve vzorku vody oxidovány silným oxidačním činidlem. Jedná se tedy o nespecifický ukazatel související zejména s mírou organického znečištění vody. Manganistanová (Kubelova) metoda určení $CHSK_{Mn}$ je používána hlavně pro pitné a přírodní vody. Podle NV č. 82/1999 Sb. je nejvyšší přípustná hodnota $CHSK_{Mn}$ pro vodárenské toky 7 mg/l a pro ostatní povrchové vody 20 mg/l. Pro pitnou vodu určuje vyhláška MZ č. 376/2000 Sb. meznou hodnotu tohoto ukazatele na 3,0 mg/l. Hlavní nevýhodou této metody je, že nedochází ke kvantitativní oxidaci všech organických látek přítomných ve vodě, takže jeho hodnota má spíše informativní charakter o znečištění vody. Dichromanová metoda $CHSK_{Cr}$ má sice vyšší vypovídací hodnotu o organickém znečištění zejména odpadních vod (kvantitativní oxidace většiny organických látek ve vodě na rozdíl od manganistanové metody) je však velice pracná, časově náročná a využívá se při ní velké množství toxických chemikálií. Při obou stanovení ruší vyšší koncentrace Cl^- iontů (přibližně nad 300 mg/l Cl^-) a proto je vhodné je před stanovením odstranit nebo vzorek vody přiměřeně naředit.

Princip stanovení :

Princip manganistanové metody spočívá v oxidaci organických látek (obsažených ve vzorku vody) manganistanem draselným v kyselém prostředí kyseliny sírové při

desetiminutovém varu. Oxidace musí probíhat za přebytku manganistanu (minimálně 40%). Úbytek manganistanu, tj. množství spotřebované na oxidaci organických látek, se zjistí odměrným manganometrickým stanovením tak, že po ukončené oxidaci se do reakčního roztoku přidá známé množství standardního odměrného roztoku kyseliny šťavelové, která se zpětně titruje odměrným roztokem manganistanu draselného (standardizace za pomoci kyseliny šťavelové):



Hodnota ukazatele se počítá dle vztahu:

$$\text{CHSK}_{\text{Mn}} = f_t \cdot c_t \cdot (V_t - V_s) \cdot M(\text{O}) \cdot 10^3 / V_v \quad [7]$$

kde V_t je spotřeba odměrného roztoku manganistanu draselného pro oxidaci vzorku vody

c_t je koncentrace odměrného roztoku manganistanu draselného pro oxidaci vzorku vody

V_s je spotřeba téhož při slepém stanovení

V_v je použitý objem vzorku vody

f_t je titrační faktor, má hodnotu 5/2

$M(\text{O})$ je molární hmotnost kyslíku, na nějž je celkový výsledek analýzy přepočítáván.

Všechny objemy jsou v ml, výsledek stanovení má jednotku mg/l. 1 ml odměrného roztoku kyseliny šťavelové odpovídá 0,08 mg/l CHSK_{Mn} .

Úkol: Stanovte CHSK_{Mn} vzorku vody

Chemikálie: 0,002 mol/l odměrný roztok manganistanu draselného KMnO_4 o přes. konc.

0,005 mol/l odměrný roztok kys. šťavelové $(\text{COOH})_2$ o přes. konc.

(zř. 1:2) roztok H_2SO_4

Pomůcky: byreta 25 ml
 pipeta 20 ml (2 ks)
 pipeta 5 ml
 odměrný válec 100 ml, 10 ml
 titrační baňka 250 ml
 hodinové sklo
 kádinka 100-150 ml (3 ks)
 varné kamínky
 vaříč.



Postup:

Nejprve je nutné určit přesnou koncentraci KMnO_4 . Odměrný roztok KMnO_4 je standardizován titrací s odměrným roztokem kyseliny šťavelové \rightarrow 20 ml $(\text{COOH})_2$ (0,005 mol/l) + 5 ml H_2SO_4 (1:2) zahřát a za horka hned titrovat.

Do varné baňky se vloží několik varných kamínků a odměří se 100 ml vzorku vody. Přidá se 5 ml roztoku kyseliny sírové a 20 ml odměrného roztoku manganistanu draselného o koncentraci $c(\text{KMnO}_4) = 0,002$ mol/l a vše se promíchá. Na hrdlo baňky se položí hodinové sklo a baňka se umístí na vařič. Směs se zahřívá tak, aby se do pěti minut uvedla k varu a var se udržuje přesně deset minut. K horkému roztoku se ihned přidá 20 ml roztoku kyseliny šťavelové o $c(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4) = 0,005$ mol/l. Odbarvený horký roztok se ihned titruje odměrným roztokem manganistanu draselného $c(\text{KMnO}_4) = 0,002$ mol/l do stabilního slabě růžového zbarvení (proti bílému pozadí). Teplota vzorku při titraci nesmí klesnout pod 80°C .

K vzorku, v němž byla určena spotřeba na slepý pokus (do titrační baňky odměříme 100 ml destilované vody a provedeme titraci dle návodu nahoře) se přidá znovu 20 ml odměrného roztoku $(\text{COOH})_2$ a po zahřátí k varu se provede titrace odměrným roztokem KMnO_4 .

Hodnotu CHSK_{Mn} počítáme dle rovnice uvedené v teoretickém úvodu, která má pro použité koncentrace odměrných roztoků tvar (pro konc. roztoku KMnO_4 rovnu přesně 2 mmol/l):

$$\text{CHSK}_{\text{Mn}} = (V_t - V_s) \cdot 80 / V_v \quad [8]$$

Výsledek je opět v jednotkách mg/l O.

Poznámka:

Spotřeba odměrného roztoku KMnO_4 nesmí při oxidaci za varu překročit 60%. Pokud k tomu dojde, je třeba stanovení opakovat s menším množstvím vzorku stanovované vody. Spotřeba odměrného roztoku KMnO_4 na slepý pokus by neměla převyšovat 0,1 ml. Pokud tomu tak není, nelze ke stanovení použít příslušnou destilovanou vodu, protože obsahuje příliš velké množství oxidovatelných látek (platí pro std. hodnoty koncentrací odměrných roztoků).

Stanovení obsahu Ca^{2+} a Mg^{2+} iontů ve vodě (tvrdost vody)

Vzhledem k hojnému rozšíření vápníku a hořčíku v přírodě jsou i přírodní vody na tyto prvky obvykle velmi bohaté. V běžných podzemních i povrchových vodách se pohybuje koncentrace vápníku od desítek po několik set mg/l, hořčík bývá zastoupen obvykle méně (asi o řád nižší koncentrace). Přítomnost těchto dvou prvků zejména v pitných vodách je žádoucí, protože ovlivňují příznivě chuť vody (zejména vápník) a mohou mít i nezanedbatelný vliv na zdraví obyvatelstva (v tomto případě je důležitý naopak hořčík). Vyhláška MZ č. 376/2000 Sb. stanovuje minimální mezní hodnoty 30 mg/l pro Ca^{2+} a 10 mg/l pro Mg^{2+} , přičemž doporučené hodnoty jsou na ještě vyšší úrovni – 100 mg/l pro Ca^{2+} a 30 mg/l pro Mg^{2+} .

U povrchových vod tyto dva prvky patří naopak mezi ukazatele přípustného znečištění a u vodárenských toků by neměly být překročeny hodnoty 200 mg/l pro Ca^{2+} respektive 100 mg/l pro Mg^{2+} . U ostatních povrchových vod by neměla koncentrace iontů Ca^{2+} překračovat 300 mg/l a iontů Mg^{2+} hodnotu 200 mg/l.

I když není zcela korektní uvažovat společný vliv obou těchto prvků na vlastnosti vod, z historického hlediska je silně zažitý pojem tvrdost vody, který souvisí právě s obsahem vápníku a hořčíku ve vodách. Zejména z technologického hlediska hraje tato charakteristika vody důležitou roli ať již z hlediska čisticích procesů (praní) či z hlediska ohřevu vody. Tuto vlastnost vody zohledňoval již první způsob určování tvrdosti vody patentovaný Clarkem v roce 1847, založený na srážení roztoků mýdla. Vzhledem k dlouhé historii této vlastnosti existuje v oblasti tvrdosti vody směs různorodých jednotek, v současnosti nahrazovaný univerzálním látkovým množstvím $\text{Ca}+\text{Mg}$ v mmol/l. V evropských zemích zůstává zatím ještě hojně rozšířený německý stupeň tvrdosti - °d (°dH, °DH), pro nějž platí přepočtový vztah $1 \text{ mmol/l} = 5,6^\circ\text{d}$. Jak již bylo řečeno, je obsah vápníku a hořčíku v provozních vodách spíše nepříznivý, takže např. pro napájecí vody pro parní kotle se v závislosti na pracovním tlaku páry a tepelným poměrům v kotli pohybují doporučené obsahy těchto prvků v rozmezí 1 až 100 $\mu\text{mol/l}$. Podle tvrdosti rozlišujeme několik typů vod:

pod 2,8 °d	velmi měkká
3,9 - 7 °d	měkká
7,01 - 14 °d	středně tvrdá
14,01 - 21 °d	tvrdá
nad 21,01 °d	velmi tvrdá

Pro stanovení obsahu vápníku a hořčíku (resp. celkové tvrdosti) ve vodách je nejčastěji používána chelatometrická titrace, což je jedna ze základních komplexometrických odměrných metod.

Princip stanovení :

Při chelatometrickém stanovení obsahu vápníku a hořčíku se nejčastěji jako titrační činidlo používá tzv. Chelaton III (též komplexon), což je dvojsodná sůl kyseliny ethylendiamino-tetraoctové ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$). Výhodou této látky je, že s každým kovovým iontem vytváří komplexy 1:1, takže odpadá potíže s určením titračního faktoru. Stabilita vznikajících komplexů je obvykle závislá na hodnotě pH roztoku, takže je nutné pracovat v pufovaném prostředí s hodnotou pH odpovídající optimu pro stanovovaný iont. Bod ekvivalence se při těchto titracích určuje nejčastěji vizuálně za pomoci tzv. metalochromních indikátorů – sloučenin, které tvoří se stanovovaným kationtem rovněž komplex, který je méně stabilní, než komplex tohoto kationtu s chelatonem. V bodě ekvivalence se tento komplex rozruší a protože měl jinou barvu, než je barva volného indikátoru, dojde v této chvíli k barevné změně titrovaného roztoku. Nejpoužívanějšími metalochromními indikátory jsou eriochromčern T (sodná sůl kyseliny (1- hydroxy - naftylazo) - 6 - nitro - 4 – sulfonové) a murexid (amonná sůl kyseliny pupurové). Eriochromčern T tvoří s ionty Ca^{2+} a Mg^{2+} při $\text{pH}=6-11$ vínově červené komplexy, volný indikátor je v dané oblasti pH modrý. Murexid tvoří ve stejné oblasti pH červeně zabarvený komplex pouze s Ca^{2+} , volný indikátor je zabarven modrofialově. Titrací s murexidem jako indikátorem tedy stanovíme pouze obsah Ca^{2+} , s eriochromčerní T oba ionty a z rozdílu spotřeb při obou titracích obsah iontů Mg^{2+} ve vzorku vody.

Podle ČSN jsou pro tato stanovení doporučeny jiné typy indikátorů – pro stanovení vápníku směs indikátorů fluorexon, thymolftalexon a murexid nebo indikátor HSN, které dávají ostřejší barevnou změnu. Protože komplexy s chelatonem tvoří i další kationty kovů, přítomné ve zkoumané vodě, je třeba při jejich vysokém obsahu provést jejich odstranění či stínění.

Úkol: Stanovte tvrdost vzorku vody

Chemikálie: 0,01 mol/l odměrný roztok Chelatonu III o přesné koncentraci
0,1 mol/l roztok hydroxidu sodného NaOH
amoniakální pufr (0,5 M- NH_4Cl a 2 M- NH_3 , 1:1)
eriochromčern T
murexid.

Pomůcky: byreta 25 ml
titrační baňka 250 ml
kádinek 100-150 ml (3 ks)
odměrný válec 100 ml, 5 ml
špachtle.

Postup:

Do titrační baňky se odměří 100 ml vzorku vody, poté se přidá 5 ml amoniakálního pufru, 5 ml NH_3 (2 mol/l) a na špičku špachtle indikátor eriochromčern T a ihned se titruje odměrným roztokem chelatonu III z vínově červeného zabarvení roztoku do stabilního modrého zabarvení. Z této titrace se určí c_a (společná koncentrace $\text{Ca}+\text{Mg}$ v jednotkách mmol/l) ve vzorku vody dle vztahu:

$$c_a = c_t \cdot V_t \cdot 10^3 / V_a \quad [9]$$

kde c_t je koncentrace odměrného roztoku

V_t je spotřebovaný objem odměrného roztoku

V_a je stanovovaný objem vzorku vody.

Pro určení obsahu Ca^{2+} se do titrační baňky odměří opět 100 ml analyzované vody, přidá se 10 ml roztoku NaOH (0,1 mol/l) (a špetka MgCl_2), po přidání indikátoru murexid se titruje odměrným roztokem chelatonu III. V bodě ekvivalence přejde roztok z červené barvy do modrofialové. Koncentrace iontů Ca^{2+} v mmol/l $c(\text{Ca}^{2+})$ ve vzorku vody se pak spočte dle vztahu:

$$c(\text{Ca}^{2+}) = c_t \cdot V_t \cdot 10^3 / V_a \quad [10]$$

kde význam použitých veličin je stejný jako v předchozím vztahu.

Poznámka :

Protože vápenatý komplex s eriochromčerní T je jen velmi slabě zabarven, je v případě nízkého obsahu hořečnatých iontů zabarvení roztoku nedostačující pro přesné určení bodu ekvivalence. Z toho důvodu je třeba přidat ke vzorku stanovované vody známé množství iontů Mg^{2+} a toto množství pak z celkového výsledku analýzy odečíst.

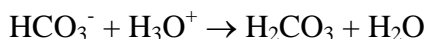
Stanovení neutralizační kapacity přírodních vod

Neutralizační kapacita (NK) popisuje schopnost vody vázat oxoniové či hydroxidové ionty a udržovat tak do jisté míry konstantní hodnotu svého pH (v čistých přírodních vodách se hodnota pH pohybuje v široké oblasti hodnot mezi 4,5 až 9,5). NK je důležitá zejména z hlediska průběhu biologických procesů v přírodních vodách, na nichž např. závisí mimo jiné samočisticí schopnost vody. U přírodních vod je hodnota NK určena převážně uhličitanovým systémem, ovšem u silně znečištěných vod a u vod odpadních mohou hrát stejně významnou či dokonce dominující roli i jiné přítomné látky kyselé či zásadité povahy. Neutralizační kapacita je definována jako látkové množství silné jednosytné kyseliny nebo silné jednosytné zásady nutné pro dosažení určité hodnoty pH u vzorku vody o objemu 1 l (jednotkou NK je mmol/l). Z uvedené definice vyplývá, že rozeznáváme kyselinovou kapacitu označovanou $KNK_{4,5}$ a zásadovou kapacitu $ZNK_{8,3}$ s indexy označujícími hodnotu pH, do které je prováděna vlastní titrace. $pH=4,5$ odpovídá volnému CO_2 ve vodě (kyselina uhličitá), $pH=8,3$ pak aniontu HCO_3^- jako rozhodující formě uhličitanového systému. Výjimečně (hlavně v případě provozních nebo odpadních vod) se určují KNK a ZNK i pro jiné hodnoty pH. Hodnota $KNK_{4,5}$ bývá rovněž nazývána alkalita či celková alkalita (u čistých vod odpovídá celkovému obsahu HCO_3^-) a hodnota $ZNK_{8,3}$ jako celková acidita (u čistých vod odpovídá obsahu rozpuštěného CO_2). I přes svůj význam pro kvalitu vod nejsou hodnoty NK kapacit obecně nijak limitovány a slouží spíše jako obecné ukazatele kvality vody, výjimku tvoří pouze některé specifické požadavky např. na vodu pro kotle v rozmezí 0,1 mmol/l až 20 mmol/l podle pracovního tlaku páry v kotli.

Stanovení NK se provádí výhradně neutralizační titrací s vizuelní nebo instrumentální indikací bodu ekvivalence.

Princip stanovení:

Stanovení kyselé neutralizační kapacity $KNK_{4,5}$ se provádí neutralizační titrací odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové. V případě přírodních vod s převládajícím uhličitanovým systémem probíhá při tomto stanovení jako hlavní reakce:



Důležitou podmínkou je, aby stanovovaný vzorek vody měl pH vyšší než 4,5. Jako vizuelní indikátor lze využít methyloaranž nebo lépe (dle ČSN) směsný indikátor (bromkresolová zeleň a methylčerveně). Hodnota $KNK_{4,5}$ se ze zjištěné spotřeby počítá podle vztahu:

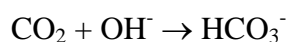
$$KNK_{4,5} = c_t \cdot V_t \cdot 10^3 / V_a \quad [11]$$

kde c_t je koncentrace odměrného roztoku

V_t je spotřebovaný objem odměrného roztoku

V_a je stanovovaný objem vzorku vody.

Zásaditá neutralizační kapacita $ZNK_{8,3}$ se určuje rovněž neutralizační titrací ale s odměrným roztokem hydroxidu sodného. Opět v případě přírodních vod s převládajícím uhličitanovým systémem probíhá při tomto stanovení jako hlavní reakce:



Důležitou podmínkou je, aby stanovovaný vzorek vody měl pH nižší než 8,3. Jako indikátor se v tomto případě používá fenolftalein. Hodnota $ZNK_{8,3}$ se ze zjištěné spotřeby počítá podle vztahu:

$$ZNK_{8,3} = c_t \cdot V_t \cdot 10^3 / V_a \quad [12]$$

kde c_t je koncentrace odměrného roztoku

V_t je spotřebovaný objem odměrného roztoku

V_a je stanovovaný objem vzorku vody.

Úkol: Stanovte neutralizační kapacitu vzorku vody

Chemikálie: 0,1 mol/l odměrný roztok kyseliny chlorovodíkové HCl

0,1 mol/l odměrný roztok hydroxidu sodného NaOH

indikátor methyloranž

směsný indikátor

indikátor fenolftalein

0,1 mol/l standardní roztok uhličitanu sodného Na_2CO_3 o přes. konc.

0,1 mol/l stand. rozt. hydrogenftalanu draselného $KHC_8H_4O_4$ o přes. konc.

Pomůcky: byreta 5 ml

pipeta 5 ml

titrační baňka 250 ml

odměrný válec 100 ml

kapátko

kádinky 100-150 ml (3 ks)

Postup:

Při stanovení $KNK_{4,5}$ odměříme 100 ml vzorku vody a titrujeme odměrným roztokem HCl po přidavku cca 3 kapek buď methyloranže ze žlutého do cibulového (oranžová s nádechem fialové) zbarvení nebo směsného indikátoru z modrého zbarvení do šedého.

Z hodnoty spotřeby odměrného roztoku do bodu ekvivalence spočteme dle výše uvedeného vztahu hodnotu $KNK_{4,5}$. Přesnou koncentraci odměrného roztoku HCl zjistíme titrací s 5 ml standardního roztoku Na_2CO_3 zředěného 100 ml dest. vody.

Při stanovení $ZNK_{8,3}$ odměříme 100 ml vzorku vody a titrujeme odměrným roztokem NaOH po přidavku cca 3 kapek fenolftaleinu do stabilního slabě růžového zabarvení. Z hodnoty spotřeby odměrného roztoku do bodu ekvivalence spočteme dle výše uvedeného vztahu hodnotu $ZNK_{8,3}$. Přesnou koncentraci odměrného roztoku NaOH zjistíme titrací s 5 ml standardního roztoku hydrogenftalanu draselného zředěného 100 ml dest. vody prosté CO_2 .

Poznámka:

Při stanovení $ZNK_{8,3}$ musíme velmi opatrně nakládat se stanovovaným vzorkem vody, abychom zejména u vod bohatých na CO_2 minimalizovali jeho únik. Týká se to zejména přelévání vzorku do titrační baňky a jen mírného míchání během titrace. Titrace by měla být provedena nejlépe okamžitě po odběru vzorku a v co nejkratším čase.

Stanovení kyseliny octové v obchodním octě

Princip:

Kyselina octová je slabá jednosytná kyselina s disociační konstantou $pK_a = 4,75$.

$$K_a = \frac{[H_3O^+] \cdot [CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 1,8 \cdot 10^{-5} \quad [13]$$

Jak vyplývá z výrazu pro disociační konstantu, je složení roztoku kyseliny octové závislé na hodnotě pH. Experimentální hodnota disociační konstanty kyseliny octové se odečte z titrační křivky jako hodnota pH v bodě, v němž je poměr koncentrací konjugované kyseliny a zásady právě roven jedné, tedy $[CH_3COOH]/[CH_3COO^-] = 1$.

Při titraci kyseliny octové hydroxidem sodným je vytvářen v titrovaném roztoku octanový pufr obsahující ještě netitrovanou kyselinu octovou a octan sodný vzniklý titrací kyseliny octové. Pufrační kapacitu octanového pufru lze v každém bodě titrace vypočítat podle vztahu:

$$\beta = \frac{d\beta}{dpH} = -\frac{da}{dpH} = 2,303 \cdot \frac{K_a \cdot [H_3O^+] \cdot (c_k + c_s)}{(K_a + [H_3O^+])^2} \quad [14]$$

kde c_k je koncentrace ještě netitrované kyseliny a c_s je koncentrace již vzniklé soli.

Neutralizace je acidobazická reakce (reakce kyselin a zásad), kterou využíváme pro kvantitativní stanovení látky ve zkoumaném vzorku. Metoda neutralizační odměrné analýzy je založena na titraci roztoku látky o neznámém složení pomocí odměrného roztoku o známé koncentraci. Bod ekvivalence se projeví změnou zbarvení acidobazického indikátoru.

Kyselinu octovou lze stanovit titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného za použití fenolftaleinu jako indikátoru (*Alkalimetrie – neutralizační odměrná analýza*) nebo za použití potenciometrické indikace bodu ekvivalence (*nepřímá potenciometrie*). Bude se měřit závislost pH titrovaného roztoku na množství přidaného titračního činidla, odměrného roztoku 0,1-M NaOH. Grafickým znázorněním titrace s potenciometrickou indikací je titrační křivka, která vyjadřuje závislost elektromotorického napětí článku na objemu přidávaného titračního činidla. Měřené hodnoty se budou zapisovat do tabulky a po jejich vynesení do grafu se získá titrační křivka kyseliny octové.

Vyhodnocením této křivky se určí ekvivalenční bod, což je pH v bodě ekvivalence.

Úkol: Potenciometricky a pak odměrnou neutralizační titrací stanovte koncentraci kyseliny octové v obchodním octě.

Chemikálie: 0,1 mol/l hydroxid sodný
0,05 mol/l kyselina šťavelová
0,5 % fenolftalein
0,05 % methylořanž
pufr 4, 7
obchodní ocet (8 %) – donese student

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml
byreta
pipeta 10 ml
kádinka 150 ml (2 ks)
titrační baňky 250 ml (4 ks)
pH-metr
tyčinka
míchačka

Postup:

Potenciometrické stanovení koncentrace kyseliny octové v obchodním octě

Nejprve stanovte přesnou koncentraci NaOH titrací odměrným roztokem kyseliny šťavelové (0,05 mol/l). Pro vlastní stanovení obsahu kyseliny octové v obchodním octě je nejprve nutné tento ocet naředit. Obchodní ocet zředěte v odměrné baňce na 100 ml 10x (odpipetujte 10 ml vzorku obchodního octa a doplňte do 100 ml v odměrné baňce destilovanou vodou po rysku). Z takto zředěného roztoku odpipetujte 10 ml do kádinky. Proveďte kalibraci pH-metru pomocí dvoubodové kalibrace (nejprve pH 7, poté pH 4). Zapište nulovou počáteční hodnotu pH vzorku. Vzorek titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M NaOH při přídavicích po 1 ml. Po každém jednotlivém přídávku titračního činidla (0,1-M NaOH) změřte pH roztoku. Titrujte do spotřeby 20 ml.

Údaje o pH roztoku vzorku a objemu titračního činidla v jednotlivých přidavcích zapisujte do tabulky. Odečtete bod ekvivalence a určete koncentraci kyseliny octové v octě.

Alkalimetrické stanovení kyseliny octové v obchodním octě

Nejprve stanovte přesnou koncentraci NaOH titrací odměrným roztokem kyseliny šťavelové (0,05 mol/l). Pro vlastní stanovení obsahu kyseliny octové v obchodním octě je nejprve nutné tento ocet naředit. Obchodní ocet zřed'te v odměrné baňce na 100 ml 10x (odpipetujte 10 ml vzorku obchodního octa a doplňte do 100 ml v odměrné baňce destilovanou vodou po rysku). Z takto zředěného roztoku odpipetujte 10 ml do titrační baňky a přidejte 2 kapky fenolftaleinu. Bezbarvý vzorek titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M NaOH do prvního trvalého fialového zbarvení. Odečtete spotřebu odměrného roztoku (0,1-M NaOH). Titraci opakujte ještě 3x a vypočítejte průměrnou spotřebu odměrného roztoku 0,1-M NaOH. Vytvořte tabulku jednotlivých spotřeb a průměrnou hodnotu spotřeby odměrného roztoku použijte pro závěrečný výpočet koncentrace kyseliny octové.

Hustoměrem změřte hustotu octu a hodnotu zapište.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Výpočty:

1. Napište rovnici reakce NaOH a $(\text{COOH})_2$, vypočtete na základě rovnice faktor titrace F_t , vypočtete přesnou koncentraci NaOH, s kterou budete dále počítat.
2. Výpočet hmotnosti kyseliny octové v obchodním octu stanovené potenciometricky a alkalimetricky.

$$m(\text{CH}_3\text{COOH}) = V_{p,a}(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{CH}_3\text{COOH}) \cdot F_t \cdot F_z \quad [15]$$

$m(\text{CH}_3\text{COOH})$ je hmotnost kyseliny octové v g;

$c(\text{NaOH})$ je látková koncentrace NaOH v mol/l;

$V_p(\text{NaOH})$ je objem odměrného činidla NaOH v bodě ekvivalence stanovené potenciometricky v l;

$V_a(\text{NaOH})$ je objem odměrného činidla NaOH v bodě ekvivalence stanovené alkalimetricky v l;

$M(\text{CH}_3\text{COOH})$ je molární hmotnost kyseliny octové;

F_t, F_z je faktor titrace, faktor zředění.

3. Výpočet koncentrace kyseliny octové v obchodním octu

$$c(\text{CH}_3\text{COOH}) = \frac{n(\text{CH}_3\text{COOH})}{V(\text{octa})} \quad [16]$$

$c(\text{CH}_3\text{COOH})$ je molární koncentrace kyseliny octové v octě v mol/l;

$n(\text{CH}_3\text{COOH})$ je látkové množství rozpuštěné látky v mol;

$V(\text{octa})$ je objem vzorku octa pipetovaný při analýze v l.

4. Výpočet hmotnostního zlomku kyseliny octové v obchodním octu

$$w_{\%}(\text{CH}_3\text{COOH}) = \frac{m(\text{CH}_3\text{COOH})}{\rho(\text{octa}) \cdot V(\text{octa})} \cdot 100 \quad [17]$$

$w_{\%}(\text{CH}_3\text{COOH})$ je hmotnostního procento kyseliny octové v octě v %

$m(\text{CH}_3\text{COOH})$ je hmotnost kyseliny octové (výpočet 6) v g

$V(\text{octa})$ je objem vzorku octu pipetovaný při analýze v l

$\rho(\text{octa})$ je hustota octa změřená hustoměrem v kg/m³

Vyhodnocení:

Do tabulek запиšte naměřené i vypočtené hodnoty potenciometrického i alkalimetrického stanovení kyseliny octové v octě.

Vypočtete koncentraci kyseliny octové v obchodním octě. Z vypočtených hodnot obsahu kyseliny octové vypočtete chybu stanovení. (Vycházejte ze skutečnosti, že obchodní ocet by měl obsahovat 8% CH₃COOH.) V závěru proved'te diskusi k rozdílně naměřeným hodnotám. Zakreslete titrační křivku kyseliny octové.

Stanovení obsahu kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®]

Princip:

Kyselina fosforečná je trojsytná kyselina a přísluší jí tedy tři disociační konstanty:

$$K_{a,1} = \frac{[H_3O^+] \cdot [H_2PO_4^-]}{[H_3PO_4]} = 7,5 \cdot 10^{-3}, \quad pK_{a,1} = 2,12 \quad [18]$$

$$K_{a,2} = \frac{[H_3O^+] \cdot [HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} = 6,2 \cdot 10^{-8}, \quad pK_{a,2} = 7,21 \quad [19]$$

$$K_{a,3} = \frac{[H_3O^+] \cdot [PO_4^{3-}]}{[HPO_4^-]} = 4,8 \cdot 10^{-13}, \quad pK_{a,3} = 12,32 \quad [20]$$

Jak vyplývá z výrazu pro disociační konstantu, je složení roztoku kyseliny fosforečné závislé na hodnotě pH. Experimentální hodnoty disociační konstanty kyseliny fosforečné se odečtou z titrační křivky jako hodnoty pH v bodech, kde jsou poměry koncentrací konjugované kyseliny a zásady právě rovny jedné, tedy:

$$\frac{[H_3PO_4]}{[H_2PO_4^-]} = 1 \quad [21]$$

$$\frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{2-}]} = 1 \quad [22]$$

$$\frac{[H_2PO_4^{2-}]}{[PO_4^{3-}]} = 1 \quad [23]$$

Nápoj typu „Cola“ obsahuje kyselinu fosforečnou (Coca-Cola[®]), případně citronovou (Pepsi-Cola[®]), jejichž koncentraci lze stanovit titrací roztokem NaOH. Tmavé zbarvení nápoje znemožňuje použití barevných indikátorů, a proto je nutno stanovit body ekvivalence potenciometricky. *Potenciometrie* je nejčastější fyzikální metodou, kde se bod ekvivalence vyhodnocuje ze závislosti napětí mezi dvěma elektrodami ponořenými v titrovaném roztoku na objemu přidávaného činidla.

Při potenciometrické titraci použijete skleněnou elektrodu jako indikační, neboli měrnou, a kombinovanou elektrodu jako referentní, neboli srovnávací. Budete měřit závislost pH titrovaného roztoku na množství přidaného titračního činidla, odměrného roztoku 0,2 M-NaOH. Měřené hodnoty budete zapisovat do tabulky a po jejich vynesení do grafu získáte titrační křivku kyseliny fosforečné. Vyhodnocením této křivky určíte ekvivalenční

body, což je pH v bodě ekvivalence. Při vyhodnocení využijeme skutečnosti, že daná kyselina je vícesytná, takže jako spotřebu k výpočtu bereme rozdíl mezi prvním a druhým bodem ekvivalence. Je-li spotřeba do menší než mezi prvním a druhým bodem, je kyselina už částečně zneutralizována.

Kyselinu fosforečnou lze stanovit i *alkalimetry*. Při alkalimetrickém stanovení je možné rozlišit disociaci pouze do prvního a druhého stupně; třetí stupeň disociace již nelze rozlišit, neboť HPO_4^{2-} je již příliš slabá kyselina. Pro zjištění ekvivalenčního bodu lze použít acidobazické indikátory. Pro titraci do 1. stupně methylová oranž a pro titraci do 2. stupně fenolftalein.

Při titraci původního vzorku by rušivě působil oxid uhličitý, který se ve vodě rozpouští za vzniku kyseliny uhličitě H_2CO_3 a je ho proto nutné před titrací odstranit vyvařením.

Úkol: Potenciometricky stanovte a vypočtěte koncentraci kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®].

Odměrnou neutralizační analýzou stanovte a vypočtěte koncentraci kyseliny fosforečné ve vzorku.

Chemikálie: 0,2 mol/l hydroxid sodný
0,05 mol/l kyselina šťavelová
1 mol/l kyselina fosforečná
Pufry 4,7
0,5 % fenolftalein
0,05 % methyloranž
nápoj Coca-Cola[®] (Pepsi-Cola[®]) – donese student

Pomůcky: odměrná baňka 100 ml, 500 ml
byreta
pipeta 10 ml
kádinka 250 ml, 600 ml
titrační baňky 250 ml (4 ks)
pH-metr
tyčinka
vaříč
míchačka

Postup:

Potenciometrické stanovení koncentrace kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®]

Nejdřív je potřeba Coca-Colu[®] zbavit CO₂. Do 600 ml kádinky nalijte cca 200 ml Coca-Coly[®] a zahřejte na vařiči, aby došlo k vytěkání veškerého oxidu uhličitého. Vzorek nevařte, protože odpařením vody by se zmenšil objem. Vzorek ochlaďte. Dále stanovte přesnou koncentraci NaOH titrací odměrným roztokem kyseliny šťavelové (0,05 mol/l). Zkontrolujte nastavení pH-metru pomocí kalibračních roztoků, případně jej nakalibrujte (nejprve pH 7, poté 4).

Odpipetujte 50 ml vychladlého vzorku do kádinky. Změřte počáteční hodnotu pH roztoku a hodnotu запиšte. Tato hodnota odpovídá nulové spotřebě odměrného roztoku (0,2-M NaOH). Roztok Coca-Coly[®] titrujte roztokem hydroxidu sodného 0,2 mol/l při přidavcích po 1 ml a vždy promíchejte. Po každém jednotlivém přidavku titračního činidla změřte pH roztoku. Titrujte do pH 12 nebo do spotřeby 25 ml. Údaje o pH roztoku Coca-Coly[®] a objemu titračního činidla v jednotlivých přidavcích zapisujte do tabulky.

Zopakujte titraci s tím, že v okolí bodů ekvivalence (strmější změna pH) zmenšete přidavek na 0,5 ml, příp. na 0,2 ml. Na základě rozdílu hodnot spotřeby NaOH v 1. a 2. bodě ekvivalence vypočítejte koncentraci kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®].

Alkalimetrické stanovení kyseliny fosforečné ve vzorku

Ze vzorku H₃PO₄ (1-M H₃PO₄) odpipetujte 10 ml do 100 ml odměrné baňky a destilovanou vodou doplňte po rysku. Do titrační baňky odpipetujte 5 ml tohoto vzorku. Přidejte 2 kapky methyloranže. Růžový roztok titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,2-M NaOH do prvního trvalého žlutého zbarvení. Odečtěte spotřebu odměrného roztoku (0,2-M NaOH) v 1. bodě ekvivalence. Do další titrační baňky odpipetujte opět 5 ml zředěného vzorku. Přidejte 3 kapky fenolftaleinu a dále roztok titrujte roztokem 0,2-M NaOH do růžového zbarvení. Odečtěte spotřebu odměrného roztoku (0,2-M NaOH) v 2. bodě ekvivalence.

Obě titrace opakujte ještě 2x a na základě rozdílu hodnot spotřeby NaOH v 1. a 2. bodě ekvivalence vypočítejte koncentraci kyseliny fosforečné ve vzorku.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Výpočty:

1. Napište rovnici reakce NaOH a $(\text{COOH})_2$, vypočtete na základě rovnice faktor titrace F_t , vypočtete přesnou koncentraci NaOH, s kterou budete dále počítat.
2. Výpočet koncentrace kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®] a ve vzorku stanovené potenciometricky a alkalimetricky

$$c(\text{H}_3\text{PO}_4) \cdot V(\text{H}_3\text{PO}_4) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) \quad [24]$$

kde

$c(\text{H}_3\text{PO}_4)$ je přesná látková koncentrace kyseliny fosforečné v mol/l

$V(\text{H}_3\text{PO}_4)$ je objem vzorku kyseliny fosforečné odpipetovaný k analýze v ml

$c(\text{NaOH})$ je látková koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol/l

$V(\text{NaOH})$ je rozdíl spotřeby NaOH v 1. a 2. bodě ekvivalence v ml

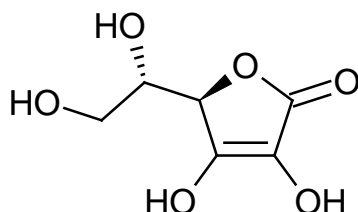
Vyhodnocení:

Do tabulek запиšte naměřené i vypočtené hodnoty potenciometrického i alkalimetrického stanovení obsahu kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®] a ve vzorku.

Vypočtete obsah kyseliny fosforečné v Coca-Cole[®] a ve vzorku. Vytvořte titrační křivku kyseliny fosforečné při obou titracích.

Stanovení vitamínu C v Celaskonu®

Princip:



Vitamín C (kyselina L–askorbová) je nejdůležitější cukerná kyselina, je významným antioxidantem a má vliv na tvorbu bílkoviny kolagenu a hemoglobinu. Nedostatek se projevuje sníženou odolností těla proti infekci, záněty dásní a jejich krvácením. Nejtěžší stadia avitaminózy jsou kurděje (skorbut) projevující se vypadáváním zubů. Denní doporučená dávka je 60 až 200 mg. Nelze se jím předávkovat, je rozpustný ve vodě. Největším zdrojem v potravě je ovoce a zelenina (paprika, černý rybíz, jahody, citrusy, brambory, šípky). Vitamin C je esenciální (nepostradatelný ve výživě) pro člověka, primáty a morče, ostatní živočichové ho syntetizují.

Jodometrie představuje titrační metody, při kterých se využívá oxidačně-redukční reakce jódu a jodidu. Využívá se titrace odměrným roztokem jódu, založená na redukci jódu na jodid v neutrálním prostředí ($I_2^0 + 2 e^- \rightarrow 2 I^-$) a na oxidaci jodidu na jód v kyselém prostředí. Indikátorem je škrobový maz, který se barví roztokem jódu modře. Stanovení přesné koncentrace jódu se provádí odměrným roztokem thiosíranu sodného o známé koncentraci.

Jodometrické metody se dělí do dvou skupin:

- **Metody přímé** - stanovovaná látka se titruje odměrným roztokem jódu (odbarví se) v neutrálním prostředí. Při reakci se jód redukuje na jodid a látka schopná oxidace se při tom oxiduje. Nezreagovaný jód stanovíme titrací s thiosíranem:

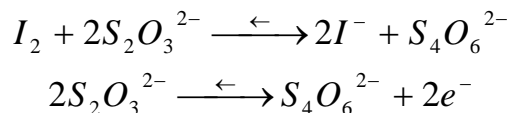


Indikátorem bodu ekvivalence je škrobový maz, který se přebytečnou kapkou jódu zbarví modře.

- **Metody nepřímé** - ke vzorku se přidá známý objem jodidu draselného (KI) v nadbytku. Stanovovaná látka schopná redukce se v kyselém prostředí nadbytkem jodidu redukuje a jodid se při tom oxiduje na jód.

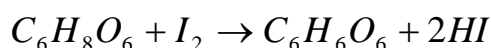


Uvolněný jód se titruje odměrným roztokem thiosíranu sodného, který při reakci přechází na tetrathionan



Modře zbarvený indikátor (škrobový maz) se v bodě ekvivalence přebytkem $Na_2S_2O_3$ odbarví.

Kyselina askorbová se reakcí s jódem snadno oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou podle následující rovnice:



Kyselinu askorbovou lze titrovat přímo roztokem jódu v kyselém prostředí. Reakce probíhá před koncem titrace pomalu, a proto se v okolí bodu ekvivalence musí roztok titrovat opatrně a důkladně promíchávat. K lepšímu rozpoznání bodu ekvivalence při titraci se používá intenzivně modré zbarvení, které poskytuje jód v přítomnosti jodidových iontů se škrobem. Podstata reakce mezi jódem a škrobem se vysvětluje adsorpcí jódu a jodidu na škrob.

Úkol: Stanovte obsah vitamínu C v tabletě Celaskonu[®].

Chemikálie: 0,1 mol/l thiosíran sodný
 0,05 mol/l roztok jódu
 10 % kyselina sírová
 škrobový maz
 tableta Celaskonu[®] (obsah 100 mg kyseliny L-askorbové v 1 tabletě;
 donese student)

Pomůcky: odměrná baňka 500 ml (2 ks)
 byreta
 pipeta 10 ml, 20 ml
 kádinka 150 ml (2 ks)
 titrační baňky 250 ml (4 ks)
 tyčinka

Postup:

Stanovení přesné koncentrace roztoku jódu:

Napipetujte 20 ml 0,1 molárního roztoku thiosíranu sodného do titrační baňky, přidejte destilovanou vodu a 5 ml škrobového mazu. Titrujte po kapkách do modrého zbarvení, opakujte 3 krát, запиšte si spotřebu jódu.

Stanovení vitamínu C:

Rozdrťte a pak rozpust'ete tabletu Celaskonu[®] v 50 ml destilované vody v titrační baňce, přidejte 5 ml 10% H₂SO₄ a 5 ml škrobového mazu. Titrujte jódem do modrého zbarvení. Spotřebu jódu v ml si opět запиšte.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Výpočty:

Stanovení přesné koncentrace jódu:

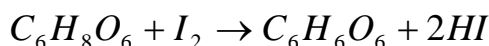
Chemická rovnice: $I_2 + 2 Na_2S_2O_3 \rightarrow 2 NaI + Na_2S_4O_6$

$$c(I_2) = \frac{V(Na_2S_2O_3) \cdot c(Na_2S_2O_3) \cdot F_t}{V(I_2)} \quad [25]$$

$F_t = 1/2$; $c(Na_2S_2O_3) = 0,1 \text{ M}$; $V(Na_2S_2O_3) = 20 \text{ ml}$

Stanovení obsahu vitamínu C:

Chemická rovnice:



Hmotnost vitamínu C ($M_r = 176 \text{ g/mol}$):

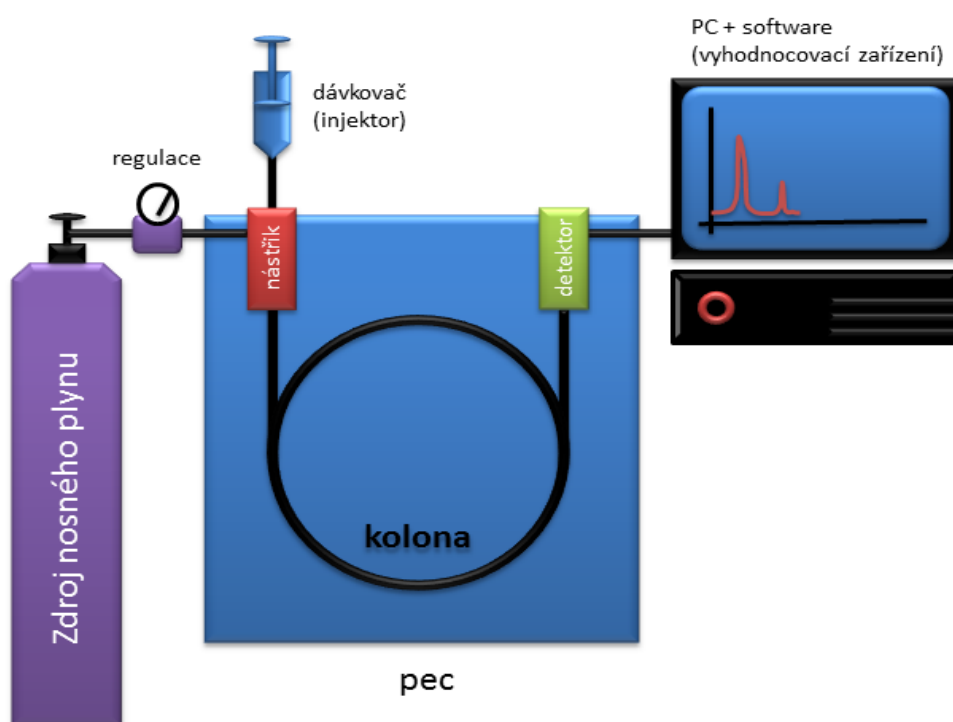
$$m = c(I_2) \cdot V(I_2) \cdot M(C_6H_8O_6) \quad [26]$$

Vyhodnocení:

Vypočítejte obsah vitamínu C (v mg na 2 desetinná místa) v tabletě Celaskonu[®] a porovnejte s údaji uvedené od výrobce.

Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC, Gas Chromatography) je analytická a separační metoda určená k dělení a stanovení plynů, kapalin i látek pevných s bodem varu do cca 400 °C. Metoda je založena na rozdělování analytu mezi dvě fáze, a to fází pohyblivou - mobilní a fází nepohyblivou - stacionární. V plynové chromatografii je mobilní fází plyn, nazývaný nosný plyn. Stacionární fáze, kterou může být buď adsorbent, nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází, je umístěna v chromatografické koloně. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace analytů a malé množství vzorku potřebné k analýze.



Obr. 5: Schéma plynového chromatografu

Schéma plynového chromatografu je uvedeno na obrázku. Mezi hlavní části plynového chromatografu patří:

- **Injektor** slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Náštrík látky se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky přes septum, které odděluje vnitřek injektoru od vnějšího prostoru. Součástí injektoru je skleněná vložka (*liner*), ve které dochází vysokou teplotou k rychlému odpaření vzorku a ke správnému promíchání par vzorku s nosným plynem. Mezi injektor a kolonu je zařazen dělič toku (*splitter*), který umožňuje vést jen část odpařeného vzorku na kolonu (*splitovací poměr*, split ratio).

- Regulátor průtoku – jedná se o elektronické regulační zařízení, které slouží k ovládní průtoku a tlaku nosného plynu. Regulátor průtoku zaručuje konstantní průtok plynu kolonou a detektorem bez ohledu na typ nosného plynu, teplotu a rozměry kolony. Tlak je potom proměnnou veličinou a nastaví se automaticky podle viskozity plynu, vnitřního průměru kolony a délky kolony tak, aby průtok kolonou byl konstantní.

- Zásobník nosného plynu – nosný plyn představuje mobilní fázi. Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium, argon. Při volbě nosného plynu se uvažují následující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu.

- Pec, termostat – vyhřívá kolonu a udržuje její stálou teplotu.

- Kolona – ocelová, skleněná nebo křemenná trubice, ve které dochází k separaci plynné směsi. Rozeznáváme náplňové nebo kapilární kolony.

- Náplňové kolony jsou trubice o průměru 2 až 5 mm a max. délce 4 m obsahující adsorbent nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází, délka náplňových kolon bývá od desítek centimetrů do několika metrů. Stacionární fáze u náplňových kolon může být pevná látka (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý, polymerní sorbenty apod.) nebo vysokovroucí kapalina nanosená v tenké vrstvě na pevném, inertním nosiči.

- Kapilární kolony se vyrábějí z křemenného skla a kvůli pevnosti jsou potaženy filmem polyamidu. Kapilární kolony nemají průměr větší než 5 mm, délka se může pohybovat od 10 do stovek metrů. U kapilárních kolon je stacionární fáze nanosená v tenké vrstvě přímo na upravenou vnitřní stěnu křemenné kapiláry.

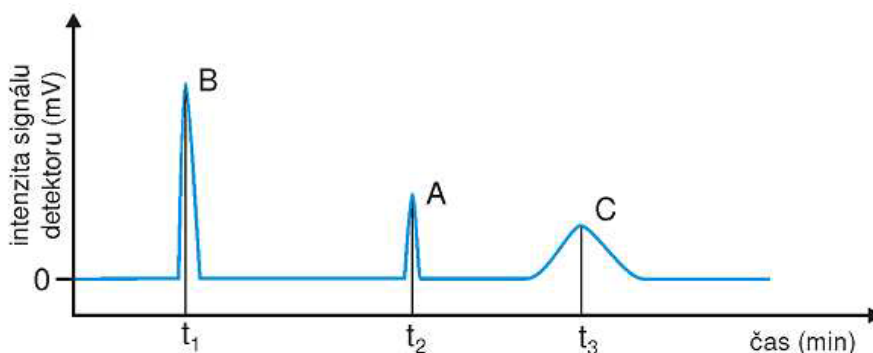
- Detektor – zaznamenává eluci (vyplavování) analytů už rozseparované směsi. Teplota detektoru by měla být vyšší, než je teplota plynu vycházejících z kolony, aby se zabránilo kondenzaci látek na stěnách detektoru. V plynové chromatografii se užívá několik typů detektorů, ale pro účel této úlohy bude využíván detektor elektronového zachytu (ECD - Electron Capture Detector) zdrojem ionizující energie u ECD je radioaktivní zářič ^3H nebo ^{63}Ni . Emitované záření β (proud elektronů) má příliš velkou energii a není zachycováno elektronegativními atomy složky. Kolizí molekul dusíku jako nosného plynu se zářením β dochází k jejich ionizaci. Při tom se uvolňují pomalé elektrony. Tyto elektrony již elektronegativní atomy složky zachytí a tím sníží ionizační proud.

Vyhodnocovací zařízení – v současnosti osobní počítač s příslušným softwarovým vybavením.

Nosný plyn je odebírán z tlakové láhve přes redukční ventil. Po průchodu regulátory tlaku a průtoku přichází nosný plyn do nástřikové komory - **injektoru**. Do vyhřívaného bloku injektoru je dávkováno (nastříknuto) speciální stříkačkou malé množství vzorku (1-10 μ l kapalného vzorku). Injektor je vyhříván na takovou teplotu, aby v něm došlo k okamžitému zplynění vzorku. Z injektoru jsou páry vzorku unášeny nosným plynem na **kolonu**. V koloně dochází k separaci analytu směsi podle toho, jakou afinitu vykazují tyto analyty ke stacionární fázi. První vychází z kolony analyt, který má ke stacionární fázi nejnižší afinitu (je nejslaběji zadržován stacionární fází). Jako poslední vychází analyt, který má k stacionární fázi nejvyšší afinitu (je nejsilněji zadržován v koloně). Látky tedy postupně vycházejí z kolony v pořadí rostoucích hodnot distribučních konstant a vstupují do detektoru. **Detektor** indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Z detektoru vychází elektrický signál, který je zpracovaný **vyhodnocovacím zařízením** (PC).

Konečným výstupem je chromatografický záznam závislosti signálu detektoru na čase nazývaný jako **chromatogram** (viz obr. 6), který obsahuje tzv. píky, náležící jednotlivým analytům směsi. U chromatogramu jsou na vodorovné ose x zaznamenávány délkové jednotky nebo čas a na svislé ose y odezva detektoru. Poloha píku na časové ose chromatogramu (osa x) je mírou kvality analytu (identifikuje analyt), hovoří o tom „co je to“ za sloučeninu. Výška respektive plocha píku je mírou kvantity analytu v separované směsi, hovoří o tom „kolik“ je daného analytu ve směsi.

Časy t_1 , t_2 a t_3 jsou tzv. **retenční časy analytů** (celkové časy, které příslušné analyty stráví v separační koloně) a jsou pro každou kolonu a analyt charakteristické. Součet ploch všech tří píků je v podstatě 100 % směsi. Plocha konkrétního píku analytu dělená plochou všech píků je obsahovým zlomkem dané složky ve směsi. Nejvyšší afinitu k stacionární fázi měl analyt C, nejnižší analyt B. Časová osa reprezentuje retenční čas.



Obr. 6: Chromatogram tříslučkové směsi

Stanovení obsahu methanolu v destilátu plynovou chromatografií

Úkol: Stanovte obsah methanolu ve vzorku destilátu plynovou chromatografií

Chemikálie: methanol
ethanol
vzorek destilátu (donese si student)

Pomůcky: odměrná baňka 10 ml (5 ks)
pipety
vialky
mikrostríkačka Hamilton 10 μ l
plynový chromatograf vč. příslušenství

Postup:

Metoda kalibrační přímky

Nejprve je nutné proměřit kalibrační sadu. Do odměrných baněk připravíme kalibrační roztoky obsahující 2; 4; 6 a 8 g/l methanolu v 50 % (v/v) ethanolu. Postupně provedeme nástřik 1 μ l standardních roztoků. Po nástřiku musíme vyčkat až se signál detektoru po vyeluvání všech složek standardu vrátí na základní linii. Kvůli reprodukovatelnosti dat je dobré nástřik opakovat 3x.

Vlastní stanovení

Po ustálení provozních teplot plynového chromatografu provedeme nástřik 1 μ l standardu methanolu v 50 % (v/v) ethanolu o koncentraci přibližně 4 g/l. Po nástřiku musíme vyčkat až se signál detektoru po vyeluvání všech složek standardu vrátí na základní linii. Nástřik standardu opakujeme 3x. Pak provedeme nástřik 1 μ l vzorku destilátu (který jsme před analýzou 100 x zředili) a opět opakujeme 3x. Při analýze reálného vzorku destilátu je třeba počítat s možnou přítomností výše-vroucích složek (ethylacetát, *isobutanol*, butanol, *isoamylalkohol*, 2-methyl-1-butanol, amylalkohol, ...) a dobu analýzy přiměřeně prodloužit. Po skončení analýzy reálného vzorku musíme zopakovat analýzu standardu o koncentraci 4g/l pro ověření dávkování. Při práci s plynovým chromatografem dbejte pokynů vedoucího cvičení.

Zbytky chemikálií vyléváme do zvláštního barelu.

Vyhodnocení:

Pro vyhodnocení obsahu methanolu v reálném vzorku sestrojte kalibrační závislost plochy píku methanolu na koncentraci, proložte lineární regresí a vypočtěte obsah methanolu v předloženém vzorku.

Stanovený obsah methanolu v destilátu srovnajte s Vyhláškou Ministerstva zemědělství 190/2008 Sb., o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu (student si najde na internetu) a rozhodněte, zda předložený destilát tuto vyhlášku splňuje.

LITERATURA:

1. J. Kameníček a kol.: *Laboratorní cvičení z anorganické chemie*. UP Olomouc, 2001.
2. Večeřa M., Panchartek J.: *Praktická cvičení z anorganické chemie*. SNTL, Praha, 1987.
3. Hlaváč J., Wiedermannová I., Hradil P.: *Vybrané úlohy z preparativní organické chemie I*. UP Olomouc, 2002.
4. Wiedermannová I., Gucký T., Hlaváč J.: *Vybrané úlohy z preparativní organické chemie II*. UP Olomouc, 2002.
5. Dostál V., Šimek J.: *Důkaz některých anorganických iontů analytickými reakcemi*. UP, Olomouc, 2000.
6. Horáková M., Lischke P.: *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*. SNTL, Praha, 1989.
7. Stučka V.: *Instrumentální metody chemické analýzy II*. UP Olomouc, 1996