

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta

ANALYTICKÁ CHEMIE

prof. Ing. Martin Křížek, CSc.

RNDr. Jan Šíma, Ph.D.

České Budějovice

2015

Recenzent:

doc. RNDr. Petr Rychlovský, CSc.

Katedra analytické chemie

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

Praha

1. Základní pojmy a postupy analytické chemie	7
1.1. Odběr a příprava vzorku k analýze.....	7
1.2. Analytický postup.....	8
1.3. Převádění tuhého vzorku do roztoku	9
1.3.1. Rozklady anorganických materiálů.....	9
1.3.2. Rozklady biologického materiálu	10
1.3.3. Mikrovlnné rozklady	11
1.4. Reakce využívané v analytické chemii	13
1.4.1. Protolytické rovnováhy.....	13
1.4.1.1. Výpočty pH	17
1.4.1.1.1. Výpočet pH roztoku silné kyseliny	17
1.4.1.1.2. Výpočet pH roztoku silné zásady.....	18
1.4.1.1.3. Výpočet pH roztoku slabé jednosytné kyseliny.....	18
1.4.1.1.4. Výpočet pH roztoku slabé jednosytné zásady	19
1.4.1.1.5. Výpočet pH roztoků hydrolyzovaných solí	19
1.4.1.2. Tlumivé roztoky	20
1.4.1.3. Vícesytné kyseliny a zásady	21
1.4.1.4. Amfolyty.....	22
1.4.2. Srážecí rovnováhy	22
1.4.3. Komplexotvorné rovnováhy	24
1.4.3.1. Protonizace ligandů	25
1.4.4. Redoxní rovnováhy.....	26
1.4.4.1. Redoxní potenciál.....	27
2. Hodnocení výsledků kvantitativní analýzy, chyby chemických rozborů	29
2.1. Úvod.....	29
2.2. Rozdělení chyb	29
2.3. Základní pojmy.....	30
2.4. Shrnutí základních pojmů.....	30
2.5. Chyba absolutní a relativní	30
2.6. Náhodné chyby	32
2.7. Soustavné chyby	34
2.8. Hrubé chyby	35
3. Validace analytických metod.....	37
3.1. Selektivita.....	37
3.2. Pracovní rozsah	37
3.3. Lineární dynamický rozsah	37
3.4. Citlivost	38
3.5. Mez detekce.....	38
3.6. Mez stanovitelnosti.....	39
3.7. Přesnost	39
3.8. Preciznost	39
4. Anorganická kvalitativní analýza	41
4.1. Reakce skupinové, selektivní a specifické.....	41
4.2. Skupinové reakce.....	42
4.2.1. Reakce HCl.....	42
4.2.2. Reakce H_2SO_4	43
4.2.3. Reakce roztoku šťavelanu amonného	43
4.2.4. Reakce sulfidu amonného	44
4.2.5. Reakce sulfanu.....	45
4.2.6. Reakce alkalických hydroxidů	45
4.2.7. Reakce amoniaku.....	46
4.2.8. Reakce uhličitanu sodného	47
4.2.9. Reakce alkalických fosforečnanů.....	47
4.2.10. Reakce jodidu draselného	48

4.3. Analytické postupy dělení kationtů a aniontů	48
4.3.1. Dělení kationtů	48
4.3.2. Dělení aniontů.....	49
5. Vážková analýza.....	51
5.1. Obecný postup vážkové analýzy.....	51
5.1.1. Srážení	51
5.1.2. Filtrace.....	51
5.1.3. Žihání či sušení sedlin.....	52
5.2. Výpočty ve vážkové analýze	53
5.3. Vážková analýza v praxi.....	53
5.4. Nejběžnější vylučovací formy prvků či formy k vážení	54
5.4.1. Hydroxidy a hydratované oxidy.....	54
5.4.2. Sirany.....	54
5.4.3. Halogenidy.....	54
5.4.4. Šřavelany.....	54
5.4.5. Organická činidla ve vážkové analýze	55
5.5. Termická analýza.....	56
5.5.1. Termogravimetrie	56
6. Odměrná analýza	57
6.1. Odměrné metody založené na acidobazických reakcích.....	57
6.1.1. Průběh titrační křivky při titraci silné kyseliny silnou zásadou.....	57
6.1.2. Průběh titrační křivky při titraci slabé kyseliny silnou zásadou.....	60
6.1.3. Průběh titrační křivky při titraci vícesytné kyseliny.....	62
6.1.4. Neutralizační (acidobazické) indikátory	63
6.1.5. Praktické použití acidimetrie a alkalimetrie.....	65
6.1.5.1. Odměrné roztoky a standardní látky.....	65
6.1.5.2. Příklady některých acidobazických titračních stanovení	65
6.2. Odměrné metody založené na srážecích reakcích.....	66
6.3. Odměrné metody založené na komplexotvorných reakcích.....	68
6.3.1. Indikátory používané při chelatometrických titracích.....	69
6.3.2. Praktická chelatometrie	70
6.4. Odměrné metody založené na redoxních reakcích.....	70
6.4.1. Permanganatometrie (manganometrie)	71
6.4.2. Bichromatometrie	72
6.4.3. Bromatometrie	72
6.4.4. Jodometrie	73
7. Potenciometrie	76
7.1. Princip potenciometrických metod	76
7.2. Referentní elektrody	76
7.3. Měrné elektrody.....	77
7.3.1. Oxidačně-redukční elektrody.....	77
7.3.2. Iontově selektivní elektrody (ISE).....	78
7.3.3. Plynové detektory s ISE.....	81
7.4. Využití potenciometrických metod.....	82
7.4.1. Přímá potenciometrie.....	82
7.4.2. Potenciometrická titrace	82
8. Polarografie.....	83
8.1. Základní zapojení polarografu.....	83
8.2. Rtuťová kapková elektroda.....	84
8.3. Polarografická analýza	84
8.3.1. Nabíjecí (kapacitní) proud	86
8.3.2. Difúzní proud.....	86
8.3.3. Půlvlnový potenciál	86
8.3.4. Polarografická maxima.....	87

8.3.5. Vliv kyslíku na polarografický záznam	87
8.4. Moderní polarografické metody	88
8.4.1. Polarografie "tast"	88
8.4.2. Normální pulzní polarografie (NPP).....	89
8.4.3. Diferenční pulzní polarografie (DPP).....	90
8.4.4. Rozpouštěcí voltametrie	90
8.5. Praktická polarografie	91
8.5.1. Kvalitativní a kvantitativní analýza	91
8.5.1.1. Metoda kalibrační křivky.....	92
8.5.1.2. Metoda standardního přídatku	92
9. Voltametrie.....	93
9.1. Voltametrické elektrody	93
9.1.1. Visící rtuťové elektrody	93
9.1.2. Plíškové a drátkové elektrody	93
9.1.3. Rotující disková elektroda	94
9.1.4. Rotující disková elektroda s prstencem	94
9.1.5. Uhlíkové pastové elektrody	94
9.2. Využitelné potenciálové rozsahy pracovních elektrod	94
9.3. Amperometrie.....	95
9.3.1. Amperometrické detektory v proudu kapaliny.....	95
9.3.2. Amperometrické membránové senzory	95
9.3.3. Amperometrické titrace	95
10. Elektrogravimetrie a coulometrie	97
10.1. Elektrolyza.....	97
10.1.1. Reakce na elektrodách za konstantního proudu	97
10.1.2. Reakce na elektrodách za konstantního potenciálu.....	99
10.2. Elektrogravimetrie	99
10.3. Coulometrie	99
11. Konduktometrické metody	101
11.1. Měření vodivosti roztoků.....	102
11.2. Praktická konduktometrie.....	103
11.2.1. Konduktometrická titrace	104
11.2.2. Vysokofrekvenční konduktometrie	105
11.2.2.1. Vysokofrekvenční titrace	105
12. Optické metody.....	106
12.1. Základní pojmy a vztahy.....	106
12.1.1. Vlastnosti elektromagnetického záření	106
12.2. Atomová spektrometrie	108
12.2.1. Vznik atomových spekter	108
12.2.2. Atomová emisní spektroskopie v oblasti optických spekter	108
12.2.2.1. Součásti přístrojů pro atomovou emisní spektroskopii	108
12.2.2.2. Metody a přístroje atomové emisní spektroskopie	113
12.2.2.3. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem (ICP-MS).....	117
12.2.3. Atomová absorpční spektroskopie (AAS)	118
12.2.3.1. Základní pojmy absorpční spektroskopie	118
12.2.3.2. Přístroje pro absorpční spektroskopii	118
12.2.3.3. Principy atomové absorpční spektrometrie.....	119
12.2.3.4. Přístroje pro atomovou absorpční spektroskopii a jejich součásti	119
12.3. Molekulová spektroskopie.....	125
12.3.1. Molekulová absorpční spektroskopie v oblasti ultrafialového a viditelného záření.....	125
12.3.1.1. Souvislost mezi charakterem absorpčního spektra a strukturou molekuly.....	126
12.3.1.2. Analytické využití metod molekulové spektroskopie v oblasti UV/VIS.....	126
12.3.1.3. Metody a přístroje molekulové absorpční spektroskopie UV/VIS	127
12.3.1.4. Použití molekulové absorpční spektrometrie v oblasti UV/VIS	128

12.3.2. Luminiscenční analýza.....	128
12.3.3. Spektroskopie v oblasti infračerveného záření	129
12.3.3.1. Principy infračervené spektroskopie.....	129
12.3.3.2. Instrumentace infračervené spektroskopie.....	130
12.3.3.3. Využití infračervené spektroskopie	131
12.4. Optické nespektroskopické metody	131
12.4.1. Refraktometrie	131
12.4.2. Polarimetrie	134
12.4.3. Turbidimetrie a nefelometrie	137
13. Hmotnostní spektrometrie.....	138
13.1. Princip	138
13.2. Instrumentace	138
13.2.1. Iontový zdroj	138
13.2.2. Separace iontů (disperzní prvek)	140
13.2.3. Detektory	142
13.3. Analytické využití.....	142
14. Metody průtokové analýzy	143
14.1. Kontinuální průtoková analýza (CFA).....	143
14.2. Průtoková injekční analýza (FIA).....	144
14.3. Segmentovaná průtoková analýza (SFA).....	145
14.4. Sekvenční injekční analýza (SIA).....	145
15. Metody laserové spektroskopie	146
15.1. Základní vlastnosti laserového záření.....	147
15.2. Příklady běžně využívaných laserů.....	147
15.3. Nespektroskopické interakce laserového záření s hmotou.....	148
15.3.1. Částečné odpaření sorbovaných molekul bez tepelné fragmentace	148
15.3.2. Silné odpařování doprovázené chemickou ionizací v plynu	148
15.3.3. Silný ohřev povrchu vzorku, termická ionizace, vznik plazmatu.....	149
15.4. Laserová spektroskopie	149
15.4.1. Lineární spektroskopické metody	149
15.4.1.1. Absorpční spektroskopie	149
15.4.1.2. Absorpční spektroskopie v dutině rezonátoru.....	149
15.4.1.3. Laserem indukovaná fluorescence	150
15.4.2. Nelineární spektroskopické metody.....	150
15.4.2.1. Dvoufotonová spektroskopie	150
15.4.2.2. Vícefotonové a vícekvantové procesy	151
15.4.3. Lidarová dálková detekce (LIDAR - Light Detection and Ranging)	151
15.4.3.1. Využití odrazu záření od instalovaného odražeče	152
15.4.3.2. Využití zpětného rozptylu na topografických překážkách	152
15.4.3.3. Využití zpětného rozptylu na částicích aerosolů a atmosferických plynů.....	152
16. Radioanalytické metody	154
16.1. Princip a rozdělení radioanalytických metod.....	154
16.2. Charakteristika radioaktivního záření a jeho měření	155
16.3. Přehled radioanalytických metod.....	156
16.3.1. Metody založené na přirozené radioaktivitě látek	156
16.3.2. Emanometrické metody	156
16.3.3. Radiografické metody.....	157
16.3.4. Metoda izotopového zřed'ování	157
16.3.5. Metoda substechiometrického izotopového zřed'ování.....	158
16.3.6. Radiometrické titrace.....	159
16.3.7. Aktivační analýza (NAA)	159
16.3.7.1. Varianty neutronové aktivační analýzy.....	161
16.3.7.1.1. Instrumentální neutronová aktivační analýza (INAA).....	161
16.3.7.1.2. Neutronová aktivační analýza s radiochemickou separací (RNAA)...	161

16.3.7.1.3. Neutronová aktivační analýza s prekoncentrací	162
16.3.7.2. Analytické aplikace NAA a zhodnocení metody	162
16.3.8. Mössbauerova spektroskopie	162
16.3.8.1. Informace obsažené v Mössbauerově spektru	162
16.3.8.1.1. Izomerní posun	162
16.3.8.1.2. Kvadrupólové štěpení	163
16.3.8.1.3. Magnetické štěpení	163
16.3.8.2. Experimentální uspořádání v Mössbauerově spektroskopii	163
16.3.8.3. Analytické aplikace Mössbauerovy spektroskopie	163
17. Dělicí metody	165
17.1. Principy dělicích metod	165
17.2. Extrakce z kapaliny do kapaliny	167
17.2.1. Extrakce chelátů	167
17.2.2. Extrakce iontových asociátů	171
17.2.2.1. Extrakce solvátů	171
17.2.2.2. Aminová extrakce	172
17.2.2.3. Extrakce za pomoci "oniových" solí	172
17.3. Měníče iontů	172
17.3.1. Nosný skelet iontoměníče	173
17.3.2. Měníče kationtů - katexy	173
17.3.3. Měníče aniontů - anexy	174
17.3.4. Princip výměny iontů	175
17.3.5. Použití iontoměníčů	176
18. Chromatografie	178
18.1. Základní pojmy a rozdělení chromatografických metod	178
18.2. Princip chromatografické separace	179
18.2.1. Základní pojmy a definice	181
18.2.2. Teorie ideální chromatografie	182
18.2.3. Rozlišení píků	183
18.3. Plynová chromatografie	184
18.3.1. Kolony používané v plynové chromatografii	185
18.3.1.1. Náplňové kolony	185
18.3.1.2. Kapilární kolony	186
18.3.2. Detektory v plynové chromatografii	186
18.3.2.1. Tepelně vodivostní detektor - katarometr (TCD)	186
18.3.2.2. Plamenový ionizační detektor (FID)	187
18.3.2.3. Detektor elektronového záchytu (ECD)	187
18.3.3. Využití plynové chromatografie v praxi	188
18.4. Kapalinová chromatografie	188
18.4.1. Přístroje pro kapalinovou chromatografii	189
18.4.1.1. Čerpadla pro HPLC	189
18.4.1.2. Dávkování vzorků	190
18.4.2. Kolony pro HPLC	190
18.4.3. Náplně a eluenty	190
18.4.3.1. Kapalinová adsorpční chromatografie (LSC)	190
18.4.3.2. Kapalinová rozdělovací chromatografie (LLC)	191
18.4.3.3. Chromatografie na reverzní fázi	191
18.4.4. Detektory	191
18.4.5. Využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie v praxi	192
18.4.6. Kvalitativní chromatografická analýza	192
18.4.7. Kvantitativní analýza	192
18.5. Gelová permeační chromatografie (GPC)	192
18.5.1. Využití gelové permeační chromatografie	193
18.6. Chromatografie na měničích iontů	194
18.7. Iontová chromatografie	194
18.8. Kapalinová chromatografie v plošném uspořádání - FBC	194

19. Elektromigrační metody	196
19.1. Elektroforéza	198
19.1.1. Kapilární zónová elektroforéza.....	198
19.1.2. Specifika kapilární zónové elektroforézy	199
19.1.3. Separace metodou kapilární zónové elektroforézy	200
19.1.4. Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC)	200
19.1.5. Přístroje pro kapilární zónovou elektroforézu	200
19.1.6. Kapilární elektroforéza v praxi.....	201
19.2. Izotachoforéza	201
20. Chemické senzory.....	205
20.1. Struktura chemického senzoru.....	205
20.2. Základní typy senzorů.....	206
20.2.1. Elektrochemické senzory	206
20.2.1.1. Senzory obsahující kapalný elektrolyt	206
20.2.1.1.1. Potenciometrické elektrochemické senzory	206
20.2.1.1.2. Potenciometrické senzory plynů.....	206
20.2.1.1.3. Amperometrické elektrochemické senzory pro detekci v roztocích...	207
20.2.1.1.4. Membránové amperometrické senzory	208
20.2.1.2. Elektrochemické senzory s tuhým elektrolytem.....	208
20.2.1.2.1. Senzor využívající ZrO_2 jako tuhého elektrolytu	209
20.2.1.2.2. „Solid-state“ senzory s aktivní vrstvou.....	209
20.2.2. Senzory s mikroelektronickou strukturou (tranzistory řízené polem)	209
20.2.2.1. ISFET (iontově selektivní tranzistory řízené polem)	209
20.2.2.2. CSFET (chemicky citlivé tranzistory řízené polem).....	210
20.2.3. Senzory využívající změn elektronové vodivosti.....	210
20.2.3.1. Metaloxidové senzory.....	210
20.2.3.2. Chemirezistory.....	211
20.2.4. Senzory založené na měření změn teploty	211
20.2.4.1. Termistory	211
20.2.4.2. Pelistory.....	212
20.2.4.3. Pyroelektrické senzory	212
20.2.5. Senzory založené na měření změn hmotnosti (piezoelektrické senzory)	213
20.2.6. Optické senzory (optrody)	213
20.2.6.1. Základní uspořádání experimentu při práci s optickými senzory.....	213
20.2.6.1.1. Měření absorpce záření mezi přívodním a odvodním vláknem.....	213
20.2.6.1.2. Měření absorpce při dvojnásobném průchodu paprsku.....	213
20.2.6.1.3. Fluorescenční detekce za použití světlovodu	213

1. Základní pojmy a postupy analytické chemie

Analytická chemie je vědní obor, jehož cílem je určení chemického složení látek. Podle účelů, které analýza sleduje, se analytická chemie dělí na kvalitativní a kvantitativní. Úkolem kvalitativní analýzy je určení, které chemické složky jsou v analyzovaném materiálu přítomny, kvantitativní analýza určuje jejich množství. Význam kvalitativní analýzy již není tak velký jako v počátcích analytické chemie, dnes se již v praxi obvykle nesetkáváme s požadavkem na úplný kvalitativní rozbor, většinou se žádá určení kvantitativního obsahu vybraných složek. Současné analytické metody umožňují stanovení i ultrastopových množství látek. Výsledek "úplného" kvalitativního rozboru je závislý na použité metodě.

Metody analytické chemie se dělí na chemické (klasické) a instrumentální (fyzikálně-chemické). Chemické metody jsou založeny na průběhu chemických reakcí. U těchto metod je zjištěná hodnota (hmotnost sedimentu u vážkové analýzy nebo objem titračního roztoku u odměrné analýzy) v přímém stechiometrickém vztahu k množství stanovované složky. Proto se tyto metody označují jako přímé. Instrumentální metody jsou založeny na skutečnosti, že řada fyzikálních veličin je závislá na chemickém složení analyzovaného materiálu či na obsahu stanovované složky. Obsah stanovované složky se zjišťuje srovnáním hodnot měřené veličiny (signálu) u analyzovaného materiálu a standardního vzorku o známém obsahu stanovované složky (např. metodou kalibrační křivky). Proto se instrumentální metody označují jako nepřímé nebo srovnávací.

Každá z obou skupin má své přednosti. Chemické metody se vyznačují spolehlivostí, přesností, jednoduchostí stanovení, nízkými provozními náklady, neumožňují však stanovení stopových látek, jsou určeny většinou pro stanovení hlavních složek. Instrumentální metody umožňují stanovení stopových množství látek, vyznačují se rychlostí a selektivitou stanovení a možností automatizace analytického postupu. Vyžadují přístrojové vybavení, často velmi nákladné.

1.1. Odběr a příprava vzorku k analýze

Odběr a příprava materiálu k analýze patří mezi důležité operace chemické analýzy a je třeba jim věnovat stejnou pozornost jako kterémukoliv jinému analytickému postupu. Ani kvalitně provedená analýza nesprávně odebraného nebo nevhodně upraveného vzorku nemůže poskytnout správné informace o chemickém složení materiálu. Správný postup odbírání a přípravy vzorku k analýze je tedy předpokladem praktické použitelnosti výsledků analýzy.

Vzorek, použitý k analýze, musí obsahovat všechny složky v takovém hmotnostním nebo objemovém poměru, v jakém jsou v daném materiálu přítomny. Takovýto vzorek se nazývá průměrný nebo reprezentativní.

Způsob odbírání a přípravy vzorků je závislý na druhu analyzovaného materiálu. Při této operaci se obvykle postupuje podle platných norem či předpisů nebo na základě dohody mezi odběratelem a analytickou laboratoří. Nejjednodušší je odběr homogenních plynných či kapalných materiálů. Při odbírání vzorků tuhých materiálů je nutno přihlídnout k povaze a zrnění vzorku, ke způsobu uskladnění materiálu apod. Příslušné normy obvykle uvádějí, jak velký vzorek je nutné odebrat. Například z hrubozrnného materiálu (velikost zrn >15 mm) se

odebírání vzorek, který odpovídá asi 1–2 % z celkového množství vzorkovaného materiálu. U drobně zrnitého nebo práškovitého materiálu se odebírání vzorek odpovídající asi 0,1 % celkové hmotnosti materiálu. Dílčí vzorky se odebírají z různých míst materiálu, počet odběrových míst v závislosti na celkové hmotnosti vzorkovaného materiálu udává obvykle příslušná norma. Dílčí vzorky se spojí, dokonale promísí, pokud obsahují větší kusy, rozdrtí se na drtiči. Pokud bylo odebíráno tohoto směsného vzorku více než 1 kg, je nutno jeho množství snížit na tuto hmotnost. Při zmenšování hmotnosti vzorku se nesmí změnit průměrné složení odebraného materiálu. Uvedený požadavek zaručuje zmenšování hmotnosti tzv. kvartací. Při tomto postupu se vzorek navrství do komolého kužele, rozdělí na čtyři stejně velké díly, dva protilehlé se odstraní, zbytek se promíchá a znovu navrství do komolého kužele a celý postup se opakuje až hmotnost vzorku je cca 1 kg.

V průběhu zmenšování hmotnosti vzorku je třeba hrubší částice drtit, aby v konečné fázi vzorek prošel sítím o velikosti ok 1 mm. Tento tzv. laboratorní vzorek přichází do laboratoře a z něho se pak připraví analytický vzorek o hmotnosti 2–10 g podle povahy materiálu drcením nebo roztíráním v třecí misce z vhodného materiálu. Měkké materiály se drtí v porcelánových, tvrdé v achátových třecích miskách. V současné době je na trhu řada různých typů laboratorních mlýnků nebo drtičů, které nahrazují ruční roztírání.

Rostlinný nebo živočišný materiál se upravuje ve speciálních homogenizátorech. V některých případech může dojít během skladování vzorku ke změnám jeho chemického složení. V takových případech se vyžaduje okamžité provedení analýzy (ihned po odběru) nebo je nutno vzorky konzervovat tak, aby se složení vzorku během jeho skladování neměnilo. To se týká například analýzy přírodních nebo odpadních vod. Způsoby konzervace se řídí povahou analyzovaného materiálu, ale i povahou stanovované složky. Je proto nezbytné se vždy před odběrem vzorků informovat, jakým způsobem se daný materiál vzorkuje, zda a jak je nutno jej konzervovat a v jaké podobě a v jakém množství jej dodat do laboratoře.

1.2. Analytický postup

Analytický postup, včetně výběru vhodné analytické metody, by měl být volen s ohledem na vlastnosti analytického materiálu a na požadovanou analytickou informaci. Analytická chemie v současné době nabízí velké množství metod, ze kterých je třeba pro daný účel vybrat tu nejvhodnější. Ke správné volbě metody je třeba praktických zkušeností i důkladných teoretických vědomostí. Výběr metody se provádí podle několika kritérií. Prvním z nich je obsah stanovované složky. Je rovněž třeba znát, které další složky a přibližně v jakém množství jsou ve vzorku přítomny. Podle účelu stanovení se můžeme někdy rozhodnout pro metodu jednoduchou, rychlou, ale méně přesnou nebo pro metodu přesnější, ale časově i cenově náročnější. Jedním z kritérií pro výběr metody je i přístrojové vybavení laboratoře a ekonomické možnosti zadavatele.

Obecně je třeba, aby se analýza skládala z co nejmenšího množství kroků s ohledem na zabránění ztrátám a možným kontaminacím.

Při analýzách běžných materiálů se obvykle pracuje podle metodik vypracovaných pro daný materiál. Analytické postupy jsou uvedeny obvykle v příslušných státních normách.

1.3. Převádění tuhého vzorku do roztoku

Pro chemické rozbory, při nichž se jedná o stanovení prvků či anorganických složek, se u většiny metod pracuje s roztoky, především vodnými. Pokud je tedy vzorek ve formě vodného roztoku (např. přírodní nebo odpadní vody), lze jej použít k analýze přímo nebo po určitých úpravách. Většina materiálů, dodávaných k chemické analýze, je však v tuhém skupenství a je nutno je do roztoku převést. V nejjednodušším případě se materiál rozpustí ve vodě za studena nebo za tepla. Pokud je analyzovaný materiál ve vodě nerozpustný, je nutno jej převést na sloučeniny ve vodě rozpustné, což ovšem znamená určitou destrukci materiálu a změnu jeho chemického složení. Proto v těchto případech nemluvíme o "rozpouštění", ale o rozkladech. Postup rozkladu se volí podle charakteru analyzovaného materiálu a podle složek, které budou stanovovány.

V některých případech se analyzují výluhy materiálu, kdy nedochází k úplnému rozkladu materiálu, ale pomocí speciálních vyluhovacích činidel se uvolní do roztoku pouze některé složky, které se pak stanovují. Výluhy musí být prováděny vždy za přesně stejných podmínek, aby byla zaručena reprodukovatelnost výsledků.

1.3.1. Rozklady anorganických materiálů

Rozklady se provádějí buď mokrou cestou (působením kyselin nebo roztoků alkalických hydroxidů), nebo suchou cestou - tavením.

a) Rozklady kyselinami

Pro rozklady anorganických materiálů se nejčastěji používají kyseliny chlorovodíková, sírová, dusičná, chloristá, fluorovodíková, jejich směsi.

Zředěná kyselina chlorovodíková je vhodná pro rozklady uhličitánů, uhličitánových rud a hornin. Koncentrovanější kyselina chlorovodíková rozkládá oxidy nebo hydratované oxidy, hydroxidy, používá se i k rozkladům některých rud a slitin.

Zředěná a zejména koncentrovaná kyselina dusičná má silné oxidační účinky, používá se proto všude tam, kde je oxidace žádoucí. Má význam zejména při rozkladech slitin barevných kovů, technických kovů, sulfidických rud apod. Její výhodou je, že její soli jsou vesměs ve vodě dobře rozpustné.

Směs kyseliny dusičné a chlorovodíkové 1 : 3 (lučavka královská) rozkládá sulfidy, slitiny zlata, kovy platinové a další látky. Pro některé rozklady se používá směs HNO_3 : HCl 3 : 1, tzv. obrácená, neboli Lefortova lučavka.

Kyselina sírová má význam pro rozklady některých rud a slitin. Koncentrovaná kyselina sírová má oxidační účinky a používá se i k mineralizaci organických látek. Určitou nevýhodou kyseliny sírové je malá rozpustnost některých síranů ve vodě.

Často se používá kyselina chloristá, která v koncentrované formě má silně oxidační účinky, její soli jsou ve vodě velmi dobře rozpustné. Při práci s koncentrovanou kyselinou chloristou je třeba zachovávat určitá bezpečnostní opatření, protože při styku této kyseliny s organickými látkami může dojít k výbuchu.

Pro rozklady některých materiálů, zejména silikátových, má velký význam kyselina fluorovodíková ve směsi s kyselinou sírovou, dusičnou nebo chloristou. Je vhodná pro rozklad křemičitanů, křemičitanových hornin a rud, pro rozklad půdních vzorků.

Některé lehké slitiny a některé sulfidy se rozkládají roztokem alkalického hydroxidu, případně za přídavku peroxidu. Při rozkladech kyselinou fluorovodíkovou, která silně atakuje sklo, je nutné použít nádoby z teflonu, polyethylenu nebo platiny, v žádném případě ze skla. Výhodné jsou zejména nádoby z teflonu, který je odolný vůči převážné většině běžných chemikálií.

b) Rozklady tavením

K rozkladu tavením, který představuje hlubší destrukci materiálu, přistupujeme tehdy, nelze-li vzorek rozložit kyselinami. Při tomto způsobu rozkladů dochází k tavení nebo slinování vzorku s tuhými činidly, při kterém se převádějí jednotlivé složky vzorku na sloučeniny, které jsou ve vodě nebo ve zředěných kyselinách rozpustné. U tavení dochází k reakcím mezi vzorkem a tavíci přísadou v roztaveném stavu, slinování se provádí při teplotách nižších, než je bod tání směsi vzorku s přísadou a reakce zde probíhají v tuhém stavu.

Podle chemické povahy použité tavíci přísady rozeznáváme tavení kyselé a zásadité. Alkalické tavení se používá při převádění kyselých složek do roztoku - jako tavidlo se v těchto případech nejčastěji používají uhličitany sodný, uhličitany draselný, hydroxid sodný, hydroxid draselný, peroxid sodíku, dusičnan sodný. Poslední dvě tavíci přísady zároveň způsobují oxidační podmínky při tavení. Tavením s uhličitany sodným se rozkládají například křemičitany a sírany, hydroxidové tavení se používá k rozkladu některých oxidických rud, k částečnému rozkladu silikátů apod.

Alkalickým tavením se převádějí kyselé složky na soli alkalických kovů. Kyselými tavidly se převádějí do roztoku složky zásadité - jako tavidla zde slouží nejčastěji disíran draselný. Příkladem slinování je postup podle Lawrence a Smitha, který se používá při stanovení alkalických kovů v silikátových materiálech. Vzorek se zahřívá se směsí uhličitany vápenatého a chloridu amonného, při čemž se uvolňují chloridy alkalických kovů. Rozklady tavením se provádějí v kelímcích zhotovených z materiálu, jehož volba se řídí charakterem použitého tavidla. Kyselé tavení se provádí v kelímcích porcelánových nebo křemenných. Pro tavení alkalické se používají kelímky stříbrné, zlaté nebo platinové a pro tavení alkalické-oxidační kelímky železné nebo niklové.

1.3.2. Rozklady biologického materiálu

Při chemickém rozboru biologického materiálu (krmiva, rostliny, živočišné tkáně, organická hnojiva) je nutno analyzovaný materiál nejdříve zmineralizovat, to znamená převést stanovované složky na anorganické sloučeniny, rozpustné ve vodě nebo ve zředěných minerálních kyselinách. Mineralizace se může provádět dvěma způsoby - na mokré nebo suché cestě - oba způsoby mají své výhody i nevýhody.

Mineralizace na mokré cestě spočívá v zahřívání materiálu s některými oxidujícími minerálními kyselinami nebo jejich směsmi. Velmi často se používá koncentrovaná kyselina

sírová, případně její směs s kyselinou dusičnou nebo chloristou. Oblíbená je rovněž samotná kyselina dusičná. Vzhledem k poměrně nízkému bodu varu kyseliny dusičné a tedy nízké teplotě mineralizace nedojde však vždy k dokonalé oxidaci organického uhlíku, i když se materiál podaří převést do roztoku. Při práci s kyselinou chloristou je třeba dbát zvýšené opatrnosti, jak bylo uvedeno již dříve. Mineralizaci lze urychlit přidáním katalyzátorů.

Mineralizaci na mokré cestě lze zdokonalit a urychlit zahříváním směsi za zvýšeného tlaku ve speciálních autoklávech. Rozklad probíhá v teflonové nádobce, která zapadá přesně do pláště autoklávu. V poslední době se rozšiřuje pro mokrou mineralizaci zahřívání autoklávů v mikrovlnné peci. Tento způsob zajišťuje možnost řízení teplotního režimu při mineralizaci, je však cenově dosti náročný.

Výhodou mineralizace na mokré cestě, vzhledem k poměrně nízké teplotě mineralizace, jsou velmi nízké ztráty chemických složek, způsobené jejich těkáním. Určitou nevýhodou je to, že se pracuje s agresivními koncentrovanými kyselinami. Výsledkem mineralizace na mokré cestě je roztok, obsahující koncentrované kyseliny použité k rozkladu, což může být u některých analytických metod na závadu.

Jedním z nejznámějších způsobů mineralizace na mokré cestě je Kjeldahlova metoda stanovení dusíku v některých biologických materiálech. Při tomto způsobu mineralizace se materiál zahřívá při teplotě varu směsi s koncentrovanou kyselinou sírovou za přítomnosti vhodného katalyzátoru (např. HgO). Pro zvýšení bodu varu se ke směsi ještě přidává síran draselný. Organický dusík se tímto postupem převede na síran amonný.

Při mineralizaci na suché cestě se materiál žihá při teplotách 400–600 °C. Při těchto teplotách dochází ke spálení organického podílu a v nádobce zůstane anorganický zbytek, popel, který se převede do vodného roztoku rozpouštěním ve vodě nebo ve zředěných kyselinách, např. chlorovodíkové nebo dusičné.

Výhodou mineralizace na suché cestě je především jednoduchost provedení a menší nebezpečí kontaminace přidávanými chemikáliemi, je však časově náročnější než mineralizace na mokré cestě.

Nevýhodou mineralizace na suché cestě je nebezpečí ztrát těkáním některých složek (např. As, Sb, Sn, Hg, Pb a další). Při stanovení látek, kde je nebezpečí těkáním při vyšších teplotách, je bezpodmínečně nutné použít některý ze způsobů mineralizace na mokré cestě.

1.3.3. Mikrovlnné rozklady

Perspektivní přístup k rozkladu a mineralizaci vzorků je založen na působení mikrovlnného záření. Mikrovlnné záření je druhem elektromagnetického neionizujícího záření, které vyvolává pohyb částic látky v důsledku přemísťování iontů a otáčení dipólů, avšak nezpůsobuje změny ve struktuře molekul. Frekvence mikrovlnného záření leží v rozmezí 300 až 30 000 MHz; domácí mikrovlnné trouby i laboratorní mikrovlnné rozkladné pece nejčastěji využívají frekvenci 2450 MHz. Této frekvenci odpovídá vlnová délka 12,2 cm. Její hodnota je optimální z hlediska konstrukce mikrovlnné pece i interakce záření s látkou. Z hlediska vzájemného působení materiálu a mikrovlnného záření je možné vzorky rozdělit na vodiče (kovy), které mikrovlny odrážejí, na izolátory (např. teflon nebo sklo), jež mikrovlnné záření propouštějí, a na dielektrika (např. voda), která mikrovlny pohlcují. Pohyb iontů v důsledku

působení mikrovlnného záření souvisí s elektroforetickou migrací iontů v roztoku po zapojení elektromagnetického pole. Odpor proti pohybu iontů má za následek ztráty energie, v důsledku kterých vzniká teplo. Otáčivý pohyb dipólů vzniká v důsledku toho, že se v elektromagnetickém poli permanentní nebo indukované dipóly určitým způsobem orientují. Jejich schopnost orientace vzrůstá se zvyšující se intenzitou pole a naopak s jejím snižováním schopnost orientace klesá a vzrůstá chaotický pohyb. Po zrušení účinku elektromagnetického pole se molekuly vracejí do chaotického pohybu za současného uvolnění tepelné energie. Při působení střídavého pole o frekvenci 2450 MHz dojde k orientaci molekul a k jejich návratu do chaotického stavu $4,9 \cdot 10^9$ krát za sekundu, v důsledku čehož dochází ke značnému ohřevu vzorku.

Přednosti rozkladu vzorků za využití mikrovlnného záření je možné shrnout do následujících bodů:

- zkrácení doby rozkladu v důsledku vysokých teplot a tlaků panujících v uzavřených rozkladných systémech
- omezení kontaminace rozkládaných vzorků a blanků
- snadná automatizace rozkladného procesu, efektivnost, úspora kyselin i energie

Mikrovlnné rozklady lze obecně provádět v otevřených nebo v uzavřených systémech. Využití uzavřených systémů dnes jednoznačně převládá. Otevřené systémy, u kterých rozklad probíhá za atmosférického tlaku, nepotřebují složitý kontrolní systém ověřování podmínek rozkladu, avšak teplota rozkladu je zde daná teplotou varu použité kyseliny. Účinnost rozkladu lze potom regulovat pouze druhem a množstvím použitých kyselin a pomocných chemikálií, dobou rozkladu a výkonem mikrovlnného zdroje. Oproti tomu v případě uzavřených systémů je teplota rozkladu závislá na tlaku panujícím v nádobce, v níž se rozklad provádí. Tlak a teplota jsou zde závislé nejen na příkonu energie a vlastnostech použitých kyselin, ale také na vlastnostech rozkládaných vzorků. Nezbytné je zde pracovat mimořádně opatrně a obezřetně, dodávanou energii je nutné zvyšovat pozvolna v rámci předem zoptimalizovaného a nastaveného programu mikrovlnného rozkladného zařízení. V opačném případě hrozí bouřlivý průběh dekompozičních reakcí, extrémní nárůst tlaku v uzavřené nádobce a únik obsahu nádoby přes pojistný ventil. V extrémním případě (hlavně u starších typů mikrovlnných rozkladných systémů) může dojít až k explozivnímu roztržení nádoby.

Při mikrovlnných rozkladech se velmi často používá kyselina dusičná. Teplota varu azeotropu kyseliny dusičné a vody za atmosférického tlaku je zhruba 120 °C. Pokud ale tlak v uzavřené nádobce dosáhne hodnoty 5×10^5 Pa, teplota varu se zvýší na 176 °C, což již obvykle postačuje i na rozklad obtížně rozložitelných biologických vzorků (různé živočišné a rostlinné tkáně, krev, mléko).

Ve většině rozkladných mikrovlnných pecí se jako generátor mikrovln používá magnetron. Mikrovlnné záření se dále vede pomocí vlnovodu zhotoveného z kovových folií do rezonátoru, což je prostor o určitém objemu, skrz který procházejí mikrovlny a kde se současně nacházejí vzorky umístěné na otočném držáku. Otáčení držáku se vzorky je nezbytné, aby všechny vzorky interagovaly s mikrovlnným zářením rovnoměrně. Nádobky používané k rozkladu vzorků musí být dokonale propustné pro mikrovlnné záření. Vhodnými materiály jsou zejména fluoroplasty, tavený křemen nebo sklo. Velmi často se používá teflon.

Vzhledem k tomu, že princip rozkladu vzorků je v mikrovlnných pecích z chemického hlediska obdobný jako při klasickém rozkladu účinkem kyseliny, používané chemikálie se volí podle příslušné matrice tak, aby ji efektivně rozložily a aby anion kyseliny vytvářel s analytem rozpustnou sůl. Obvykle se k rozkladům používají běžné kyseliny: HNO_3 , HCl , HF , H_2SO_4 , H_3PO_4 , HClO_4 nebo jejich směsi. Kyselina dusičná se používá nejčastěji, neboť vznikající dusičnany jsou ve vodném prostředí dobře rozpustné. Je silným oxidovadlem a do roztoku úspěšně převede i stopové prvky z biologických materiálů. Vzhledem k tomu, že je dostupná ve vysoké čistotě, nebývají obvykle problémy s její kontaminací. Kyselina chlorovodíková je výborným rozpouštědlem pro některé kovy a jejich oxidy. Za zvýšeného tlaku dokáže rozložit i některé silikáty, sírany či těžkovytavitelné oxidy, pokud k ní přidáme HF . Jelikož nemá oxidační účinky, nehodí se na rozklad biologických vzorků. Kyselina fluorovodíková je vhodná pro rozklad látek obsahujících křemík. Vzhledem k tomu, že Si reaguje za vzniku těkavého SiF_4 , dojde k rozrušení matrice a analyty se uvolní. Kyselina sírová je vhodná zejména pro rozklady biologických tkání. Při jejím použití je třeba mít na paměti tvorbu obtížně rozpustných síranů (Pb , Ba). Kyselina fosforečná může být s úspěchem použita pro rozklad slitin železa či železných rud.

V počátcích používání mikrovlnných rozkladů převládalo jejich využití pro vzorky rostlinného a živočišného původu, u nichž se stanovovaly zejména stopové obsahy kovů. Metoda se používá od 80. let minulého století a je mimořádně efektivní. Při rozkladu organické matrice je nutné brát v úvahu, že dochází k její kompletní destrukci za vzniku CO_2 , H_2O , popřípadě též NO_2 . V uzavřených systémech to má za následek výrazný nárůst tlaku. Navážky vzorků proto bývají omezené (0,2 až 0,5 g suchého vzorku). V současné době se mikrovlnné rozklady s úspěchem využívají rovněž pro geologické a metalurgické vzorky (sulfidické minerály, rudy, oceli). Analytickými metodami využívanými pro stanovení stopových obsahů prvků v rozložených vzorcích bývají většinou AAS, ICP-AES a ICP-MS.

1.4. Reakce využívané v analytické chemii

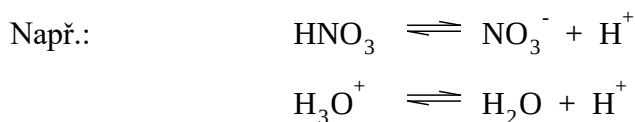
1.4.1. Protolytické rovnováhy

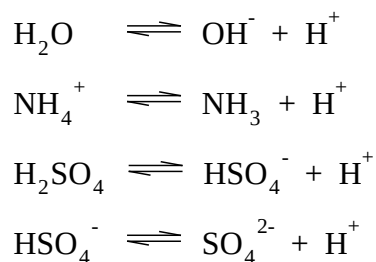
Důležité pojmy - kyselina a zásada byly v minulosti chápány různě. Existuje řada teorií vymezujících tyto kategorie. Pro analytickou chemii je nejvýhodnější vycházet z Brønstedovy definice kyselin a zásad, i když se nejedná o teorii nejmodernější či nejobecnější.

Protolyt je podle Brønstedovy teorie takový elektrolyt, který je schopen ve vhodném rozpouštědle odštěpit nebo vázat proton. Odštěpuje-li proton, označujeme jej jako kyselinu, váže-li proton, považujeme takový protolyt za zásadu. Ztrátou protonu vzniká z kyseliny zásada:



Každá kyselina (K) s odpovídající zásadou (Z) tvoří tzv. konjugovaný pár.





Kyselinami i zásadami mohou být jak elektroneutrální látky, tak ionty. Některé z molekul či iontů mohou podle okolností vystupovat buď jako kyselina, nebo jako zásada (např. H_2O , HSO_4^-). Takovýmto látkám amfoterního charakteru říkáme amfolity.

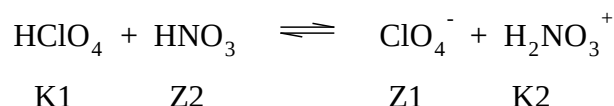
Proton nemůže být v roztoku volný. Může se odštěpit z kyseliny HA jen tehdy, jestliže jej může rozpouštědlo nebo jiná látka vázat. V tomto případě se rozpouštědlo S chová jako zásada.



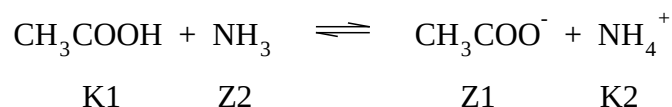
Čím silnější zásadou je rozpouštědlo, tím více bude poutat protony a tím více bude v takovémto rozpouštědle disociovat kyselina HA. Např. kyselina dusičná je ve vodě zcela disociována a je tedy silnou kyselinou.



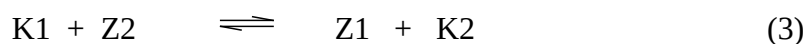
V rozpouštědle, které je kyselejší (např. v kyselině chloristé), se však kyselina dusičná chová jako zásada.



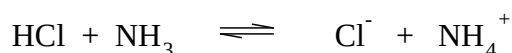
Obdobně látky, které se ve vodě chovají jako slabé kyseliny, např. kyselina octová, se v silně zásaditém rozpouštědle chovají jako plně disociované. Příkladem může být disociace kyseliny octové v kapalném amoniaku.



Obecně tedy platí, že kyselina K1 může proton odštěpit jen tehdy, je-li přítomna zásada Z2, schopná tento proton vázat. Vznikne tím nová kyselina K2 a nová zásada Z1. Úhrnnou reakci lze tedy vystihnout rovnicí:



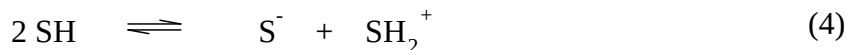
např.



Jelikož při uvedených reakcích hrají nejvýznamnější roli protony, označují se tyto reakce jako protolytické.

Z příkladů je zřejmé, že kyselost či zásaditost látek není podmíněna pouze jejich složením a strukturou, ale souvisí vždy i s charakterem rozpouštědla, ve kterém jejich chování posuzujeme. Podle toho, jak ovlivňují různá rozpouštědla protolytické rovnováhy, dělíme je na:

a) *amfiprotní* - podléhající autoprotolýze, reakci:



např.



Tato rozpouštědla mohou podle podmínek proton buď přijímat, nebo uvolňovat. Podle toho, která z těchto schopností u daného rozpouštědla převažuje, dělíme dále amfiprotní rozpouštědla na:

- vyrovnaná: mají zhruba stejnou schopnost protony vázat či odštěpovat (voda, ethanol)
- protofilní: převažují u nich zásadité vlastnosti (kapalný amoniak, dimethylformamid)
- protogenní: převažují u nich kyselé vlastnosti (kyselina sírová, kyselina octová)

b) *aprotogenní* - rozpouštědla, jež protony pouze přijímají (ethery, pyridin)

c) *inertní* - k protonům indiferentní, nepřijímají ani neuvolňují protony (hexan, benzen, tetrachlormethan).

Nejrozšířenějším rozpouštědlem v analytické chemii je voda. Rovnovážná konstanta autoprotolytické reakce:



$$\text{je } (K_v)_T = a(\text{OH}^-) a(\text{H}_3\text{O}^+) / a^2(\text{H}_2\text{O})$$

Jelikož v čisté vodě platí $a(\text{H}_2\text{O}) = 1$, pak pro termodynamickou rovnovážnou konstantu $(K_v)_T$ - platí:

$$(K_v)_T = a(\text{OH}^-) \cdot a(\text{H}_3\text{O}^+) \quad (6)$$

Tato rovnovážná konstanta se nazývá iontový součin vody. Pro jednoduchost bývá hydroniový ion nahrazen H^+ , neboť ani H_3O^+ nevystihuje dokonale situaci v roztoku. Rovněž pro zředěné roztoky, s nimiž v analytické chemii pracujeme, můžeme nahradit aktivity koncentracemi. Pak pro iontový součin vody (koncentrační) platí:

$$K_v = [\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-] \cong 1.10^{-14} \quad (\text{při } 25^\circ\text{C}) \quad (7)$$

Iontový součin vody můžeme ovlivnit teplotou roztoku a rozpuštěním solí v roztoku (tzv. zvýšení iontové síly roztoku). Při 100°C vzroste K_v o dva řády.

Při disociaci vody vzniká stejné látkové množství H^+ i OH^- iontů. Platí tedy, že v čisté vodě:

$$K_v = [\text{H}^+]^2 = [\text{OH}^-]^2 \quad (8)$$

Pro vodu či neutrální vodný roztok z toho vyplývá, že

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = \sqrt{K_v} \cong 1.10^{-7} \text{ mol.l}^{-1} \quad (9)$$

V analytické chemii je praktické vyjadřovat nízké hodnoty negativními dekadickými logaritmy těchto čísel. Záporně vzatý logaritmus symbolizuje operátor p.

$$-\log [H^+] = p[H^+] = pH \quad (9a)$$

Pro vodu tedy platí, že

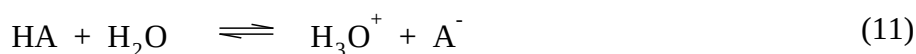
$$pH = pOH \cong 7$$

Jelikož $[H^+] \cdot [OH^-] \cong 1 \cdot 10^{-14}$, pak analogicky:

$$pH + pOH = 14 \quad (10)$$

Pro kyselé roztoky platí, že $pH < 7$, zásadité roztoky mají hodnotu $pH > 7$.

Kyselina HA disociuje ve vodném prostředí podle rovnice:



či zjednodušeně:

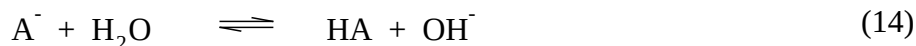


Pro uvedený vratný děj lze podobně, jako pro jiné chemické reakce vyjádřit rovnovážnou konstantu této reakce:

$$K_{HA} = [H^+] \cdot [A^-] / [HA] \quad (13)$$

Konstanta K_{HA} se nazývá disociační konstanta kyseliny HA.

Disociační konstantu konjugované báze (zásady) A^- lze vyvodit z její protolytické reakce:



$$K_A = [HA] \cdot [OH^-] / [A^-] \quad (15)$$

Koncentrace vody se během protolytického děje významně nemění a její hodnota je zahrnuta do konstanty K_A .

Z rovnic 7, 13 a 15 vyplývá, že

$$K_{HA} \cdot K_A = K_v \quad (16)$$

Tento důležitý vztah umožňuje vzájemný přepočet disociační konstanty konjugované kyseliny a zásady. Vzhledem k numerickým hodnotám disociačních konstant je výhodné uvádět je ve formě jejich záporně vzatého dekadického logaritmu jako pK_{HA} , resp. pK_A .

$$pK_{HA} = -\log K_{HA} \quad (17)$$

podobně jako rovnice 10 platí, že

$$pK_{HA} + pK_A = pK_v \cong 14 \quad (18)$$

Hodnoty pK_{HA} některých důležitějších slabých kyselin jsou uvedeny v tab. 1.1.

Tabulka 1.1.: Disociační konstanty některých kyselin při 25 °C

Kyselina		pK_{HA}
amonný kation (amonium) NH_4^+		9,24
kyselina boritá H_3BO_3		9,23
kyselina fluorovodíková HF		3,17
kyselina fosforečná H_3PO_4	pK_1	2,23
	pK_2	7,21
	pK_3	12,32
kyselina mravenčí $H-COOH$		3,75
kyselina octová CH_3-COOH		4,76
sulfan, vodný roztok H_2S	pK_1	7,07
	pK_2	12,20
kyselina siřičitá H_2SO_3	pK_1	1,76
	pK_2	7,21
kyselina šťavelová $H_2C_2O_4$	pK_1	1,25
	pK_2	4,28
kyselina uhličitá H_2CO_3	pK_1	6,35
	pK_2	10,33

1.4.1.1. Výpočty pH

Přesný výpočet pH reálného vzorku, v němž je často více než jeden protolytický systém, bývá zpravidla velmi komplikovaný. V praxi se obvykle snažíme vystihnout, která z protolytických rovnováh je v uvažované soustavě dominantní a z této rovnováhy pak počítáme pH celého systému. Takovýto výpočet je pochopitelně zatížen chybou, která však obvykle nepřekračuje 0,05–0,1 jednotky pH, což pro praktické potřeby mnohdy postačuje.

1.4.1.1.1. Výpočet pH roztoku silné kyseliny

Silné kyseliny jsou ve zředěném vodném roztoku úplně disociovány. Pro jednosytné silné kyseliny pak platí, že

$$C(H^+) = C(HA) \quad (19)$$

např.

$$C(H^+) = C(HClO_4)$$

V případě vícesytné kyseliny musíme uvážit, kolik molů vodíkových iontů poskytne při disociaci jeden mol vícesytné kyseliny. Pro H_2SO_4 pak platí:



$$c(\text{H}^+) = 2 c(\text{H}_2\text{SO}_4)$$

Jelikož u silných kyselin předpokládáme úplnou disociaci, pak:

$$\text{pH} = -\log c(\text{H}^+) \quad (21)$$

S rostoucí koncentrací silné kyseliny se však efektivní koncentrace vodíkových iontů (aktivita vodíkových iontů), kterou bychom měli správně dosazovat do vztahu 21, stále více liší od koncentrace předpokládané dle vztahů 19 či 20. Má-li vypočtené pH souhlasit s údajem, který zjistíme měřením s přesností alespoň 5%, pak nesmíme uvedené vztahy používat pro roztoky s $c_{\text{HA}} > 0,001 \text{ mol.l}^{-1}$. U koncentrovanějších roztoků musíme počítat pH ze vztahu:

$$\text{pH} = -\log a(\text{H}^+) \quad (21a)$$

kde

$$a(\text{H}^+) = c(\text{HA}) \cdot \gamma_{\pm} \quad (22)$$

Koeficient $\gamma_{\pm}$ je tzv. aktivitní koeficient dané kyseliny a lze jej nalézt v příslušných analytických tabulkách, či je možno zjistit ho početně.

1.4.1.1.2. Výpočet pH roztoku silné zásady

Úvahy při výpočtu pH roztoku silné zásady jsou zcela analogické postupu výpočtu pH silné kyseliny. Pro silnou, zcela disociovanou zásadu tedy platí, že

$$c(\text{OH}^-) = c(\text{M}(\text{OH})) \quad (23)$$

a dále

$$\text{pOH} = -\log c(\text{OH}^-) \quad (24)$$

Vzhledem k platnosti vztahu 10 platí, že

$$\text{pH} = 14 + \log c(\text{OH}^-) \quad (25)$$

1.4.1.1.3. Výpočet pH roztoku slabé jednosytné kyseliny

Při odvození vztahu pro výpočet pH roztoku slabé jednosytné kyseliny vyjdeme z definice disociační konstanty této kyseliny (vztah 13). Z této definice plyne, že

$$[\text{H}^+] = K_{\text{HA}} \cdot [\text{HA}] / [\text{A}^-] \quad (26)$$

Předpokládejme, že koncentrace nedisociované formy slabé kyseliny $[\text{HA}]$ je přibližně rovna celkové analytické koncentraci slabé kyseliny $c_{(\text{HA})}$ (též psáno jako c_{HA}). Tento

předpoklad je u zředěných roztoků slabých kyselin zpravidla splněn, neboť disociuje malý podíl molekul kyseliny.

Celková analytická koncentrace je důležitý pojem v analytické chemii. Platí, že

$$c_{\text{HA}} = [\text{HA}] + [\text{A}^-] \quad (27)$$

Celková analytická koncentrace je tedy dána součtem koncentrací všech forem, v nichž se daná látka v uvažované soustavě vyskytuje. V případě málo disociované kyseliny platí, že

$$c_{\text{HA}} \cong [\text{HA}] \quad (28)$$

Z rovnice disociace jednosytné kyseliny (12) je zřejmé, že

$$[\text{A}^-] = [\text{H}^+]$$

Z výše uvedených předpokladů a zjednodušení můžeme upravit vztah (26) následovně:

$$[\text{H}^+] \cong K_{\text{HA}} \cdot c_{\text{HA}} / [\text{H}^+] \quad (29)$$

odtud:

$$[\text{H}^+]^2 \cong K_{\text{HA}} \cdot c_{\text{HA}} \quad (30)$$

$$[\text{H}^+] \cong \sqrt{(K_{\text{HA}} \cdot c_{\text{HA}})} \quad (31)$$

a tedy:

$$\text{pH} \cong 1/2 \text{pK}_{\text{HA}} - 1/2 \log c_{\text{HA}} \quad (32)$$

1.4.1.1.4. Výpočet pH roztoku slabé jednosytné zásady

Obdobně jako pro slabou kyselinu (31) lze odvodit analogický vztah pro výpočet pH slabé jednosytné zásady.

$$[\text{OH}^-] \cong \sqrt{(K_{\text{A}} \cdot c_{\text{A}})} \quad (33)$$

odtud:

$$\text{pOH} \cong 1/2 \text{pK}_{\text{A}} - 1/2 \log c_{\text{A}} \quad (34)$$

a tedy:

$$\text{pH} \cong 14 - 1/2 \text{pK}_{\text{A}} + 1/2 \log c_{\text{A}} \quad (35)$$

1.4.1.1.5. Výpočet pH roztoků hydrolyzovaných solí

Soli jsou v naprosté většině případů silné elektrolyty a jsou tedy ve svých roztocích úplně disociovány na ionty.

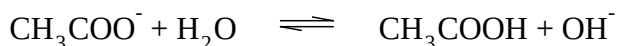
Sůl silné kyseliny a silné zásady, například NaCl ve vodě disociuje na ionty Na^+ a Cl^- . Tyto ionty se v roztoku obklopí molekulami rozpouštědla, dochází k jejich solvataci (v případě vodného roztoku hovoříme o hydrataci), avšak s rozpouštědlem nereagují. Hodnota pH jejich roztoků se neliší významně od 7.

Jiná situace nastává, rozpouštíme-li ve vodě sůl slabé kyseliny a silné zásady.



Octan sodný ve vodě disociuje na acetátový anion a sodný kation.

Sodný kation není protolytem, v roztoku bude pouze hydratován. Protolyticky však působí acetátový anion.

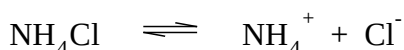


Při této reakci vznikají OH^- ionty, které udělají roztoku alkalickou reakci. Z těchto důvodů reagují roztoky solí slabých kyselin a silných zásad alkalicky.

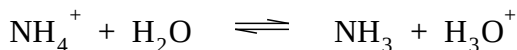
Hodnotu pH roztoku soli slabé kyseliny a silné zásady počítáme dle (35), kde za pK_A dosazujeme disociační konstantu konjugované báze (v tomto případě acetátového aniontu) a za c_A dosadíme koncentraci rozpouštěné hydrolyzované soli. Chceme-li při výpočtu vyjít z pK_{HA} (v tomto případě pK kyseliny octové), přejde vztah (35) úpravou pomocí (18) na:

$$\text{pH} = 7 + 1/2 \text{pK}_{\text{HA}} + 1/2 \log c_A \quad (36)$$

Opačná, avšak analogická situace nastává, rozpouštíme-li ve vodě sůl slabé zásady a silné kyseliny. Například:



Chlorid amonný ve vodě disociuje na amonný kation a chloridový anion. Chloridový anion nevyvolává hydrolyzu. Amonný kation však je protolytem:



Vznikající oxoniové ionty jsou příčinou kyselé reakce roztoku soli, slabé zásady a silné kyseliny. Při výpočtu pH roztoku hydrolyzované soli tohoto typu si musíme uvědomit, jaký ion bude působit po disociaci v roztoku jako kyselina. Pro tuto kyselinu najdeme v tabulkách pK_{HA} (v tomto případě by šlo o amonium NH_4^+). Při výpočtu pH dosadíme do vztahu (32) hodnotu pK_{HA} a za c_{HA} dosadíme koncentraci rozpouštěné hydrolyzované soli.

1.4.1.2. Tlumivé roztoky

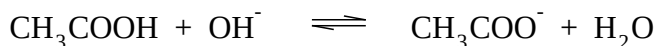
Kromě analytické chemie i v řadě jiných chemických či biologických disciplin bývá požadavkem udržet pH reakční směsi na předem zvolené hodnotě. Za tímto účelem se připravují tzv. tlumivé roztoky, které i po přidavku malého množství silné kyseliny či zásady mění svou původní hodnotu pH jen velmi málo. Přídavek přiměřeného množství tlumivého roztoku k reakční směsi zajistí prakticky konstantní hodnotu pH celé směsi. Tlumivé roztoky se připravují smícháním roztoku slabé kyseliny a její soli se silnou zásadou nebo roztoku slabé zásady a její soli se silnou kyselinou.

Při protolytických rovnováhách diskutovaných v předchozím textu se rovněž vedle sebe vyskytovaly konjugované páry kyselina - zásada. Konjugované složky však v roztoku vznikaly teprve disociací a jejich analytické koncentrace c_{HA} či c_A byly nulové. U tlumivých

roztoků však záměrně ve vhodném poměru směšujeme obě formy protolytu. Jako příklad běžných tlumivých roztoků je možno uvést směs připravenou z roztoků kyseliny octové a octanu sodného či amoniaku a chloridu amonného.

Kromě označení "tlumivý roztok" se v praxi setkáváme s názvy: pufr, ústojný roztok, regulátor pH či nárazník.

Funkce tlumivého roztoku spočívá v tom, že při přidavku silné kyseliny či zásady jsou dodané H^+ či OH^- ionty "spotřebovány" na převod jedné formy konjugovaného páru v druhou, např.:



či



Vzhledem k poměrně značným koncentracím obou složek tlumivého roztoku je relativní změna jejich koncentrace v důsledku tohoto převodu malá a tudíž i změna pH tohoto roztoku bude malá. Z rovnice (13) lze vyjádřit $[H^+]$

$$[H^+] = K_{HA} \cdot [HA] / [A^-] \quad (37)$$

Vzhledem k vyšším koncentracím obou směřovaných složek můžeme psát

$$[H^+] \cong K_{HA} \cdot c_{HA} / c_{A^-} \quad (38)$$

Rovnici (38) lze po zlogaritmování převést na vztah pro přibližný výpočet pH tlumivého roztoku (Hendersonova rovnice): $pH \cong pK_{HA} + \log(c_{A^-}/c_{HA})$

$$\text{resp.:} \quad pH \cong pK_{HA} - \log c_{HA} + \log c_{A^-} \quad (39)$$

Máme-li připravit tlumivý roztok o určitém pH (pro určité pH), zvolíme kyselinu nebo zásadu o pK co nejbližší požadované hodnotě pH. Kapacita tlumivých roztoků je dostatečující v mezích:

$$pH = pK_{HA} \pm 1,7$$

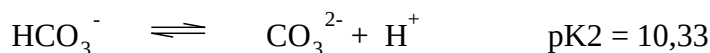
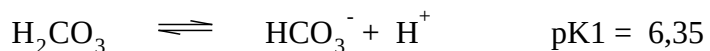
tj. při látkovém poměru obou forem protolytického systému $c_{HA} : c_{A^-} = 2 : 100$ až $100 : 2$. Maximální tlumivou kapacitu má pufr s ekvimolární koncentrací obou forem protolytického systému ($c_{HA} = c_{A^-}$), tedy když dle rovnice (39)

$$pH = pK_{HA}$$

(viz též výklad titrační křivky neutralizačních titrací dále).

1.4.1.3. Vícesytné kyseliny a zásady

Vícesytná kyselina či zásada má pro každý disociační stupeň samostatnou konstantu, např.:

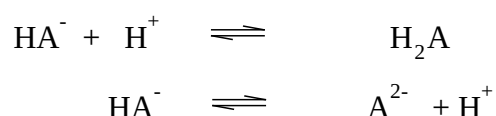


Protože pK_2 je zpravidla podstatně větší než pK_1 (nesmíme zapomenout, že jedna jednotka pK představuje v desítné soustavě jeden číselný řád), nedopustíme se velké chyby při výpočtu pH roztoku takovéto kyseliny, když zanedbáme disociaci do druhého stupně a počítáme pH z jednoduchého vztahu (32).

1.4.1.4. Amfolyty

Některé sloučeniny mohou plnit funkci kyselin i funkci zásad, jsou schopny odštěpovat i vázat protony. Tyto amfiprotní vlastnosti má například voda, ionty vícesytných kyselin při postupné disociaci HCO_3^- , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} aj.

Sloučeniny těchto vlastností označujeme jako amfolyty:



V prvním stupni má HA^- funkci zásady, v druhém funkci kyseliny. Pro přibližný výpočet hodnoty pH amfolytu platí:

$$pH \cong 1/2 (pK_{1(H_2A)} + pK_{2(H_2A)}) \quad (40)$$

Jako příklad lze uvést výpočet pH zředěného roztoku $NaHCO_3$. Pro H_2CO_3 platí, že $pK_1(H_2CO_3) = 6,35$ a $pK_2(H_2CO_3) = 10,33$. Pak:

$$pH \cong 1/2 (6,35 + 10,33) \cong 8,34$$

Z uvedeného postupu je rovněž zřejmé, že pH roztoku amfolytů nezávisí při přibližném výpočtu na koncentraci rozpuštěného amfolytu.

1.4.2. Srážecí rovnováhy

K oddělování součástí analyzované směsi před jejich konečným důkazem či stanovením, též při některých titračních stanoveních se uplatňují iontové reakce zakončené tvorbou málo rozpustné látky - sraženiny. Vznik sraženiny je rovnovážný chemický děj. Ionty srážené látky reagují s ionty srážedla za vzniku sraženiny, avšak sraženina má tendenci se opět rozpouštět až do ustavení příslušné rovnováhy. Pro málo rozpustnou látku M_mX_n můžeme tuto rovnováhu vystihnout rovnicí:



Pro rovnovážnou konstantu (koncentrační) bude platit:

$$K = [M^{n+}]^m \cdot [X^{m-}]^n / [M_mX_n] \quad (42)$$

Jelikož koncentrace tuhé fáze je prakticky konstantní, můžeme vztah (42) zjednodušit:

$$K_S = [M^{n+}]^m \cdot [X^{m-}]^n \quad (43)$$

kde K_S je tzv. součin rozpustnosti a jeho hodnoty, případně záporné logaritmy K_S (pK_S) lze nalézt v chemickoanalytických tabulkách. Hodnoty vybraných K_S jsou uvedeny v tabulce 1.2.

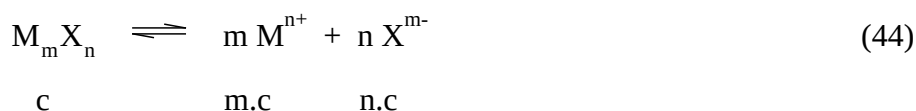
Tabulka 1.2.: Hodnoty součinu rozpustnosti některých látek při 25 °C.

Sloučenina	K_S	Sloučenina	K_S
AgBr	$6,3 \cdot 10^{-13}$	CaCO ₃	$8,7 \cdot 10^{-9}$
AgCl	$1,6 \cdot 10^{-10}$	CaSO ₄	$6,1 \cdot 10^{-5}$
AgI	$1,5 \cdot 10^{-16}$	CuS	$8,0 \cdot 10^{-36}$
Ag ₂ S	$1,6 \cdot 10^{-49}$	Fe(OH) ₃	$3,8 \cdot 10^{-38}$
BaSO ₄	$1,0 \cdot 10^{-10}$	Pb ₃ (PO ₄) ₂	$8,0 \cdot 10^{-43}$

Ze vztahu (43) vyplývá, že k tvorbě sraženiny v roztoku dochází tehdy, je-li překročena hodnota součinu rozpustnosti. V opačném případě zůstávají ionty v roztoku a sraženina se netvoří.

Výpočet rozpustnosti málo rozpustných látek lze provést na základě znalosti příslušného součinu rozpustnosti.

Pro látku $M_m X_n$ disociující dle rovnice (41) platí:



kde c značí látkovou koncentraci. V tomto případě c molů látky $M_m X_n$ uvolní $m \cdot c$ molů iontů M^{n+} a $n \cdot c$ molů iontů X^{m-} .

Součin rozpustnosti pak můžeme úpravou (43) vyjádřit jako:

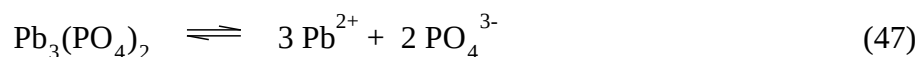
$$K_S = (m \cdot c)^m \cdot (n \cdot c)^n = m^m \cdot n^n \cdot c^{m+n} \quad (45)$$

Pro molární rozpustnost látky $M_m X_n$ - c platí:

$$c = (K_S / (m^m \cdot n^n))^{1/(m+n)} \quad (46)$$

Jako příklad lze uvést výpočet molární rozpustnosti fosforečnanu olovnatého:

($K_S = 8,0 \cdot 10^{-43}$), který disociuje dle rovnice:



$$\begin{array}{ccc} c & 3c & 2c \\ K_S = [\text{Pb}^{2+}]^3 \cdot [\text{PO}_4^{3-}]^2 & & \end{array} \quad (48)$$

$$K_S = (3c)^3 \cdot (2c)^2 \quad (49)$$

tedy: $K_S = 108 \cdot c^5$

$$c = (K_S / 108)^{1/5} = (8 \cdot 10^{-43} / 108)^{1/5} = 1,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1} \quad (50)$$

Molární rozpustnost fosforečnanu olovnatého činí $1,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$.

Výpočty rozpustnosti málo rozpustných látek nacházejí uplatnění v gravimetrické analýze, v hydrochemii, chemii životního prostředí a v řadě dalších příbuzných disciplín. Znalostí srážecích rovnováh využívají též některé odměrné metody analytické chemie.

1.4.3. Komplexotvorné rovnováhy

Chemie komplexních sloučenin zasahuje prakticky do všech chemických disciplín. Podstatu tvorby komplexních sloučenin řeší jak obecná a fyzikální chemie, tak chemie anorganická.

Analytická chemie se zabývá jak teoretickými otázkami vzniku komplexních sloučenin, tak praktickými aplikacemi při stanovení či maskování nejrozličnějších složek analyzované směsi.

Rovnováha, která se ustavuje při reakci kovového iontu M (centrálního iontu) a činidla L (ligandu), vede v nejobecnějším případě ke vzniku vícejaderného komplexu (náboje iontů jsou pro jednoduchost vynechány):



Ve zředěných roztocích, které nejčastěji přicházejí v úvahu právě v analytické chemii, můžeme však takřka vždy počítat s tím, že koncentrace jednojaderných komplexů bude dominantní. V takovém případě se rovnice poněkud zjednoduší do tvaru



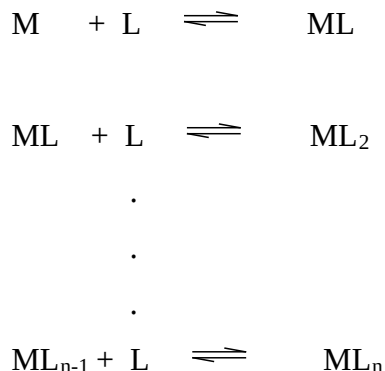
Výsledkem experimentálních měření, kdy u zředěných roztoků budeme předpokládat malou odchylku hodnot koncentrací od aktivit, budou hodnoty rovnovážných konstant. Pro rovnováhu (52) bude tedy platit vztah pro koncentrační konstantu stability:

$$\beta_n = [\text{ML}_n] / \{[\text{M}] [\text{L}]^n\} \quad (53)$$

Uvedená konstanta stability β_n se nazývá též celková konstanta stability. Je dána součinem dílčích (konsekutivních) konstant stability:

$$\beta_n = k_1 \cdot k_2 \cdot \dots \cdot k_n \quad (54)$$

kde konstanty $k_1 \dots k_n$ představují rovnovážné konstanty pro následující reakce:



Uvedené rovnice a existence dílčích i celkové konstanty stability jsou odrazem skutečnosti, že rovnováha (viz rovnice (52)) se neustavuje přímo. Reakcí mezi látkami M a L vznikají postupně komplexy ML až ML_n . Jejich podíl v rovnovážném systému závisí na koncentraci volného ligandu a na hodnotách konstant stability jednotlivých stupňů.

Porovnání hodnot konstant stability souvisí s posouzením komplexotvorných schopností různých ligandů a centrálních iontů. Na základě příslušných výpočtů pak lze odhadovat účinnost analytických separačních postupů či metod stanovení látek založených na tvorbě komplexů.

1.4.3.1. Protonizace ligandů

Ligandy jsou bázemi, které mají při komplexotvorné reakci schopnost poskytovat elektrony kationtům (kovovým iontům). Ve vodných roztocích, obsahujících vždy větší či menší koncentrace vodíkových iontů, dochází však vždy též k interakci ligandů (bází) a protonů (vodíkových iontů). Tyto interakce ovlivňují zásadním způsobem tvorbu komplexů v daném roztoku. Z hlediska Lewisova pojetí kyselin a zásad jsou tyto jevy zcela v souladu s teorií, neboť protony a kovové ionty představují kyseliny v systému a ligandy chápeme jako báze. Jedná se tedy o soutěžení protonů a kovových iontů o vazbu s ligandem. Podobně však mohou probíhat vedlejší komplexotvorné reakce kovu (M) především s ionty, které produkuje rozpouštědlo (ve vodě H^+ , OH^-) a rovněž s ionty nebo molekulami dalších látek, které jsou součástí zejména tlumivých roztoků, velmi často v analytické chemii používaných. Přitom mohou vznikat aquakomplexy, amminkomplexy, kyanokomplexy a řada dalších možných sloučenin, jež odebírají součásti M (a ovšem i L) hlavnímu komplexotvornému pochodu.

Ve vodných roztocích organických činidel („ligandů“) se tedy ustavuje protonizační rovnováha:



Lze ji charakterizovat konstantou stability „komplexu“ HL

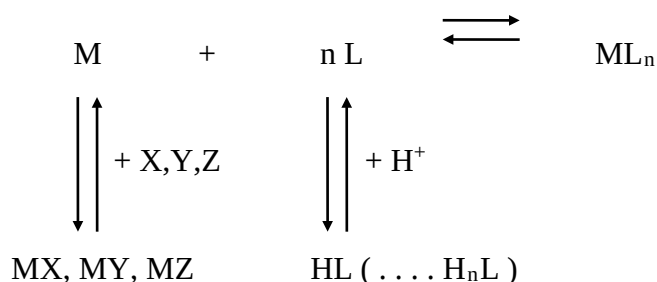
$$k_1 = \beta_1 = [\text{HL}] / \{[\text{H}^+] \cdot [\text{L}]\} \quad (56)$$

nebo (běžněji) disociační konstantou kyseliny HL

$$K_{\text{HL}} = [\text{H}^+] \cdot [\text{L}] / [\text{HL}] \quad (57)$$

Řada ligandů se chová jako vícesystné báze, neboť mohou vázat větší počet vodíkových iontů za vzniku vícesytné kyseliny, např. H_nL . Z rovnic (56) a (57) je rovněž zřejmý vztah mezi disociační konstantou a konstantou stability komplexu (v tomto případě „komplexu“ HL).

Celkový komplexotvorný proces je tedy zvláště v reálných vícesložkových směsích velmi obtížně postižitelný, i když v případě dostatečného množství informací o složení roztoku jej lze zcela exaktně za použití výpočetní techniky modelovat. Rámcový přehled základních komplexotvorných dějů v běžném roztoku je zjednodušeně naznačen na obr. č. 1.1.



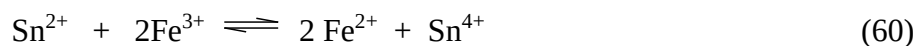
Obr. č. 1.1.: Schéma základních rovnovážných procesů v roztoku z hlediska komplexotvorného

1.4.4. Redoxní rovnováhy

Na rozdíl od protolytických rovnováh, kde jde o výměnu protonů, u redoxních reakcí dochází k výměně elektronů v konjugovaných soustavách oxidovadlo - redukovadlo.



úhrnně:



Při porovnání těchto vztahů s Brönstedovým vyjádřením protolytických rovnováh je zcela zřejmá analogie obou dějů. Rozdíl je pouze v částici, kterou si dvojice látek vyměňuje. Při protolytických dějích se jedná o proton, při redoxních dějích o elektron.

Spřaženost dílčích reakcí vyžaduje, aby tam, kde se jedna látka oxiduje, se jiná látka ve stejném rozsahu redukovala. Vyměňované elektrony nejsou v roztoku schopny samostatné existence a množství elektronů uvolněné redukovadlem se proto ihned váže oxidovadlem.

Ionty Sn^{2+} se v uvedeném příkladu stávají redukovadlem teprve v okamžiku, kdy mají možnost reagovat s látkou oxidačních vlastností, která se při tom bude redukovat (např. Fe^{3+} na Fe^{2+}). Oxidačně-redukční vlastnosti takové soustavy jsou dány rozdílem redoxních potenciálů obou dílčích (a souvisejících) pochodů. Vhodným exaktním měřítkem průběhu celého procesu je porovnání redoxních potenciálů příslušných dílčích reakcí.

1.4.4.1. Redoxní potenciál

Vycházejíce ze základních vztahů v obecné chemii charakterizujících chemickou rovnováhu můžeme rovnovážnou konstantu rovnice (58) vyjádřit jako:

$$K = [\text{Red}] / \{[\text{Ox}] \cdot [\text{e}^-]^n\} \quad (61)$$

Uvedený vztah je jistým kompromisem, správnější by bylo uvedení aktivit místo koncentrací, rovněž koncentrace elektronů je pouze hypotetická a naznačuje míru schopnosti látky v nižším oxidačním stupni odštěpovat elektrony. Koncentraci elektronů v roztoku nelze přímo měřit, lze však experimentálně stanovovat veličiny, které s touto koncentrací bezprostředně souvisejí. Hypotetická koncentrace elektronů v roztoku udává schopnost látky v nižším oxidačním stupni odštěpovat elektrony. Čím je koncentrace elektronů větší, tím je redukovadlo „silnější“ a spřažené oxidovadlo „slabší“. Hodnota K z rovnice (61) by tedy rovněž mohla dobře kvantifikovat daný redoxní děj, ale ani ji nemůžeme přímo měřit.

Ponoříme-li do roztoku obsahujícího sledovaný redoxní pár elektrodu z redoxně indiferentního kovu (zlato, platina), vznikne mezi roztokem a elektrodou rozdíl potenciálů, jelikož elektroda se nabije na určitý potenciál elektrony odštěpenými z látky v nižším oxidačním stupni. Tento potenciál se nazývá redoxní (též redukční či elektrodový) a značí se symbolem E . Čím je jeho hodnota zápornější, tím je tendence látky Red odštěpovat elektrony větší. Ve fyzikální chemii byla nalezena souvislost mezi E a K , která má zásadní význam pro exaktní hodnocení průběhu redoxních dějů:

$$E = (b/n) \cdot \ln \{[\text{Red}] / ([\text{Ox}] \cdot K)\} \quad (62)$$

kde b je konstanta úměrnosti a n je počet vyměněných elektronů. Odtud byl pak dalšími úpravami odvozen vztah známý i v obecné chemii pod názvem Nernstova rovnice:

$$E = E^0 - RT/(nF) \cdot \ln \{[\text{Red}] / [\text{Ox}]\} \quad (63)$$

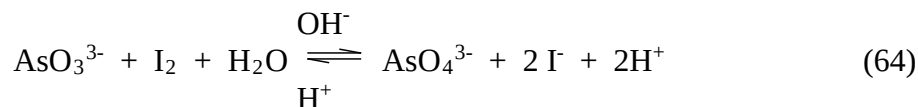
kde R je univerzální plynová konstanta, T je absolutní teplota a F je Faradayova konstanta. E^0 představuje standardní redoxní potenciál dané soustavy, uváděný v běžných chemických tabulkách. Při bližším pohledu na rovnici (63) zjistíme, že při stejné koncentraci oxidovadla i redukovaadla ($[Ox] = [Red]$) platí, že $E = E^0$.

Z tabulek standardních redoxních potenciálů můžeme vyvozovat důležité závěry. Posloupnost E^0 začíná nejsilnějšími redukovaadly (alkalickými kovy a kovy alkalických zemin), končí ušlechtilými kovy a silnými oxidovaadly (MnO_4^-). Vzájemné působení jednotlivých členů řady je relativní, teoreticky každý člen řady je schopen redukovat všechny následující členy s potenciálem pozitivnějším a oxidovat předcházející členy s potenciálem negativnějším. Tato redoxní schopnost je tím větší, čím je větší rozdíl redoxních potenciálů soustav v uvažované směsi.

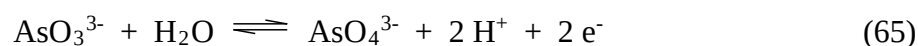
Vhodných příkladů je řada. Kovový zinek bude v roztoku redukovat ionty Fe^{2+} , Sn^{2+} , Pb^{2+} , Bi^{3+} na elementární kovy tím snáze, čím jsou v elektrochemické řadě zinku vzdálenější. Z roztoku Mg^{2+} však kovový hořčík nevyredukuje, ale naopak kovovým hořčíkem vyredukuje ze solí zinečnatých kovový zinek.

Pro analytickou chemii je velmi významné, že redoxní potenciály jsou závislé na pH roztoků tehdy, nastává-li při reakci současně změna v koncentraci vodíkových iontů.

Klasickým příkladem může být redukce jodu arsenitanem, která probíhá v neutrálním či slabě alkalickém prostředí:



Rozepíšeme-li uvedenou reakci na dvě dílčí reakce, dostaneme:



Je zřejmé, že v rovnici (61) se účastní chemického děje též vodíkové ionty a tudíž redoxní potenciál bude záviset významně na pH roztoku. Rovnice (66) není významně na pH roztoku závislá (pozor však, ve velmi silně zásaditém prostředí se může jodid oxidovat částečně na jodnan).

Je tedy možno shrnout, že v slabě zásaditém prostředí ($pH = 6-8$) bude jod redukován arsenitanem, v kyselém prostředí ($pH = 2$) naopak arseničnan oxiduje jodid na jod.

Při všech úvahách opírajících se o výpočty či porovnávání redoxních potenciálů je třeba mít na paměti, že se jedná o termodynamické vztahy. Kinetiku procesu - rychlost dané reakce touto cestou nezjistíme. Některé redoxní reakce probíhají natolik pomalu, že pro analytickou chemii nemají význam, jiné proběhnou pouze v přítomnosti vhodného katalyzátoru. Z analytického hlediska, kdy dbáme na kvantitativní průběh reakcí, jsou významné pouze ty redoxní reakce, kdy se redoxní potenciály obou reagujících systémů liší o více než 0,4 V. Pokud je rozdíl menší, není záruka, že kromě produktů reakce zůstanou ve směsi přítomny i reaktanty v nezanedbatelném množství.

2. Hodnocení výsledků kvantitativní analýzy, chyby chemických rozborů

2.1. Úvod

Při práci na analýze se můžeme dopustit některých chyb, které způsobují, že výsledek neodpovídá plně skutečnosti. Zdroje chyb jsou různé, dopustí se jich i nejpečlivější, zkušený pracovník. Chybami jsou zatíženy i výsledky naměřené dokonalým přístrojem. Zcela vyloučit chyby při analytických postupech nelze. Při práci je třeba postupovat tak, aby chyba, kterou je výsledek zatížen, byla co nejmenší.

2.2. Rozdělení chyb

Chyby, jimiž jsou výsledky analýz zatíženy, se projeví při provedení několika paralelních stanovení na témže vzorku. Podle způsobu, jak se chyby ve výsledcích projevují, je dělíme na náhodné, soustavné a hrubé.

a) Náhodné chyby

Jejich příčiny dobře neznáme. Tyto chyby způsobují, že se výsledky stanovení opakovaných za zcela stejných podmínek od sebe poněkud liší. Náhodné chyby jsou zcela nepravidelné a většinou malé. V průměru tedy výsledky nezkrslují, jelikož naměřené hodnoty zatížené pouze náhodnými chybami se odchylují od přesné hodnoty symetricky v kladném i záporném směru. Náhodné chyby (někdy též zvané statistické chyby) se skládají z velkého počtu často vzájemně se kompenzujících chyb, jež vznikají při jednotlivých operacích analytického postupu. Náhodné chyby se řídí zákony pravděpodobnosti a jejich velikost lze odhadovat pomocí statistických metod.

b) Soustavné chyby

Soustavné chyby jsou buď kladné, nebo záporné a mají stálý charakter. Analytické výsledky zatížené soustavnými chybami jsou buď trvale vyšší či trvale nižší. Ke zkreslení výsledku tedy dochází vždy v jednom směru. Příčiny soustavných chyb jsou zcela konkrétní, jsou způsobeny nevhodnými vlastnostmi metod či přístrojů. Soustavnou chybu může vyvolávat např. nekvantitativní průběh chemické reakce, částečná rozpustnost sraženiny, nesprávná volba indikátoru, malá stabilita komplexu, nepřesnost měřicího přístroje apod. Příčiny soustavných chyb lze zjistit a posléze je můžeme z výsledků měření vyloučit.

c) Hrubé chyby

Vznikají nedopatřením, jsou zaviněny malou pečlivostí analytika. Mohou však být také způsobeny nevhodnou volbou postupu i přes velmi pečlivé provádění analýz. Příkladem hrubých chyb může být nesprávný odečet vah, záměna vzorku, chybný výpočet. Hrubé chyby vedou k výsledkům, které pravidelně výrazně vybočují ze série analýz.

2.3. Základní pojmy

Při stanovení složky ve vzorku nezjistíme nikdy její skutečný obsah μ , ale hodnotu x_i , která je zatížena určitou chybou. Podle charakteru chyb rozeznáváme výsledky přesné a výsledky precizní. Přesné výsledky jsou takové, které se dobře shodují se skutečnou hodnotou, jsou zatíženy pouze náhodnými chybami. Precizní výsledky se vzájemně velmi dobře shodují, ale mohou se lišit od skutečné hodnoty o soustavnou chybu.

O analytických metodách, které dávají precizní výsledky, mluvíme jako o metodách poskytujících dobře reprodukovatelné výsledky. Hlavním předpokladem použitelnosti metody je především dobrá reprodukovatelnost výsledků. Výsledky, které jsou sice v průměru přesné, ale jejichž jednotlivé hodnoty se od průměru značně odchyľují (tzv. pravdivé výsledky), nejsou spolehlivé.

2.4. Shrnutí základních pojmů

Preciznost naměřených výsledků udává, jak blízko sebe jsou výsledky opakovaných měření stejného vzorku.

Přesnost měření představuje rozdíl jednoho konkrétního výsledku a referenční hodnoty. V praxi se popisuje chybou.

Pravdivost měření představuje rozdíl průměru z více výsledků a referenční hodnoty. V praxi se popisuje odchylkou (bias).

Reprodukovatelnost výsledků je dána mírou proměnlivosti ve výsledcích jednotlivých měření na stejném zkušebním materiálu získaných **různými** pracovníky v **různých** laboratořích nebo ve stejné laboratoři v různých obdobích.

Opakovatelnost je dána mírou proměnlivosti ve výsledcích jednotlivých měření na stejném zkušebním materiálu získaných **jedním** pracovníkem v dané laboratoři v různých obdobích.

Systematická chyba je chyba způsobená trvalým nebo pravidelným vlivem.

Náhodná chyba je chyba způsobená nekontrolovatelnými, mnohdy nezjistitelnými vlivy.

2.5. Chyba absolutní a relativní

Jako absolutní chybu (d) určitého stanovení označujeme rozdíl mezi nalezenou hodnotou x_i a skutečnou hodnotou μ , tedy

$$d = x_i - \mu \quad (1)$$

Absolutní chyba má kladné znaménko při $x_i > \mu$ a záporné znaménko při $x_i < \mu$. Většinou však absolutní chybu vyjadřujeme bez zřetele na znaménko, tedy

$$d = |x_i - \mu| \quad (2)$$

Absolutní chyba však neposkytuje informaci o přesnosti výsledku. Proto velmi často při prvních úvahách o přesnosti výsledků počítáme hodnotu relativní chyby (e):

$$e = d / \mu = |x_i - \mu| / \mu \quad (3)$$

Obvykle ji vyjadřujeme v procentech

$$e\% = 100 \cdot d / \mu \quad (4)$$

Protože skutečná hodnota μ není nikdy známa, musíme ji ze získaných výsledků odhadnout. Nejlepším odhadem přesného výsledku analýzy je aritmetický průměr ($\bar{x}$) získaných výsledků, pokud ovšem není zatížen hrubou chybou.

$$\bar{x} = (x_1 + x_2 + \dots + x_n) / n \quad (5)$$

Jednotlivá stanovení se od průměru liší o rozdíl:

$$i = x_i - \bar{x} \quad (6)$$

charakterizující preciznost analýzy. Její pravdivost je dána rozdílem mezi průměrem a skutečnou hodnotou μ , tzv. absolutní chybou průměru:

$$d = | \bar{x} - \mu | \quad (7)$$

Tato hodnota udává pravdivost analýzy.

Jako příklad praktické práce s pojmy absolutní a relativní chyba lze uvést rozbor standardního materiálu obsahujícího 26,27 % Ni a 0,63 % K.

Analýzou bylo v tomto materiálu nalezeno 26,56 % Ni a 0,72 % K. Hodnota absolutní chyby při stanovení Ni činila:

$$d = |26,56 - 26,27| = 0,29 \%$$

při stanovení K:

$$d = |0,72 - 0,63| = 0,09 \%$$

Relativní chyba při stanovení Ni:

$$e\% = 100 \cdot (0,29/26,27) = 1,10 \%$$

Relativní chyba při stanovení K:

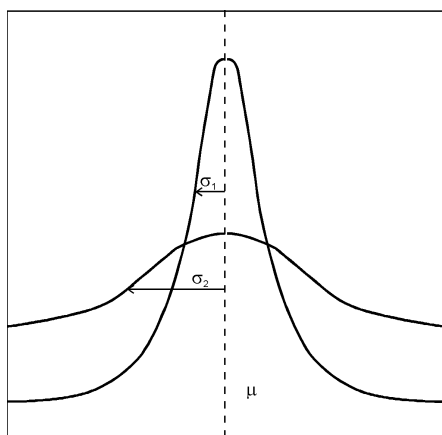
$$e\% = 100 \cdot (0,09/0,63) = 14,3 \%$$

Jak je patrné, je relativní chyba při stanovení draslíku podstatně větší než při stanovení niklu, i když absolutní chyby jsou v obráceném poměru. Podle průměru relativních chyb se dříve (a dnes v prvním přiblížení) hodnotily analytické metody. V gravimetrii bývá nejčastěji $e\% = 1-2 \%$, u titračních metod $1-5 \%$, u instrumentálních metod $5-20 \%$.

Vhodněji než údaj o relativní chybě, vystihuje preciznost metody podrobnější statistické zpracování výsledků analýzy.

2.6. Náhodné chyby

Provedeme-li určitou metodou sérii analýz téhož vzorku, získáme řadu výsledků, které se více či méně odchyľují od průměru. Pokud jsou všechny výsledky zatíženy pouze náhodnými chybami, je podle zákona pravděpodobnosti polovina výsledků zatížena chybou kladnou, druhá polovina chybou zápornou a nejvíce výsledků se pohybuje v okolí průměru. Čím větší je odlehlost výsledků od průměru, tím je jejich četnost menší. Znázorníme-li závislost pravděpodobnosti výskytu chyb na jejich velikosti, dostaneme tzv. Gaussovu křivku (obr. č. 2.1.).



Obr. č. 2.1.: Gaussova křivka. μ = skutečná hodnota, σ = směrodatná odchylka

V matematickém popisu tzv. normálního (Gaussova) rozdělení chyb vystupují dva parametry: skutečná či nejpravděpodobnější hodnota μ a směrodatná odchylka σ .

Směrodatná odchylka představuje absolutní chybu pro takové x_i , kterému odpovídá na Gaussově křivce inflexní bod a je měřítkem preciznosti analytických výsledků. Metoda je tím preciznější, čím je hodnota směrodatné odchylky menší. Na obr. č. 2.1. jsou znázorněny dvě Gaussovy křivky. Křivka 1 představuje sérii výsledků, které jsou nakupeny kolem skutečné hodnoty; křivka 2 přísluší výsledkům, které jsou od skutečné hodnoty více vzdáleny. Je zřejmé, že σ_2 má vyšší hodnotu. Přesnou hodnotu směrodatné odchylky nelze určit, protože neznáme skutečnou hodnotu μ , ale pouze její odhad, aritmetický průměr.

Proto se místo směrodatné odchylky σ zavádí pro informaci o preciznosti výsledků analýz tzv. odhad směrodatné odchylky s .

Odhad směrodatné odchylky se počítá různým způsobem, podle toho, jaké soubory výsledků zpracováváme. Při větším počtu paralelních analýz vzorku se odhad směrodatné odchylky může vypočítat ze vztahu:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (8)$$

kde n je počet stanovení. Uvedený vztah (8) můžeme použít za předpokladu, že $n > 10$.

Při menším počtu stanovení používáme pro odhad směrodatné odchylky tzv. rozpětí, tj. rozdíl mezi největším a nejmenším výsledkem v sérii paralelních stanovení jednoho vzorku. Počítáme dle vztahu:

$$s = k_n \cdot R \quad (9)$$

kde R je rozpětí, k_n je Dean-Dixonův koeficient pro výpočet směrodatné odchylky z rozpětí R . Hodnoty Dean-Dixonova koeficientu k_n jsou uvedeny v tabulce 2.1.

Tabulka 2.1.: Koeficienty k_n pro výpočet směrodatné odchylky z rozpětí

n	k_n	n	k_n	n	k_n
2	0,8862	5	0,4299	8	0,3512
3	0,5908	6	0,3946	9	0,3367
4	0,4857	7	0,3698	10	0,3249

Jestliže konečný výsledek uvádíme jako průměr n paralelních stanovení, je preciznost tohoto průměru charakterizovaná směrodatnou odchylkou průměru a dána vztahem (10).

$$s_{\bar{x}} = s / \sqrt{n} \quad (10)$$

Často se v analytické chemii používá tzv. relativní směrodatná odchylka s_r , v anglosaské literatuře označovaná jako RSD (relative standard deviation).

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}}$$

Obvykle je vyjádřena v procentech:

$$s_r = \frac{100s}{\bar{x}}$$

Podle hodnoty s_x se určuje nejčastěji používaná charakteristika preciznosti výsledků, tzv. interval spolehlivosti. Je to interval, v němž s určitou, předem zvolenou pravděpodobností α leží přesný výsledek za předpokladu, že jsou výsledky zatíženy jen náhodnými chybami. Zvolená pravděpodobnost se označuje jako hladina významnosti.

Nejčastěji se volí $\alpha = 0,05$, tedy výsledky leží s 95%ní pravděpodobností ve vypočteném intervalu.

Interval spolehlivosti vypočteme podle vztahu:

$$L_{1,2} = \bar{x} \pm t_{\alpha} \cdot s_x \quad (11)$$

nebo z rozpětí:

$$L_{1,2} = \bar{x} \pm K_n \cdot R \quad (12)$$

kde L_1 je dolní mez intervalu spolehlivosti, L_2 je horní mez intervalu spolehlivosti, t_α je kritická hodnota Studentova rozdělení pro zvolenou hladinu významnosti a počet stupňů volnosti $v = n - 1$ (hodnoty t_α jsou uvedeny v tabulce 2.2.).

Tabulka 2.2.: Hodnoty t_α pro výpočet intervalu spolehlivosti s 95%ní pravděpodobností

v	t_α	v	t_α	v	t_α	v	t_α
1	12,706	7	2,365	13	2,160	19	2,093
2	4,303	8	2,306	14	2,145	20	2,086
3	3,182	9	2,262	15	2,131	25	2,060
4	2,776	10	2,228	16	2,120	30	2,042
5	2,571	11	2,201	17	2,110	40	2,021
6	2,447	12	2,179	18	2,101	50	2,008

Hodnoty koeficientu K_n , jenž se používá v případě výpočtu intervalu spolehlivosti z rozpětí R , jsou uvedeny v tabulce 2.3.

Tabulka 2.3.: Hodnoty K_n pro výpočet intervalu spolehlivosti s 95%ní pravděpodobností

n	K_n	n	K_n	n	K_n
2	6,40	5	0,51	8	0,29
3	1,30	6	0,40	9	0,26
4	0,72	7	0,33	10	0,23

2.7. Soustavné chyby

Soustavné chyby zjišťujeme obvykle analýzou standardního vzorku a porovnáním výsledků analýzy ($\bar{x}$) s deklarovanou hodnotou (μ). Při zjišťování statistické významnosti tohoto rozdílu používáme buď tzv. Studentův test t či Lordův test u .

Při testování postupujeme tak, že předem zvolíme určitou hladinu významnosti α , při které lze ještě připustit náhodnou chybu, a zjišťujeme, zda nalezený rozdíl je větší či menší než kritická hodnota pro zvolenou hladinu významnosti.

V případě většího počtu výsledků ($n \geq 10$) používáme pro posouzení rozdílu mezi průměrem $\bar{x}$ a známou správnou hodnotou μ Studentovo kritérium

$$t = |\bar{x} - \mu| \cdot \sqrt{n} / s \quad (13)$$

Platí-li, že $t < t_\alpha$ (t_α viz tab. 2.2.), není rozdíl $|\bar{x} - \mu|$ statisticky významný.

Testujeme-li statistickou významnost rozdílu mezi dvěma analytickými metodami A a B, provedeme obvykle pomocí obou metod paralelní analýzy téhož vzorku. Pro stejný počet analýz metodou A i B ($n = n_A = n_B$) vypočteme $\bar{x}_A$, $\bar{x}_B$. Pak platí:

$$t = |\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{(n-1) / (s_A^2 + s_B^2)} \quad (14)$$

kde s_A a s_B jsou odhady směrodatných odchylek výsledků analýz provedených metodou A a metodou B. Platí-li $t < t_\alpha$, není rozdíl průměrů $\bar{x}_A$ a $\bar{x}_B$ statisticky významný.

Je-li k dispozici jen malý počet výsledků, musíme použít k testování Lordův test u , jenž využívá ve výpočtu rozpětí výsledků R :

$$u = |\bar{x} - \mu| / R \quad (15)$$

Hodnotu u porovnáme s tabelovanou hodnotou u_α pro určité n (tab. 2.4.).

Tabulka 2.4.: Hodnoty u_α a u'_α u pro Lordův test při 95%ní pravděpodobnosti

n	u_α	u'_α	n	u_α	u'_α	n	u_α	u'_α
2	6,353	1,714	5	0,507	0,306	8	0,288	0,186
3	1,304	0,636	6	0,399	0,250	9	0,255	0,167
4	0,917	0,406	7	0,333	0,213	10	0,230	0,152

Je-li $u < u_\alpha$, není rozdíl $|\bar{x} - \mu|$ statisticky významný a výsledek není zatížen soustavnou chybou. Obdobně k testování rozdílu mezi $\bar{x}_A$ a $\bar{x}_B$ lze použít Lordův test:

$$u' = |\bar{x}_A - \bar{x}_B| / (R_A + R_B) \quad (16)$$

V tomto případě však porovnááme vypočtenou hodnotu u' s tabelovanou hodnotou u'_α . Je-li $u' < u'_\alpha$, není rozdíl průměrů statisticky významný.

2.8. Hrubé chyby

Hrubé chyby mohou závažně ohrozit přesnost konečných výsledků. Projevují se zpravidla nápadnou odlehlostí výsledků od ostatních hodnot. K objektivnějšímu posouzení odlehlosti

výsledků se používá tzv. Q-test. Výsledky se seřadí podle velikosti, např.: $x_1 < x_2 < \dots < x_n$ a podle toho, zda je odlehlý nejmenší (x_1) či největší (x_n) výsledek, se dosadí do vztahů

$$Q_1 = (x_2 - x_1) / R \quad Q_n = (x_n - x_{n-1}) / R \quad (17)$$

kde R je rozpětí. Je-li vypočtená hodnota Q_1 nebo Q_n rovna nebo větší než hodnota Q_α (tabulka 2.5.), musí se odlehlý výsledek vyloučit a teprve poté počítat obvyklé statistické veličiny ($\bar{x}$, s , aj.). Vylučovat lze jen ze tří a více výsledků.

Tabulka 2.5.: Hodnoty Q_α pro vylučování odlehlých výsledků s 95%ní pravděpodobností

n	Q_α	n	Q_α
3	0,941	7	0,507
4	0,765	8	0,468
5	0,642	9	0,437
6	0,560	10	0,412

3. Validace analytických metod

Validace je proces, při kterém se určuje vhodnost použití daného analytického systému pro získání spolehlivých dat. Při validaci metody se posuzuje, zda jsou její parametry srovnatelné s požadavky na analytická data. Analytická laboratoř musí validovat nenormalizované metody, metody laboratoří vyvinuté a normalizované metody, které jsou v určitém směru rozšířené nebo modifikované. Základními validovanými parametry (charakteristikami metod) jsou selektivita, pracovní rozsah, lineární dynamický rozsah, citlivost, mez detekce, mez stanovitelnosti, přesnost, pravdivost a preciznost. S ohledem na stále dostupnější zahraniční literaturu uvádíme u jednotlivých charakteristik metod i jejich názvy v anglickém jazyce.

3.1. Selektivita (selectivity)

Selektivita metody udává rozsah, do kterého může být jednotlivý analyt (nebo skupina analytů) stanoven v komplexní směsi, aniž by došlo k interferenci s ostatními složkami ve směsi. O metodě, která je naprosto selektivní pro analyt nebo skupinu analytů, říkáme, že je specifická. Použitelnost metody by měla být studována pomocí různých vzorků, od čistých standardů po směsi s komplexními maticemi. Vždy by měla být uvedena výtěžnost analytu a vlivy předpokládaných interferencí.

3.2. Pracovní rozsah (working range)

Pracovní rozsah analytické metody je koncentrační rozsah, v němž lze dosáhnout přijatelné přesnosti a preciznosti stanovení. Pracovní rozsah je obecně širší než lineární dynamický rozsah, který se stanovuje analýzou určitého počtu vzorků s odlišnou koncentrací analytu a vypočtením regrese výsledků, například použitím metody nejmenších čtverců. Aby byla metoda použitelná a spolehlivá, nemusí být vztah mezi koncentrací analytu a odezvou vždy naprosto lineární. Pracovní rozsah je obvykle dán rozsahem kalibrační křivky, rozsahem uvedeným v pracovních návodech přístroje od výrobce nebo může být stanoven kvalifikovaným odhadem.

3.3. Lineární dynamický rozsah (linear dynamic range)

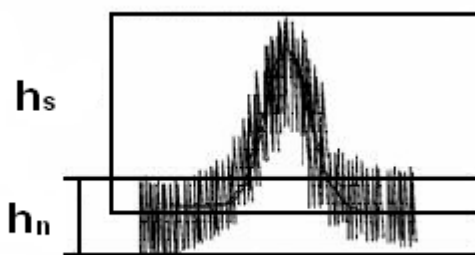
Lineární dynamický rozsah je šířkou intervalu koncentrací, kde je signál lineárně závislý na koncentraci (množství) analytu. Pro analytický signál můžeme napsat vztah: $S = s \cdot c^x$ (S - signál, s - citlivost, c - koncentrace analytu, x - koeficient linearity). V rámci lineárního dynamického rozsahu by mělo v ideálním případě platit: $x = 1,00$. V praxi se však většinou zavádí mírnější podmínka: $0,98 < x < 1,02$. Dolní hranicí lineárního dynamického rozsahu často bývá mez stanovitelnosti, neboť tato hodnota představuje nejmenší množství látky, které lze spolehlivě změřit. Při nižších koncentracích analytu nelze objektivně uvažovat, zda je signál lineárně závislý na množství analytu.

3.4. Citlivost (sensitivity)

Citlivost měřicího zařízení (respektive analytické metody) představuje transformační funkci výstup/vstup. Lze ji vyjádřit jako směrnici kalibrační funkce. Citlivost je ve své podstatě součinem konstrukčních vlastností detektoru a vlastností specifických pro analyt. Matematicky ji můžeme vyjádřit pomocí vztahu: $s = k \cdot a = S / c^x$, kde k je konstantou odpovídající konstrukčním vlastnostem detektoru (např. délka kyvety v Lambertově-Beerově zákonu), a je konstantou představující vlastnosti specifické pro analyt (v případě Lambertova-Beerova zákona molární absorpční koeficient), S představuje analytický signál (například absorbance při spektrofotometrickém stanovení), c je koncentrace (popřípadě množství) analytu a x značí koeficient linearity. Z uvedeného vztahu je patrné, že citlivost je konstantní a nezávislá na množství analytu pouze při $x = 1$ (lineární závislost signálu na množství analytu).

3.5. Mez detekce (limit of detection, LOD)

Meze detekce a stanovitelnosti jsou klasifikačními deskriptory oblastí měření, v nichž je malá jistota, že změna signálu je způsobena změnou množství analytu. Základem odvození uvedených deskriptorů je určit velikost statisticky nejistého signálu vztaženého na velikost šumu nebo na nejistotu kalibrační křivky. Mez detekce představuje nejmenší množství látky, které lze jednoznačně postřehnout, avšak nelze je spolehlivě změřit. Mez detekce lze určit několika různými způsoby: na základě 3σ , $3s_A$ nebo $3h_n$ kriteria. U spektrometrických analytických metod se mez detekce obvykle určuje jako koncentrace analytu, které odpovídá signál rovný trojnásobku směrodatné odchylky signálu nulového vzorku (3σ kritérium). Tento trojnásobek by teoreticky měl zaručit 99,86% pravděpodobnost, že daný analyt je ve vzorku přítomen. V praxi však musíme počítat spíše s pravděpodobností 90%. Preciznost analýzy na úrovni meze detekce bývá velice nízká, vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou činí zhruba 40%. Při určování meze detekce se experimentálně postupuje tak, že se za podmínek dané analytické metody změří desetkrát co nejtěsněji za sebou signál téhož nulového vzorku (blanku) a vypočítá se odhad standardní směrodatné odchylky v tomto souboru měření (σ). Současně se sestaví kalibrační křivka v oboru nízkých koncentrací, kde je lineární. Mez detekce se určí z této kalibrace jako koncentrace odpovídající signálu 3σ . U separačních analytických metod se mez detekce stanovuje jako koncentrace odpovídající signálu $3s_A$ (s_A je chyba koeficientu a v rovnici lineární regrese) nebo $3h_n$ (h_n představuje šum základní linie; viz obr. č. 3.1.).



Obr. č. 3.1.: Šum základní linie (h_n) a signál analytu (h_s)

3.6. Mez stanovitelnosti (limit of quantification, LOQ)

Mez stanovitelnosti je nejmenší množství analytu ve vzorku, které můžeme danou analytickou metodou ještě stanovit s přijatelnou precizností. Na úrovni meze stanovitelnosti je preciznost analýzy vyjádřena relativní směrodatnou odchylkou zhruba 10%. Při určování meze stanovitelnosti se experimentálně postupuje podobně jako u meze detekce. Využívá se zde 10σ , $10s_A$ nebo $10h_n$ kriteria. Význam parametrů σ , s_A a h_n je shodný jako u meze detekce.

3.7. Přesnost (accuracy; do roku 2008 označována jako správnost)

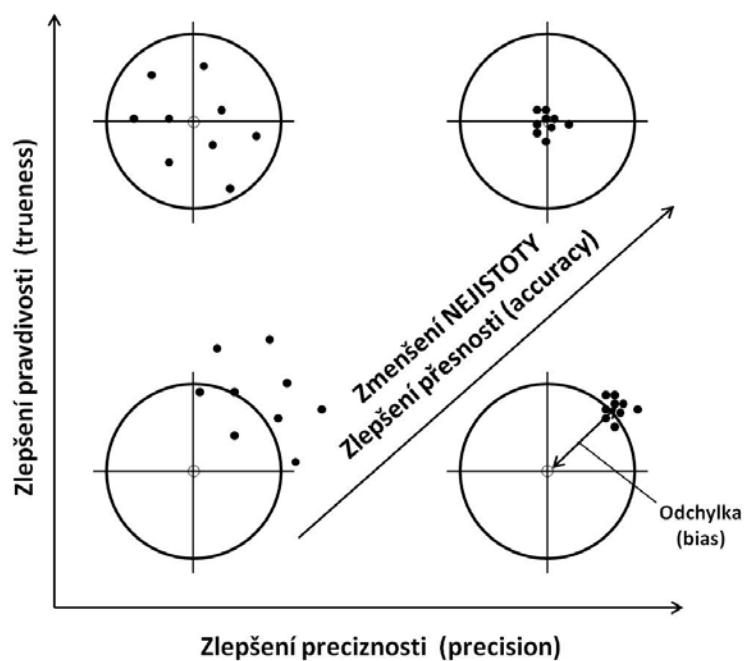
Přesnost analytické metody je mírou těsnosti shody získané hodnoty a skutečné hodnoty obsahu analytu (obr. č. 3.2.). Lze ji určit analýzou vhodného certifikovaného referenčního materiálu. V případě, že referenční materiál není dostupný, může být přesnost zjištěna jako výtěžnost metodou standardních přídavek (spikované vzorky, spikované blanky, standardy). Přesnost je možné také určit porovnáním výsledků s výsledky, které byly získány pomocí jiné, nezávislé metody nebo prostřednictvím mezilaboratorního testování.

3.8. Preciznost (precision; do roku 2008 označována jako přesnost)

Preciznost analytické metody představuje míru těsnosti shody mezi vzájemně nezávislými výsledky měření (obr. č. 3.2.). Preciznost měření je dána náhodnou chybou. Většinou se předpokládá normální rozdělení pravděpodobnosti náhodné chyby. Proto vyjadřování preciznosti vychází ze směrodatné odchylky. Preciznost může být vyjádřena různými způsoby, které jsou závislé na podmínkách, za nichž je vypočtena.

Opakovatelnost (repeatability) je preciznost určená jako směrodatná odchylka výsledků analýz provedených v určité laboratoři na stejném vzorku, stejným pracovníkem za použití stejného přístroje a nezměněné kalibrace mezi jednotlivými měřeními (obvykle se vyjadřuje relativně v %).

Reprodukovatelnost (reproducibility) je preciznost určená jako směrodatná odchylka výsledků získaných na stejném homogenním vzorku stejnou metodou, avšak v různých laboratořích, různými pracovníky v různých časech a na různých zařízeních (obvykle se vyjadřuje relativně v %).



Obr. č. 3.2.: Preciznost (jak blízko sebe jsou výsledky opakovaných měření stejného vzorků), přesnost (rozdíl jednoho výsledku a referenční hodnoty, popisuje se chybou) a pravdivost (rozdíl průměru z více výsledků a referenční hodnoty, popisuje se odchylkou) dle terminologie platné od roku 2009

4. Anorganická kvalitativní analýza

Klasická kvalitativní chemická analýza využívá k důkazu látek vhodných chemických reakcí, jejichž výběr je dán charakterem vzorku a účelem, který má analýza splnit. Často se vyžaduje pouze důkaz jedné nebo několika složek ve směsi, např. důkaz malých množství nečistot ve vzorku, takže analýzu lze obvykle provést s použitím vhodných selektivních činidel. Důkazové reakce v kvalitativní analýze poskytují rychlou, levnou a spolehlivou informaci o přítomnosti hledané složky ve vzorku. Někdy se však vyskytuje i požadavek celkové analýzy, tedy zjištění všech složek vzorku neznámého složení, které mohou být přítomny i ve velmi rozdílném množství.

Ve většině případů se dnes k řešení těchto komplexnějších analytických úkolů využívají vhodné instrumentální metody, avšak bez znalosti základních postupů v klasické kvalitativní chemické analýze se neobejdeme ani dnes. Dobrá znalost principů kvalitativní analýzy je zásadní při volbě správných postupů pro separace látek a je významnou oporou při řešení problémů v instrumentální analýze.

4.1. Reakce skupinové, selektivní a specifické

Skupinové reakce jsou takové, jimiž dokazujeme přítomnost určité skupiny iontů. Sulfidem amonným se např. sráží velká skupina kationtů těžkých kovů. Nesrážejí se pouze ionty alkalických kovů a kovů alkalických zemin. Vznikající sraženina není chemicky jednotná, představuje směs sulfidů a hydroxidů. Takto vysrážené sulfidy a hydroxidy se mnohdy liší zbarvením i rozpustností v kyselinách, v případě směsi však rozeznáme přítomnost jednotlivých sloučenin jen málokdy. Obdobně soli barnaté, strontnaté a vápenaté se srážejí z roztoku společně pomocí šťavelanu amonného.

Selektivní reakce jsou za předepsaných podmínek charakteristické pro omezený počet iontů. Míra selektivity je závislá na reakčních podmínkách. Patří sem největší počet analytických reakcí. Volbou několika selektivních reakcí můžeme uvažovaný ion jednoznačně dokázat. Selektivní reakce volíme tak, aby jejich selektivita umožňovala důkaz iontu vedle ostatních iontů dané skupiny.

Reakce mohou mít různé stupně selektivity, závislé na reakčních podmínkách (pH, teplotě atd.). Hexakynoželezitan draselný sráží řadu kationtů, je však selektivním činidlem pro soli železité a měďnaté, s nimiž tvoří výrazně zbarvené sloučeniny.

Specifické reakce dovolují přímý důkaz iontu za přítomnosti iontů ostatních. Specifičnost reakcí je dána přesným vymezením podmínek, za nichž reaguje pouze jediný z iontů. Proto nelze mluvit o specifických činidlech, ale o specifických reakcích. Specifičnosti reakcí se dosahuje také maskováním rušivých iontů, kombinacemi selektivních reakcí nebo úpravou postupu tak, aby rušivé ionty byly odstraněny. Pozitivní průběh specifické reakce za předepsaných podmínek tedy jednoznačně dokazuje přítomnost určité látky. Bisacetyldioxim dává v neutrálním či slabě alkalickém prostředí specifickou reakci s Ni^{2+} i Fe^{2+} , jelikož však oba produkty reakce jsou natolik různé, že je nelze zaměnit (Ni^{2+} - červená sraženina, Fe^{2+} - červený roztok), považujeme takovouto reakci za specifickou.

4.2. Skupinové reakce

Skupinové reakce jsou hlavním vodítkem klasické kvalitativní analýzy. Pozitivní skupinová reakce naznačuje, které ionty mohou být v roztoku přítomny, negativní reakce vylučuje přítomnost celé skupiny iontů. V průběhu doby byly vypracovány postupy sestávající ze sérií srážecích skupinových reakcí, při nichž se odděluje jedna skupina iontů za druhou. Nejpodrobněji jsou tyto postupy rozpracovány pro dělení kationtů, u aniontů se žádný detailnější analytický algoritmus neosvědčil. Ani u kationtů však nedosáhla soustava dělení univerzálnosti. V případě velkého počtu iontů ve vzorku dochází při postupném oddělování sraženin ke ztrátám některých minoritních složek vzorku adsorpcí na sraženiny. Velký počet selektivních a specifických reakcí, které dnes známe, umožňuje zjednodušení některých dělicích postupů a vede často k efektivní kombinaci skupinových a selektivních reakcí.

Nejběžnějšími skupinovými činidly **pro kationty** jsou: HCl, H_2SO_4 , H_2S , NH_4SH , NH_4OH , NaOH, $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, Na_2CO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, Na_2HPO_4 , K_2CrO_4 , KI.

Pro anionty: BaCl_2 , AgNO_3 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , KMnO_4 , I_2 , I^- aj.

4.2.1. Reakce HCl ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$)

Zředěná kyselina chlorovodíková sráží

- a) nerozpustné chloridy AgCl , Hg_2Cl_2
- b) málo rozpustné chloridy PbCl_2 , TlCl .

Do skupiny nerozpustných chloridů patří také CuCl a AuCl . Soli mědné a zlatné jsou však neběžné a většinou tak nerozpustné ve vodě, že se jejich srážení z roztoků zředěnou HCl prakticky neprovádí.

Charakteristické jsou reakce sraženin chloridů s amoniakem. AgCl se ihned rozpustí na $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$, po okyselení tohoto roztoku se vylučuje zpět bílá sraženina AgCl . AgCl na světle zvolna fialoví, až šedne.

Hg_2Cl_2 účinkem amoniaku zčerná vyloučením rtuti na bílé sraženině HgNH_2Cl .

PbCl_2 a TlCl se účinkem amoniaku nemění.

Krystalické sraženiny PbCl_2 a TlCl jsou rozpustné v horké vodě a při chladnutí roztoků krystalují v charakteristických jehličkách. Chlorid thalný barví na rozdíl od chloridu olovnatého plamen zeleně.

Při skupinové reakci chloridů mohou nastat některé komplikace. Okyselením roztoků se mohou vylučovat bílé sraženiny: $\text{SiO}_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{H}_2\text{WO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a bílé zákalý koloidní síry vznikající rozkladem polysulfidů a thiosíranů. Sraženina kyseliny křemičité je amorfni, gelovitá, čímž se liší od sraženiny chloridů. Kyselina boritá se rozpouští v horké vodě a po vychladnutí roztoku krystaluje v lesklých šupinkách. Kyselina wolframová zahřátím

zežloutne. Koloidní síra povařením roztoku koaguluje, takže je filtrovatelná a lze ji prokázat hořením v plameni. Abychom se vyhnuli možným komplikacím, spojeným s okyselením vzorku, použijeme nejprve k okyselení kyselinu dusičnou, případnou sraženinu oddělíme a reakce zředěné kyseliny chlorovodíkové zkusíme až v kyselém filtrátu.

4.2.2. Reakce H_2SO_4 ($c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$)

Zředěná kyselina sírová poskytuje krystalické sraženiny síranů:

PbSO_4 , BaSO_4 , SrSO_4 , (CaSO_4 , Hg_2SO_4 , Ag_2SO_4 jen z koncentrovanějších roztoků).

Síran strontnatý se sráží zvolna, kdežto BaSO_4 a PbSO_4 se srážejí okamžitě. Pro rozlišování síranů je vhodné srážení nasyceným roztokem síranu vápenatého ve vodě:

Ba^{2+} a Pb^{2+} poskytují sraženinu ihned

Sr^{2+} se sráží zvolna

Ca^{2+} se nesráží.

Pro PbSO_4 je typickou reakcí vznik černého PbS , pokápneme-li sraženinu PbSO_4 roztokem sulfanu či sulfidu sodného.

Skupinové reakce zředěné kyseliny sírové mohou být komplikovány obdobně jako reakce zředěné kyseliny chlorovodíkové vylučováním sraženin v důsledku snížení pH roztoku. V takovém případě je možno srážet velmi slabě okyselený vzorek roztokem síranu draselného.

4.2.3. Reakce roztoku šťavelanu amonného ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$)

Zředěná kyselina šťavelová sráží šťavelany Ca^{2+} , Sr^{2+} a Ba^{2+} . Tyto sraženiny obecného vzorce $\text{MeC}_2\text{O}_4 \cdot n \text{H}_2\text{O}$ jsou nerozpustné ve vodě i v nadbytku šťavelanu amonného. Ve zředěné kyselině octové je šťavelan barnatý rozpustný, šťavelan strontnatý částečně rozpustný a šťavelan vápenatý nerozpustný. V prostředí zředěné kyseliny octové tedy můžeme kvantitativně vysrážet šťavelanem amonným Ca^{2+} , částečně Sr^{2+} , avšak Ba^{2+} se nesráží. Jestliže budeme srážet kyselinou šťavelovou ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$), pak v tomto (kyselém) prostředí vznikají sraženiny v opačném pořadí než při srážení roztokem síranu vápenatého.

Ca^{2+} - poskytuje okamžitě bílou sraženinu

Sr^{2+} - sraženina vzniká zvolna, po několika minutách

Ba^{2+} - nesráží se

Kyselina šťavelová ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) sráží rovněž skupinu lanthanoidů. Lanthanoidy poskytují bílé sraženiny, které se nerozpouštějí v nadbytku kyseliny šťavelové, jsou však rozpustné v roztoku šťavelanu amonného, takže po přidání amoniaku k sraženinám šťavelanů po srážení kyselinou šťavelovou se rozpouštějí, kdežto šťavelany kovů alkalických zemin zůstanou po přidavku amoniaku nerozpouštěné.

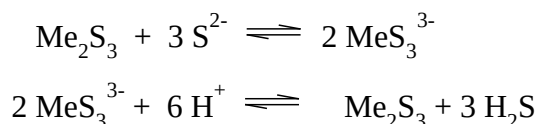
Málo rozpustné šťavelany tvoří též: Ag^+ , Pb^{2+} , Tl^+ , Cu^{2+} a Bi^{3+} . Odstraněním nerozpustných chloridů a zkoušením neutralizovaného filtrátu se skupinová reakce šťavelanu resp. kyseliny šťavelové stává přehlednější.

4.2.4. Reakce sulfidu amonného

Činidlo se připraví zředěním koncentrovaného roztoku amoniaku 1 : 1 vodou a nasycením roztoku sulfanem.

Sulfid amonný je skupinovým činidlem na kationty těžkých kovů. Jeho reakce jsou většinou velmi citlivé. Reaguje s kationty všech kovů s výjimkou alkalických kovů a kovů alkalických zemin.

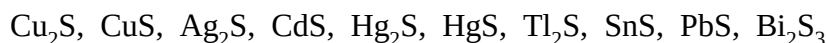
Poskytuje sraženiny sulfidů, které jsou v alkalickém prostředí velmi nerozpustné a sraženiny hydroxidů vznikajících při okamžité hydrolyze některých sulfidů. Některé sulfidy se v nadbytku činidla snadno rozpouštějí za vzniku rozpustných thiosloučenin, z jejichž roztoků se po okyselení zpět vylučují sulfidy.



Sulfidem amonným dělíme kationty na tři skupiny:

I. Skupina nerozpustných sulfidů (A) a hydroxidů (B):

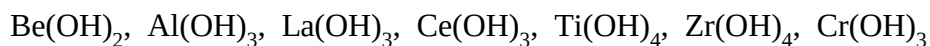
A. a) sulfidy, srážející se i z kyselého prostředí:



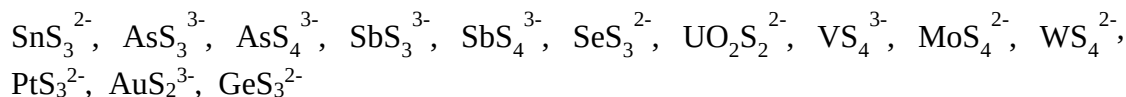
b) sulfidy srážející se jen z neutrálního nebo z alkalického prostředí:



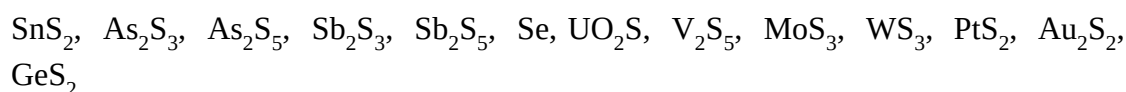
B. hydroxidy



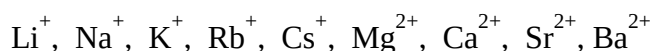
II. Skupina rozpustných thiosloučenin:



Okyselením roztoků těchto thiosolí se vylučují sraženiny sulfidů:



III. Skupina iontů, které se sulfidem amonným nesrážejí:



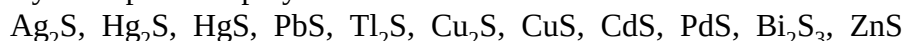
Kapku vzorku zalkalizujeme kapkou amoniaku a přidáme 1–2 kapky sulfidu amonného. Vznikne-li sraženina, všímáme si jejího zbarvení, rozpustnosti v nadbytku činidla a rozpustnosti v kyselinách. Nevznikne-li sraženina, přidáme 2 kapky zřed. HCl a sledujeme, zda vznikají sulfidy rozkladem thiokomplexů.

Reakce sulfidu amonného jsou velmi citlivé a spolehlivé, zvláště tehdy, je-li produktem reakce sulfid. Lze je použít pro kontrolu znečištění různých preparátů stopami těžkých kovů (Fe^{3+} , Cu^{2+} , atd.).

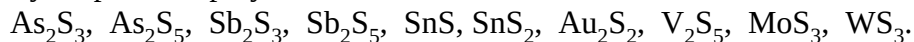
4.2.5. Reakce sulfanu

Činidlem je nasycený roztok sulfanu ve vodě. Sulfan sráží z kyselého prostředí pouze ty sulfidy, které jsou nerozpustné ve zředěných kyselinách. Je to menší skupina nerozpustných sulfidů než při srážení sulfidem amonným v alkalickém prostředí. U sraženin zkoušíme rozpustnost v polysulfidu amonném, který dělí sulfidy na dvě podskupiny:

A. Sulfidy nerozpustné v polysulfidu amonném:



B. Sulfidy rozpustné v polysulfidu amonném:

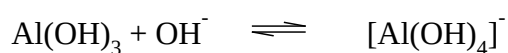
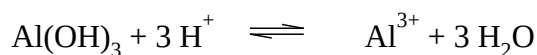


Sulfid zinečnatý se sráží jen z velmi slabě kyselého prostředí, sulfidy As_2S_3 a As_2S_5 naopak jen ze silně kyselého prostředí.

4.2.6. Reakce alkalických hydroxidů

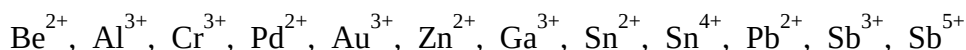
Pro srážení se používá roztok NaOH ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$), pro zkoušení rozpustnosti sraženin v nadbytku hydroxidu používáme roztok NaOH o koncentraci $c = 2 \text{ mol.l}^{-1}$. Ve vodě jsou rozpustné pouze hydroxidy alkalických kovů a hydroxid thalný. Částečně rozpustné jsou také hydroxidy $\text{Ba}(\text{OH})_2$, $\text{Sr}(\text{OH})_2$ a $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a jejich reakce je rovněž silně zásaditá. Hydroxidy ostatních kovů jsou ve vodě nerozpustné. Kromě rozpustnosti hydroxidů v nadbytku činidla sleduje se též případná oxidační změna sraženiny hydroxidu vyvolaná účinkem 3% roztoku peroxidu vodíku.

Velká skupina hydroxidů jsou amfoterní látky rozpustné v kyselinách i v zásadách:

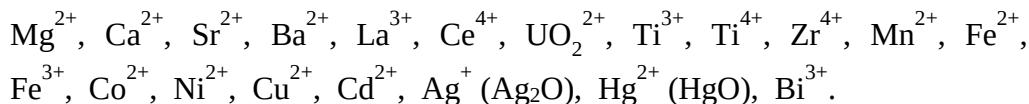


Vysrážené hydroxidy můžeme rozdělit do tří podskupin:

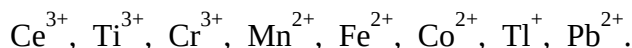
A. Amfoterní hydroxidy, rozpustné v přebytku NaOH ($c = 2 \text{ mol.l}^{-1}$)



B. Neamfoterní hydroxidy, nerozpustné v přebytku NaOH:



C. Hydroxidy, které se účinkem 3% H_2O_2 oxidují za barevné změny:



Již vzdušnou oxidací dochází k barevným změnám některých hydroxidů. Bílé hydroxidy $\text{Mn}(\text{OH})_2$ a $\text{Fe}(\text{OH})_2$ rychle hnědnou, hydroxid $\text{Ce}(\text{OH})_3$ žlutne. Růžový $\text{Co}(\text{OH})_2$ hnědne na vzduchu pomalu. $\text{Pb}(\text{OH})_2$ a $\text{Bi}(\text{OH})_3$ se účinkem H_2O_2 oxidují na hnědé produkty, TlOH přechází na hnědou sraženinu $\text{Tl}(\text{OH})_3$, hydroxid $\text{Cr}(\text{OH})_3$ se oxiduje na žluté roztoky CrO_4^{2-} . Světle modrý $\text{Cu}(\text{OH})_2$ se po zahřátí (bez H_2O_2) mění ve hnědočerný CuO . Soli Ag^+ a Hg^{2+} poskytují při srážení hydroxidem příslušné oxidy.

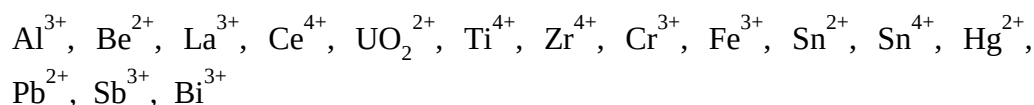
Z analytického hlediska je důležité vědět, že srážení každého hydroxidu nastává při určité hodnotě pH. Některé hydroxidy se srážejí již v kyselém prostředí (hydroxidy kovů s vyšším oxidačním stupněm) - např. $\text{Sn}(\text{OH})_4$, $\text{Ti}(\text{OH})_4$, $\text{Al}(\text{OH})_3$.

Jiné se srážejí v prostředí neutrálním např. $\text{Zn}(\text{OH})_2$, $\text{Pb}(\text{OH})_2$, některé v prostředí alkalickém - $\text{Mn}(\text{OH})_2$, $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Řízenou změnou pH můžeme různé kovy od sebe oddělit postupným srážením jejich hydroxidů. Rovněž je velmi důležité si uvědomit, že k tomu, abychom v roztoku vzorku udrželi v rozpustné formě kovy s vyšším oxidačním stupněm (Fe^{3+} , Al^{3+} , Ti^{3+} apod.), musí roztok vykazovat kyselou reakci. V opačném případě dojde k hydrolýze těchto kovových iontů na nerozpustné produkty, které se vyloučí na dně či stěnách nádoby. Tuto skutečnost musíme mít stále na paměti zvláště při kvantitativní analýze.

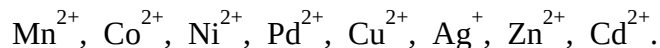
4.2.7. Reakce amoniaku

Jako srážecí činidlo se používá roztok amoniaku ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$). Podobně jako při reakci s alkalickými hydroxidy vznikají při srážení různých kationtů amoniakem hydroxidy a zásadité soli. Vznikající sraženiny jsou však objemnější než v případě srážení hydroxidem sodným a reakce jsou proto výraznější. Při srážení kyselých roztoků vznikají současně soli amonné, které působí příznivě na koagulaci sraženin, sytí jejich aktivní povrch a tím zmenšují adsorpci dalších iontů. Významná je jejich role též při regulaci pH roztoků (tlumivá směs NH_3 a NH_4^+), takže se nemůže podstatně překročit $\text{pH} = 9$. Proto koncentrace OH^- iontů nestačí v tomto prostředí na rozpouštění amfoterních hydroxidů (např. $\text{Al}(\text{OH})_3$). Regulace pH znemožňuje také srážení $\text{Mg}(\text{OH})_2$, které vyžaduje $\text{pH} > 9$. Roztokem amoniaku dělíme kationty na dvě skupiny:

A. Skupina iontů, jejichž sraženiny se v nadbytku amoniaku nerozpouští:



B. Skupina iontů tvořících v nadbytku amoniaku rozpustné amminkomplexy:



4.2.8. Reakce uhličitanu sodného

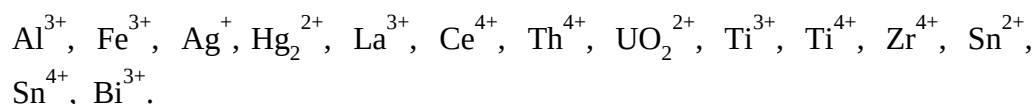
Jako srážedlo se používá roztok Na_2CO_3 o koncentraci $c = 0,5\text{--}1,0 \text{ mol.l}^{-1}$. Roztokem uhličitanu sodného se srážejí všechny kationty s výjimkou kationtů alkalických kovů a NH_4^+ . Sraženiny představují směs zásaditých a normálních uhličitanů. Jsou rozpustné ve zředěných minerálních kyselinách. V přebytku uhličitanu sodného se jen částečně rozpouštějí uhličitanové kovy, jež tvoří amfoterní hydroxidy. Sraženiny uhličitanů jsou převážně bílé, některé z nich podléhají snadno na vzduchu oxidaci, např. uhličitan železnatý a manganatý, jejichž bílé sraženiny zvolna hnědnou.

4.2.9. Reakce alkalických fosforečnanů

Činidlem je roztok Na_2HPO_4 ($c = 0,05 \text{ mol.l}^{-1}$). Sraženiny fosforečnanů lze dělit do skupin na základě jejich rozpustnosti ve zředěné kyselině octové, chlorovodíkové a dusičné.

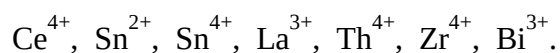
Ve vodě jsou rozpustné pouze fosforečnany alkalických kovů, kromě Li_3PO_4 .

Ve zředěné kyselině octové ($\text{pH} = 3$) se nerozpouštějí fosforečnany:

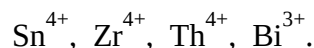


Ostatní fosforečnany jsou ve zředěné kyselině octové rozpustné.

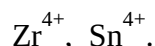
Ve zředěné kyselině chlorovodíkové ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) jsou špatně rozpustné fosforečnany:



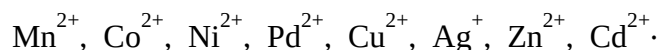
Ve zředěné kyselině dusičné ($c = 0,2 \text{ mol.l}^{-1}$) se nerozpouštějí fosforečnany:



Ve 20%ní kyselině chlorovodíkové se nerozpouštějí pouze fosforečnany:

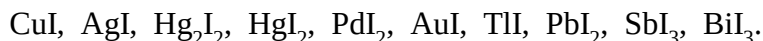


V koncentrovaném NH_4OH se rozpouštějí fosforečnany kationtů, tvořících snadno rozpustné amminkomplexy:



4.2.10. Reakce jodidu draselného

Roztok jodidu draselného ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) sráží některé kationty jako nerozpustné jodidy:



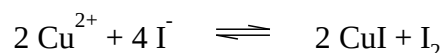
V nadbytku jodidu se nerozpouštějí pouze:



Ostatní tvoří rozpustné jodokomplexy. Sraženiny jodidů mají charakteristické zbarvení. Jodid mědný je bílý, jodidy stříbrný, olovnatý, antimonitý, thalný a zlatný jsou žluté, jodid rtuťnatý je červený, jodid rtuťný žlutozelený, jodidy paladnatý a bismutitý jsou hnědé.

Jodid olovnatý se rozpouští v horké vodě na bezbarvý roztok, z něhož se po ochlazení opět vyloučí ve formě žlutých krystalků.

V kyselém prostředí má jodid draselný redukční účinky. Redukuje též měďnaté ionty podle rovnice:



Této reakce se též využívá při stanovení měďnatých iontů zpětnou jodometrickou titrací.

4.3. Analytické postupy dělení kationtů a aniontů

Jelikož v klasické chemické analýze nejsou známy specifické reakce pro důkazy všech iontů v jakékoli směsi, musí se sledovaný iont před vlastním selektivním důkazem nejprve oddělit od ostatních, mnohdy rušivě působících látek. K dělení iontů lze vhodně využít srážecí reakce.

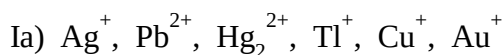
4.3.1. Dělení kationtů

Příkladem postupu dělení kationtů je nejspolehlivější a nejdetailněji propracovaný sulfanový postup, jenž je založen na odlišné rozpustnosti chloridů, sulfidů, hydroxidů a uhličitanů různých kovů. Kationty jsou rozděleny do pěti hlavních tříd, které se dále dělí na podskupiny podle rozpustnosti v různých činidlech. Skupinovými srážedky jsou HCl , H_2S , $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ a $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$.

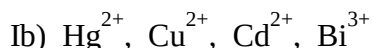
I. třída: Obsahuje kationty, které se srážejí sulfanem v minerálně kyselém roztoku. Vytvářejí sraženiny sulfidů, které se na rozdíl od sulfidů II. třídy nerozpouštějí v roztoku polysulfidu amonného.

Do I. třídy patří: Ag^+ , Pb^{2+} , Hg_2^{2+} , Tl^+ , Cu^+ , Au^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Bi^{3+}

Z praktických důvodů je vhodné okyselit roztok kyselinou chlorovodíkovou, která s některými z iontů I. třídy vytváří nerozpustné chloridy. V tomto provedení se I. třída rozdělí na 2 podskupiny:



Ionty Ia) vytvoří po okyselení HCl nerozpustné chloridy a teprve po jejich oddělení srážíme roztok plynným sulfanem, přičemž se vyloučí sulfidy podskupiny:

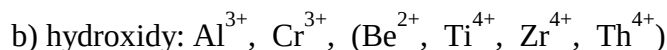
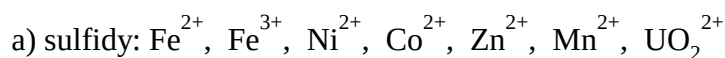


Spolu se skupinou Ib) se vyloučí ve formě nerozpustných sulfidů také ionty II. třídy.

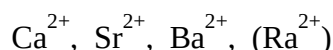
II. třída: As^{3+} , As^{V} , Sb^{3+} , Sb^{V} , Sn^{2+} , Sn^{4+} , $(\text{Mo}^{\text{VI}}, \text{W}^{\text{VI}}, \text{V}^{\text{V}}, \text{Ge}^{4+}, \text{Se}^{\text{IV}}, \text{Te}^{\text{IV}})$.

Sulfidy II. třídy jsou však na rozdíl od sulfidů Ib) podskupiny rozpustné v roztoku $(\text{NH}_4)_2\text{S}_x$.

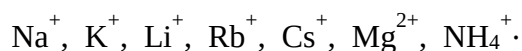
III. třída: Kationty této třídy se nesrážejí výše uvedenými srážedly v kyselém prostředí. Srážejí se v přítomnosti chloridu amonného sulfidem amonným $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ jako:



IV. třída: obsahuje kationty prvků, které se srážejí za přítomnosti chloridu amonného uhličitanem amonným jako uhličitany. Patří sem:



V. třída: kationty prvků V. třídy se nesrážejí žádným z dříve použitých srážedel:



4.3.2. Dělení aniontů

U aniontů se neuplatnil způsob postupného dělení, jako u kationtů. Je to způsobeno dostatečnou selektivností reakcí a rovněž tím, že skupinové reakce zpravidla postačují k tomu, aby se přítomnost některého z aniontů nepřehlédla.

Skupinové reakce aniontů jsou reakce srážecí a oxidačně-redukční. Srážecí reakce jsou založeny na různé rozpustnosti solí barnatých a stříbrných ve vodě či ve zředěných kyselinách. Podle srážecích reakcí dělíme anionty do tří analytických tříd. Kationty těžkých kovů musí být z roztoku odstraněny, protože při srážecích reakcích by se mohly vylučovat jejich nerozpustné sloučeniny. K odstranění kationtů ze vzorku je velmi vhodné použít kolonky naplněné katexem v Na - cyklu.

I. třída aniontů:

Srážedlem I. třídy je roztok BaCl_2 ($c = 0,05 \text{ mol.l}^{-1}$). Při reakci vznikají nerozpustné sraženiny těchto iontů: SO_4^{2-} , SiF_6^{2-} , IO_3^- , F^- , CrO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_3^{2-} , PO_4^{3-} , H_2AsO_3^- , AsO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SiO_3^{2-}

I. třídu aniontů můžeme rozdělit do tří podskupin podle rozpustnosti vzniklých sraženin ve zředěných kyselinách

Skupina Ia obsahuje ionty, jejichž barnaté soli jsou nerozpustné ve zředěné kyselině dusičné: SO_4^{2-} , SiF_6^{2-} , IO_3^-

Skupina Ib obsahuje ionty, jejichž barnaté soli jsou nerozpustné ve vodě, nerozpustné ve zředěné kyselině octové, ale rozpustné ve zředěné kyselině dusičné: F^- , CrO_4^{2-} , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

Skupina Ic obsahuje ionty, jejichž barnaté soli jsou rozpustné již ve zředěné kyselině octové: PO_4^{3-} , H_2AsO_3^- , AsO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SiO_3^{2-}

II. třída aniontů:

Srážedlem II. třídy je roztok AgNO_3 ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$). Při reakci vznikají nerozpustné sraženiny těchto iontů: Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- , CN^- , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, HS^- , BrO_3^- , IO_3^- , CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, PO_4^{3-} , AsO_3^{3-} , AsO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SiO_3^{2-} .

II. třídu aniontů můžeme rozdělit do tří podskupin.

Skupina IIa) obsahuje ionty, jejichž stříbrné soli jsou nerozpustné ve zředěné kyselině dusičné: Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- , CN^- , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, HS^- , BrO_3^- , IO_3^- .

Skupina IIb) obsahuje ionty, jejichž stříbrné soli jsou nerozpustné ve vodě, ale rozpustné ve zředěné kyselině dusičné: CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, PO_4^{3-} , AsO_3^{3-} , AsO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SiO_3^{2-} .

V amoniaku jsou nerozpustné stříbrné soli aniontů: I^- , HS^-

Špatně se v zředěném ($c = 2 \text{ mol.l}^{-1}$) amoniaku rozpouštějí stříbrné soli aniontů: Br^- , SCN^- , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$.

Ostatní soli stříbrné jsou v amoniaku snadno rozpustné.

III. třída aniontů:

obsahuje ionty, které nedávají sraženinu s kationty Ba^{2+} ani Ag^+ . Patří sem anionty: NO_3^- , NO_2^- , ClO_4^- , ClO_3^- , MnO_4^- .

5. Vážková analýza

Podstatou vážkové analýzy je kvantitativní vyloučení stanovované složky ve formě málo rozpustné sloučeniny (v tzv. vylučovací formě). Následuje její převedení na přesně definovanou sloučeninu (pokud jí není přímo vylučovací forma), která se váží (forma k vážení). Případů, kdy vylučovací forma je totožná s formou k vážení, je poměrně málo (AgCl , PbSO_4 , BaSO_4 , HgS). Ve většině případů se musí vylučovací forma převést na formu k vážení nejčastěji sušením či žiháním ($\text{Fe}(\text{OH})_3$ na Fe_2O_3 , $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, apod).

5.1. Obecný postup vážkové analýzy

5.1.1. Srážení

Vzorek se po převedení do roztoku a po úpravě reakčních podmínek sráží vhodným činidlem - srážedlem. Vzniká málo rozpustná sloučenina (vylučovací forma). Sraženina se zpravidla ponechá sedimentovat v reakční nádobě - kádince za mírně zvýšené teploty. Přitom dochází u krystalických sraženin k rekrystalizaci a čištění sraženiny. Další částí postupu je oddělení sraženiny od matečného roztoku filtrací. Zbytky matečného roztoku se ze sraženiny na filtru odstraní promýváním vodou či roztokem vhodného elektrolytu. Obvykle se používá roztok NH_4NO_3 , zředěná HCl či zředěný roztok NH_3 . Amorfni sedimenty nelze vodou promývat, neboť snadno peptizují - přecházejí v koloidní roztok a procházejí filtrem. Složky promývacího roztoku musí být možné žiháním či sušením sedimentu odstranit.

K promývání by se mělo použít vždy jen takové množství promývacího roztoku, které je nutné k odstranění nečistot. Lze dokázat, že efektivnějšího promytí docílíme, když sraženinu na filtru promyjeme vícekrát malým množstvím roztoku, než méněkrát větším množstvím roztoku.

Při vážkové analýze je vhodnější pracovat s krystalickými než s amorfními sraženinami, neboť krystalické sraženiny se lépe promývají a lze je tedy snáze získat v potřebné čistotě. Průběh promývání obvykle sledujeme některou vhodnou citlivou reakcí, sloužící k důkazu odstraňovaného iontu. V průběhu promývání jímáme frakce filtrátu do zkumavky a provádíme příslušné důkazové reakce.

5.1.2. Filtrace

Způsob filtrace souvisí bezprostředně s analytickým postupem a jeho volba je velmi důležitá. V případě, že vylučovací formu látky budeme dále převádět na formu k vážení žiháním, používají se k filtraci různé druhy speciálních, tzv. bezpopelových filtračních papírů. Po jejich spálení je obsah popelovin menší než 0,1 mg a neruší tedy svou hmotností běžné vážení na analytických vahách.

Filtrace představuje dělení tuhé fáze od kapalné porézní stěnou o průměru pórů menším, než mají částice tuhé fáze. Při běžné filtraci proniká kapalina filtrační stěnou

účinkem hydrostatického tlaku. Filtrační účinnost je dána rychlostí v , kterou projde objem kapaliny V filtrační stěnou v časové jednotce. Tato rychlost je dána vztahem:

$$v = dV/dt = k \cdot P \cdot r^2 \cdot (p_1 - p_2) / (l \cdot \eta) \quad (1)$$

Rychlost filtrace je přímo úměrná filtrační ploše (P), druhé mocnině středního poloměru pórů (r^2) a rozdílu hydrostatických tlaků na obou stranách stěny ($p_1 - p_2$), nepřímo úměrná efektivní délce kapilár (l), která je delší než tloušťka stěny (kapiláry neprobíhají filtrem přímo) a viskozitě kapaliny η , závislé na teplotě.

Filtraci lze tedy zrychlit zvětšením filtrační plochy nebo rozdílu $p_1 - p_2$ (odsáváním či delší stopkou nálevky) nebo filtrací při vyšší teplotě, kterou se snižuje viskozita kapaliny.

Světlost pórů filtračních papírů se pohybuje mezi 1–5 μm .

Kromě filtračních papírů se k filtraci užívají též skleněné či porcelánové filtrační kelímky, které mají vtavenou skleněnou nebo keramickou filtrační vložku - fritu o průměru pórů od 3,5 do 30 μm .

5.1.3. Žihání či sušení sedlin

Použití skleněných kelímků se omezuje na sedliny, které se před vážením pouze suší, zatímco keramické kelímky lze použít i pro sraženiny určené k žihání (do 1200 °C). Keramické kelímky se uplatňují zvláště tehdy, když se sedliny uhlíkem z filtračního papíru v žáru redukuje (ZnS , PbSO_4). Nejběžnější však je spalování sedliny s filtračním papírem společně.

Kelímek se nejprve umístí nad plamen hořáku, přičemž dochází k vysušení a postupnému uhelnatění papíru. Filtrační papír v kelímku musí při uhelnatění pouze dýmat, ale nesmí hořet plamenem. Po rozpadu struktury papíru, když již z kelímku nevychází dým, dokončíme žihání kelímku při předepsané teplotě jeho vnořením do plamene hořáku, či v elektrické peci. Při úplném vnoření kelímku do laboratorního hořáku docílíme teploty asi 800 °C. Opatříme-li kelímek keramickým víčkem, bude sraženina žihána při 1000 °C. Vyšší teploty (až 1200 °C) lze docílit v elektrické peci. Je-li vyloučená forma současně i formou k vážení a byla-li promývacím roztokem voda, lze sedlinu vysušit při teplotě 105–120 °C. Tepelně labilní sloučeniny se někdy suší za normální teploty ve vakuových exsikátorech. Jiné sedliny jsou naopak při teplotě sušení citlivé na kyslík a je nutno sušení provádět v tzv. Stockově hliníkovém bloku v proudu inertního plynu. Po vyžihání či vysušení je nezbytné chránit kelímek s formou k vážení před vzdušnou vlhkostí. Kelímek se nechá chladnout v exsikátoru. Exsikátory jsou z části naplněny vysoušedlem, často silikagelem, bezvodým chloridem vápenatým, koncentrovanou kyselinou sírovou, bezvodým chloristanem hořečnatým (anhydronem) či oxidem fosforečným. Při vážení musí mít kelímek již teplotu shodnou s teplotou místnosti. Porcelánové kelímky chladnou obvykle 20–30 minut, platinové 10 až 15 minut. Po zvážení kelímku je nutné žihání krátce zopakovat, kelímek opět nechat zchladnout a zvážit. Diference mezi oběma hmotnostmi nesmí přesáhnout 0,3–0,5 mg. Tomuto opakovanému postupu se říká žihání (sušení) do konstantní hmotnosti.

5.2. Výpočty ve vážkové analýze

Při vážkové analýze stanovujeme v navážce vzorku a [g] určitou složku (prvek, ion), např. A, která má molární hmotnost M_A [g.mol⁻¹]. Stanovovanou složku převedeme na sloučeninu A_xB_y o molekulové hmotnosti $M_{A_xB_y}$, izolujeme ji a vážíme (vyvážka b [g]).

Při výpočtu hmotnosti stanovované složky m lze vyjít z následující úvahy:

$M_{A_xB_y}$ gramů látky A_xB_y obsahuje $x \cdot M_A$ g látky A

b gramů látky A_xB_y obsahuje $m = b \cdot x \cdot M_A / M_{A_xB_y}$ g látky A

Pro jednoduchost výpočtů je zaveden tzv. gravimetrický faktor f, jehož hodnota pro uvedený obecný příklad bude:

$$f = x \cdot M_A / M_{A_xB_y} \quad (2)$$

pak:

$$m = b \cdot f \quad (3)$$

Hodnoty gravimetrických faktorů pro nejrůznější postupy ve vážkové analýze jsou tabelovány v chemickoanalytických tabulkách.

Procentický obsah složky A ve vzorku pak bude dán vztahem:

$$p(A) = 100 \cdot b \cdot f / a \quad [\%] \quad (4)$$

Např. při stanovení hliníku ve vzorku může být formou k vážení Al_2O_3 . Gravimetrický faktor pro Al bude v tomto případě:

$$f = 2 \cdot M_{Al} / M_{Al_2O_3}$$

5.3. Vážková analýza v praxi

Vážková analýza se v praxi převážně používá ke stanovení obsahu kovových iontů. I když význam vážkových stanovení stále klesá, metoda je při vyšším obsahu stanovené složky ve vzorku uznávána za jednu z nejpřesnějších. Vážkové metody se používají jako metody kontrolní srovnávací i rozhodčí. Znalost principů vážkových metod lze využít i k předběžným oddělováním iontů ze směsí před analýzami jiné podstaty. Příklady použití vážkových metod jsou uvedeny v tab. 5.1.

Jako srážecí činidla se obvykle používají roztoky anorganických i organických činidel. Výběr vhodného činidla je podmíněn jak obsahem stanovované složky, tak selektivitou příslušného činidla.

Tabulka 5.1.: Některé postupy ve vážkové analýze

Činidlo	Vylučovací forma	Forma k vážení
NH ₃	Fe(OH) ₃ , Al(OH) ₃ , Ti(OH) ₄ , Bi(OH) ₃ NO ₃	Fe ₂ O ₃ , Al ₂ O ₃ , TiO ₂ , Bi ₂ O ₃
H ₂ S	As ₂ S ₃ , HgS, Sb ₂ S ₃ , ZnS, GeS ₂ , MoS ₃	As ₂ S ₃ , HgS, Sb ₂ O ₄ , ZnSO ₄ , GeO ₂ , MoO ₃
(NH ₄) ₂ S	HgS, UO ₂ S, CoS	HgS, U ₃ O ₈ , CoSO ₄
H ₂ SO ₄	SrSO ₄ , BaSO ₄ , PbSO ₄	SrSO ₄ , BaSO ₄ , PbSO ₄
HCl	AgCl	AgCl
(NH ₄) ₂ HPO ₄	MgNH ₄ PO ₄ ·6H ₂ O, ZnNH ₄ PO ₄ AlPO ₄	Mg ₂ P ₂ O ₇ , Zn ₂ P ₂ O ₇ , AlPO ₄

5.4. Nejběžnější vylučovací formy prvků či formy k vážení

5.4.1. Hydroxidy a hydratované oxidy

Řada trojmocných a čtyřmocných kovů snadno hydrolyzuje již v mírně alkalickém prostředí. Účinkem hydroxidu amonného se sráží hydroxidy Fe(OH)₃, Al(OH)₃, Cr(OH)₃, Be(OH)₂, Ti(OH)₄, Ce(OH)₄. Žiháním se převádějí na příslušné oxidy, které se váží.

5.4.2. Sírany

Zředěná kyselina sírová sráží Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺ a Pb²⁺. Sírany po vyžhání slouží jako forma k vážení. Srážení je obvyklé provádět ve vodně-alkoholickém prostředí, které omezuje vyšší rozpustnost CaSO₄, SrSO₄ a PbSO₄.

5.4.3. Halogenidy

Halogenidové ionty se používají při vážkovém stanovení Ag⁺, Hg₂²⁺, Tl⁺. Vylučovací formy těchto iontů (AgCl, AgI, Hg₂Cl₂, TlI) jsou po vysušení též formami k vážení.

5.4.4. Šťavelany

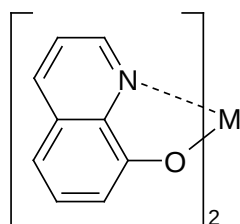
Roztokem šťavelanu amonného se sráží Ca²⁺, Sr²⁺, které lze buď sušit (formou k vážení jsou pak monohydráty příslušných šťavelanů), či žíhat (formou k vážení jsou pak dle teploty žhání buď uhličitany či oxidy kovů alkalických zemin). Šťavelany sráží též skupinu lanthanoidů, jež se žháním převádí na příslušné oxidy.

5.4.5. Organická činidla ve vážkové analýze

Velmi vhodné je využít při vážkové analýze vysoce selektivní až specifická organická činidla. Jejich předností je též schopnost kvantitativně vyloučit i malá množství stanovovaných látek. Při selektivní reakci organického činidla s kovovým iontem vznikají málo rozpustné komplexní sloučeniny většinou s přesně definovaným složením. Tyto látky se po reakci obvykle suší a váží. Nejsou-li vylučovací formy zároveň vhodnými formami k vážení, je nutno je vyžíhat zpravidla na oxid příslušného kovu.

Jako příklad organických činidel ve vážkové analýze lze uvést např. oxin (8 - hydroxychinolin).

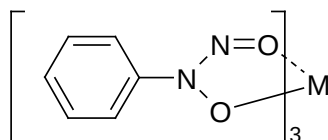
Oxin reaguje s řadou dvojmocných, trojmocných a čtyřmocných kovů za vzniku chelátů typu:



Po vysušení při předepsané teplotě lze vážít hydráty oxinátů např.: Mg, Ba, Pb, Mn.

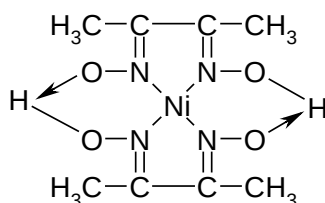
Kupferon (amonná sůl N-nitrosofenylhydroxylaminu)

Kupferon reaguje v mírně kyselém prostředí s řadou trojmocných a čtyřmocných kovů za vzniku nerozpustných chelátů typu:



Kupferonáty nejsou zpravidla vhodnou formou k vážení, proto se žíháním převádějí na oxidy. Stanovit lze tímto činidlem např. Fe, Al, Ti, U a lanthanoidy.

Příkladem specifického organického činidla ve vážkové analýze může být bisacetyldioxim:



Toto činidlo reaguje ve slabě amoniakálním prostředí selektivně s Ni^{2+} ionty. Sraženina bis(bisacetyldioximo)nikelnatého komplexu se po promytí suší a váží.

5.5. Termická analýza

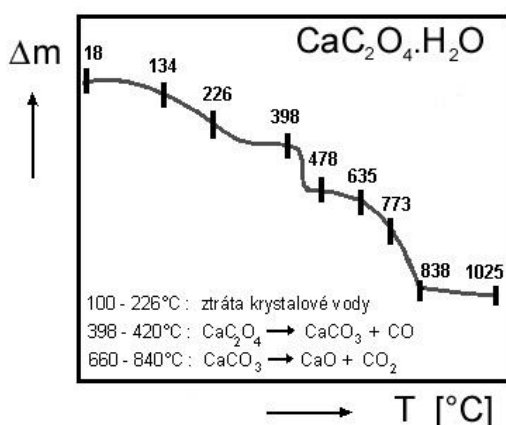
Metody termické analýzy umožňují sledovat procesy probíhající při zahřívání nebo ochlazování pevných látek nebo kapalin. Příkladem těchto procesů může být dehydratace, oxidace, tepelná disociace, krystalizace, tání, sublimace, polymerizace nebo změna v krystalové struktuře látky. Uvedené děje bývají provázeny změnou hmotnosti nebo objemu, uvolněním nebo pohlcením tepla, vývojem či pohlcováním plynů, změnou elektrické vodivosti, popřípadě změnou magnetických vlastností vzorku. S metodami termické analýzy se vedle analytické chemie setkáváme rovněž při výzkumu i rutinních analýzách v geologii či metalurgii.

5.5.1. Termogravimetrie

Termogravimetrie je jedním z nejběžnějších postupů v termické analýze. Umožňuje sledovat hmotnostní změny probíhající při postupném zahřívání vzorku. Tyto změny jsou automaticky zaznamenávány pomocí speciálních vah. Termogravimetrie se využívá ve vážkové analýze při optimalizaci stanovení. Termogravimetricky lze sledovat průběh změn, k nimž dochází při převádění izolované sloučeniny na formu o definovaném složení (vhodnou pro vážení), a tak určit její termickou stabilitu. Příkladem termogravimetrické analýzy je rozklad šťavelanu vápenatého v následujících stupních:



Změnu hmotnosti studovaného vzorku v závislosti na postupně se zvyšující teplotě znázorňuje obr. č. 5.1. U některých látek těkají jednotlivé složky plynule za sebou nebo současně, takže z termogramu nelze rozpoznat, zda úbytek hmotnosti odpovídá ztrátě jedné nebo více složek.



Obr. č. 5.1.: Termogram rozkladu šťavelanu vápenatého

6. Odměrná analýza

6.1. Odměrné metody založené na acidobazických reakcích

Protolytické reakce jsou základem metod neutralizační odměrné analýzy (neutralizačních titrací). Změříme-li objem kyseliny o známé látkové koncentraci, který je třeba přidat k titrovanému roztoku zásady (či naopak), aby se dosáhlo tzv. bodu ekvivalence (100%ní neutralizace) mezi kyselinou a zásadou, můžeme zjistit obsah stanovované zásady (či kyseliny) v titrovaném vzorku.

Stanovujeme-li zásady, zjišťujeme objem odměrného roztoku kyseliny, jehož je třeba k dosažení bodu ekvivalence. Jelikož tedy neznámý vzorek "poměřujeme" roztokem *kyseliny* o známé koncentraci, označujeme tyto metody názvem acidimetrické titrace. V opačném případě, stanovujeme-li kyseliny odměrným roztokem *zásady*, hovoříme o alkalimetrii, či alkalimetrických metodách.

Podrobnější popis provádění různých druhů titračních stanovení včetně příslušných výpočtů lze nalézt ve skriptech pro cvičení z anorganické a analytické chemie. Přesné odměřování odměrného roztoku při titraci i v mikroměřítku není spojeno s velkými obtížemi. Zcela zásadní a do jisté míry i subjektivní je vystižení okamžiku, kdy byl k titrovanému roztoku právě přidán ekvivalentní objem odměrného činidla.

Při acidimetrických a alkalimetrických titracích se v závislosti na přídavku odměrného roztoku kyseliny či zásady mění pH titrovaného roztoku. Hodnota pH v bodě ekvivalence závisí na povaze kyseliny a zásady, na jejichž reakci je titrace založena. Není vhodné používat při titracích jako odměrné roztoky slabé kyseliny či zásady. Titrovaným vzorkem však bývá jak silná, tak slabá kyselina či zásada. O hodnotě pH bodu ekvivalence tedy rozhoduje typ soli, která při reakci vzniká. Při titraci silné kyseliny silnou zásadou (či naopak) bude pH bodu ekvivalence přibližně rovno 7. Hodnotu pH bodu ekvivalence nazýváme někdy titrační exponent a označujeme ji pT. Zde tedy bude platit, že $pT = 7$.

Titrujeme-li slabou zásadu silnou kyselinou bude $pT < 7$, při titraci slabé kyseliny silnou zásadou bude $pT > 7$ (viz kapitola Výpočet pH roztoků hydrolyzovaných solí).

Ke zjištění bodu ekvivalence se při acidimetrických a alkalimetrických titracích používají acidobazické indikátory, které přidáváme do titrovaných roztoků a jejichž zbarvení závisí na pH roztoku. Pro správnou volbu indikátoru je nutno znát hodnotu pT dané titrace, resp. průběh změny pH v závislosti na objemu přidávaného titračního činidla - tzv. titrační křivku. Grafické znázornění titrační křivky je zdrojem cenné informace o průběhu titrace. U acidobazických titrací měříme obvykle pH s použitím skleněné elektrody potenciometricky. Znalost průběhu titrační křivky má význam nejen pro správnou volbu indikátoru, ale též pro posouzení přesnosti a preciznosti titrace.

6.1.1. Průběh titrační křivky při titraci silné kyseliny silnou zásadou

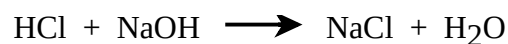
Předpokládejme, že titrujeme 100 ml roztoku HCl ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) roztokem NaOH o koncentraci $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$. V následujícím přibližném výpočtu budeme pro jednoduchost vycházet z koncentrací jednotlivých složek roztoku, nikoli z aktivit složek.

1. Na začátku titrace, před přidávkou roztoku NaOH, obsahuje titrovaný roztok pouze silnou jednosytnou kyselinu, platí tedy:

$$\text{pH} \cong -\log [\text{H}^+]$$

$$\text{pH} \cong -\log c_{(\text{HCl})} = -\log 0,1 = 1,0$$

2. V průběhu titrace, před dosažením bodu ekvivalence klesá v titrovaném roztoku koncentrace vodíkových iontů (narůstá koncentrace NaCl). Oba reaktanty spolu reagují v látkovém poměru 1 : 1.



při reakci tedy platí, že

$$n_{\text{HCl}} = n_{\text{NaOH}} \quad (1)$$

Okamžité (zbylé) látkové množství HCl (n'_{HCl}) před dosažením bodu ekvivalence bude tedy dáno rozdílem

$$n'_{\text{HCl}} = n_{\text{HCl}} - n_{\text{NaOH}} \quad (2)$$

kde n_{HCl} je původní látkové množství HCl v titrovaném roztoku a n_{NaOH} je úhrnné látkové množství NaOH přidané do titrovaného roztoku od začátku titrace. Jelikož platí, že

$$n_{\text{HCl}} = V_{\text{HCl}} \cdot c_{\text{HCl}} \quad (3)$$

a

$$n_{\text{NaOH}} = V_{\text{NaOH}} \cdot c_{\text{NaOH}} \quad (4)$$

pak pro koncentraci vodíkových iontů v titrovaném roztoku před bodem ekvivalence (za předpokladu úplné disociace) platí:

$$c_{\text{H}^+} = (V_{\text{HCl}} c_{\text{HCl}} - V_{\text{NaOH}} c_{\text{NaOH}}) / (V_{\text{HCl}} + V_{\text{NaOH}}) \quad (5)$$

kde V_{HCl} je původní objem titrované kyseliny a V_{NaOH} je úhrnný objem titračního roztoku přidaný v daném okamžiku do titrovaného roztoku.

Jestliže jsme tedy přidali k původním 100 ml roztoku HCl $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ 10 ml roztoku NaOH $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, roztok je z 10% zneutralizován a dle (5) bude

$$c_{\text{H}^+} = (100 \cdot 0,1 - 10 \cdot 0,1) / 110 = 0,082 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$\text{pH} = -\log 0,082 = 1,1$$

Obdobně dospějeme v případě 50% neutralizace k hodnotě $\text{pH} \cong 1,5$ či při 99% neutralizaci $\text{pH} \cong 3,3$.

3. V bodě ekvivalence platí, že

$$n_{\text{HCl}} = n_{\text{NaOH}}$$

Vodíkové ionty uvolněné disociací HCl byly právě zneutralizovány přidavkem hydroxidových iontů z NaOH. Vodíkové ionty přítomné nyní v roztoku souvisí pouze s disociací vody a jejich koncentrace je dána rovnicí (7) z kapitoly 1.4.1., z níž vyplývá, že $\text{pH} \cong 7$.

4. Za bodem ekvivalence platí, že

$$n_{\text{NaOH}} > n_{\text{HCl}} \quad (6)$$

a obdobou (5) bude vztah pro výpočet koncentrace nadbytečných hydroxidových iontů.

$$c_{\text{OH}^-} = (V_{\text{NaOH}} c_{\text{NaOH}} - V_{\text{HCl}} c_{\text{HCl}}) / (V_{\text{HCl}} + V_{\text{NaOH}}) \quad (7)$$

V případě 50% nadbytku NaOH ("150% neutralizace") bude tedy:

$$c_{\text{OH}^-} = (150 \cdot 0,1 - 100 \cdot 0,1) / 250 = 0,02 \text{ mol.l}^{-1}$$

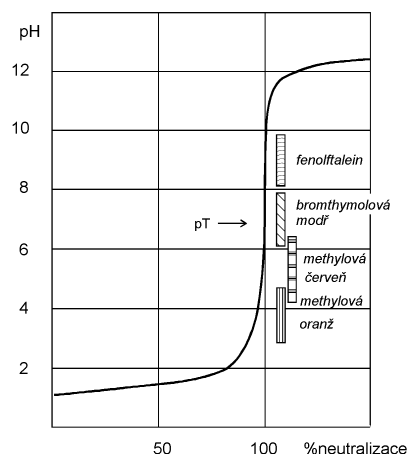
$$\text{pOH} = 1,7 \quad \text{a tedy} \quad \text{pH} = 12,3$$

Hodnoty pH v závislosti na procentu neutralizace jsou podrobněji shrnuty v tab. 6.1.

Tabulka 6.1.: Přibližné hodnoty pH v souvislosti s procentem neutralizace při titraci roztoku
HCl $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$

Neutralizace [%]	pH	Neutralizace [%]	pH
0	1,0	100,01	8,7
10	1,1	100,1	9,7
20	1,2	101	10,7
30	1,3	110	11,7
40	1,4	120	12,0
50	1,5	130	12,1
60	1,6	140	12,2
70	1,8	150	12,3
80	2,0		
90	2,3		
99	3,3		
99,9	4,3		
99,99	5,3		
100	7,0		

Titrační křivka je znázorněna na obr. č. 6.1.



Obr. č. 6.1.: Průběh titrační křivky při titraci HCl ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) hydroxidem sodným ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$)

6.1.2. Průběh titrační křivky při titraci slabé kyseliny silnou zásadou

Předpokládejme, že titrujeme 100 ml roztoku CH_3COOH ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, $\text{pK}_{\text{HA}} = 4,76$) roztokem NaOH o koncentraci $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$. Přibližný průběh titrace, resp. titrační křivky, lze odvodit z následujících úvah.

1. Na začátku titrace, před přidavkem roztoku NaOH, obsahuje titrovaný roztok pouze slabou jednosytnou kyselinu, přibližné pH roztoku počítáme dle vztahu (32) (kapitola 1.4.1.1.3.), tedy

$$\text{pH} = 1/2 \cdot 4,76 - 1/2 \log 0,1 \cong 2,9$$

2. V průběhu titrace před bodem ekvivalence obsahuje titrovaný roztok směs slabé kyseliny a její soli se silnou zásadou (kyselina octová a octan sodný). Jedná se tedy o tlumivý roztok. Ke konečnému přibližnému výpočtu pH použijeme Hendersonovu rovnici (38) resp. (39) (kapitola 1.4.1.2.). V případě 10% neutralizace bude

$$c_{\text{HA}} = (V_{\text{HA}} c_{\text{HA}} - V_{\text{NaOH}} c_{\text{NaOH}}) / (V_{\text{HA}} + V_{\text{NaOH}}) = (100 \cdot 0,1 - 10 \cdot 0,1) / 110 = 0,082 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$c_{\text{A}^-} = V_{\text{NaOH}} c_{\text{NaOH}} / (V_{\text{HA}} + V_{\text{NaOH}}) = 10 \cdot 0,1 / 110 = 0,0091 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$\text{pH} \cong 4,76 - \log 0,082 + \log 0,0091 = 3,8$$

3. V bodě ekvivalence roztok obsahuje pouze sůl slabé kyseliny a silné zásady (octan sodný)

$$c_{A^-} = V_{\text{NaOH}} c_{\text{NaOH}} / (V_{\text{HA}} + V_{\text{NaOH}}) = 100.0,1 / 200 = 0,05 \text{ mol.l}^{-1}$$

Hodnotu pH hydrolyzované soli vypočteme dle vztahu (36) (kapitola 1.4.1.1.5.)

$$\text{pH} \cong 7 + 1/2 \cdot 4,76 + 1/2 \log 0,05 = 8,7$$

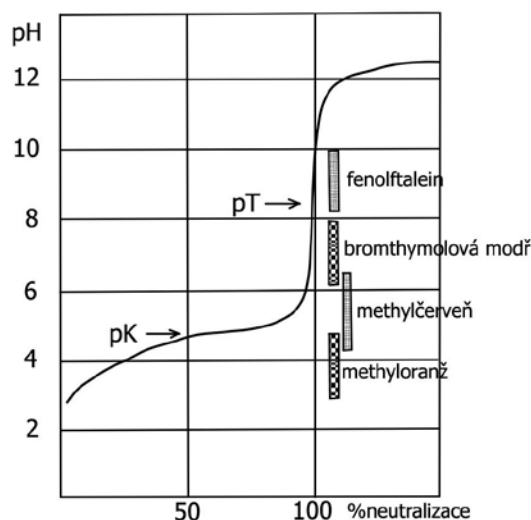
4. Za bodem ekvivalence bude roztok obsahovat kromě hydrolyzované soli nadbytek roztoku silné zásady. Silná zásada bude v roztoku činitelem určujícím hodnotu pH. Pro výpočet pH můžeme použít vztah (7).

Podobně jako v případě titrace silné kyseliny silnou zásadou, uspořádáme výsledné hodnoty pH do tabulky 6.2.

Tabulka 6.2.: Přibližné hodnoty pH v souvislosti s procentem neutralizace při titraci roztoku CH_3COOH $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ roztokem NaOH $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$.

Neutralizace [%]	pH	Neutralizace [%]	pH
0	2,9	100,1	9,7
10	3,8	101	10,7
20	4,2	110	11,7
30	4,4	120	12,0
40	4,6	130	12,1
50	4,8 = pK	140	12,2
60	4,9	150	12,3
70	5,1		
80	5,4		
90	5,7		
99	6,8		
99,9	7,8		
100	8,7		

Titrační křivka je znázorněna na obr. č. 6.2.



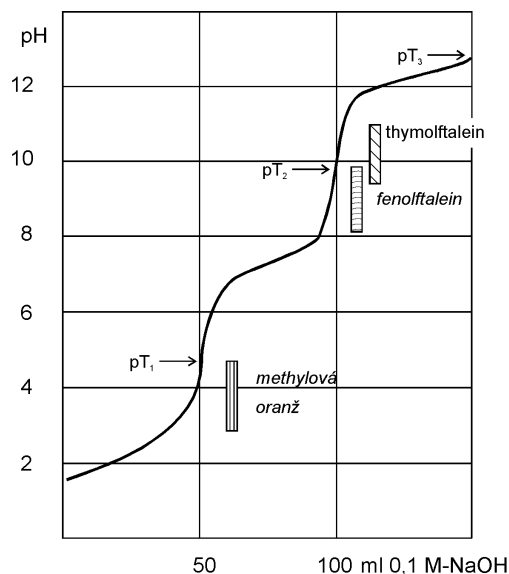
Obr. č. 6.2.: Průběh titrační křivky při titraci CH_3COOH ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) hydroxidem sodným ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$)

Významným bodem na titrační křivce slabé kyseliny je hodnota pH při 50%ní neutralizaci. V této fázi titrace se $\text{pH} = \text{pK}_{\text{HA}}$ a roztok má největší tlumivou kapacitu, tzn., že přidavek malého množství silné kyseliny či zásady vyvolá minimální změnu pH (titrační křivka je v těchto místech nejplošší - má nejmenší směrnici).

6.1.3. Průběh titrační křivky při titraci vícesytné kyseliny nebo směsi několika jednosytných kyselin

Pro titrační křivku směsi několika slabých jednosytných kyselin jsou typické prudké změny pH (skokem) v okolí bodu ekvivalence. To však platí jen tehdy, jsou-li disociační konstanty příslušných kyselin dostatečně rozdílné. V opačném případě může skoková změna pH v sobě zahrnovat více kyselin. Podobná situace nastává u vícesytné kyseliny.

Sestrojení titrační křivky pro vícesytné kyseliny se řídí stejnými pravidly, podle nichž se prováděly výpočty v předchozích kapitolách. Titrační křivka neutralizace trojsytné kyseliny trihydrogenfosforečné je uvedena na obr. č. 6.3.



Obr. č. 6.3.: Průběh titrační křivky při titraci 50 ml H_3PO_4 ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) hydroxidem sodným ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$)

6.1.4. Neutralizační (acidobazické) indikátory

Acidobazické indikátory jsou látky, které umožňují vizuálně zjistit konec titrace - bod ekvivalence. Jedná se většinou o organická barviva, která při určité změně pH roztoku mění své zbarvení. Barevná změna však musí nastat v bodě ekvivalence nebo v jeho bezprostřední blízkosti. Indikátory tohoto typu jsou většinou slabé organické kyseliny či zásady, pro něž platí, že jejich disociovaná forma má jiné zbarvení, než forma nedisociovaná. Je-li acidobazickým indikátorem slabá kyselina, můžeme její disociaci vyjádřit rovnicí:



kterou vystihuje disociační konstanta, označovaná v případě indikátorů názvem *indikátorová konstanta*.

$$K_{\text{HInd}} = [\text{H}^+].[\text{Ind}^-] / [\text{HInd}] \quad (9)$$

Úpravou vztahu (9) získáme:

$$[\text{H}^+] = K_{\text{HInd}} \cdot [\text{HInd}] / [\text{Ind}^-] \quad (10)$$

odtud pak:

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{HInd}} + \log ([\text{Ind}^-] / [\text{HInd}]) \quad (11)$$

Indikátorová konstanta a její záporný logaritmus - indikátorový exponent jsou důležité údaje při volbě vhodného indikátoru. Indikátorový exponent by se měl přibližně shodovat s titračním exponentem pT pro danou titraci.

Bylo zjištěno, že lidské oko postřehne barevnou změnu indikátoru, přejde-li asi 10 % jedné formy indikátoru v druhou. Konec barevného přechodu postřehneme, když se přeměnilo asi 90 % v druhou formu. Dosazením hodnot 10 (nebo 90) a 90 (nebo 10) za $[\text{Ind}^-]$ a $[\text{HInd}]$ do vztahu (11) dostaneme pro funkční oblast indikátoru přibližný vztah:

$$\text{pH} \cong \text{pK}_{\text{HInd}} \pm 1 \quad (12)$$

Vzhledem k nestejné citlivosti oka na různé barvy není vždy funkční oblast indikátoru stejně široká, ani nebývá vždy symetricky rozložena kolem hodnoty pK_{HInd} .

U jednobarevných indikátorů (např. fenolftalein) je rozložení funkční oblasti do jisté míry závislé na koncentraci indikátoru v roztoku. U těchto indikátorů proto platí, že jejich přidávané množství do roztoku (standardu i vzorku) musí být stále stejné. Obecně pak platí pravidlo, že množství použitého indikátoru v titrovaném vzorku musí být tak malé, aby spotřeba odměrného činidla nezbytná na převedení jedné formy indikátoru v druhou byla zanedbatelná. I při pečlivé volbě indikátoru dochází při titraci k větší či menší titrační chybě, způsobené subjektivním posouzením průběhu barevné změny. Označíme-li jako V_E objem titračního činidla, který bychom měli spotřebovat, a V_S - skutečně spotřebovaný objem činidla, pak pro relativní titrační chybu e [%] platí, že

$$e = 100 \cdot (|V_S - V_E|) / V_E \quad [\%] \quad (13)$$

Některé běžnější acidobazické indikátory jsou uvedeny v tabulce 6.3.

Tabulka 6.3.: Vybrané běžné acidobazické indikátory

Indikátor	Konstituční typ	Funkční oblast pH	Barevný přechod
krystalová violet	trifenylmethanové barvivo	0,0–2,0	zelená - modrá
kresová červen	sulfoftalein	0,2–1,8	červená-žlutá
dimetylová žlut	azobarvivo	2,9–4,1	červená-žlutá
bromfenolová modř	sulfoftalein	3,0–4,6	žlutá-modrá
methyloranž	azobarvivo	3,1–4,4	červená-žlutá
methylčerven	azobarvivo	4,4–6,2	červená-žlutá
bromthymolová modř	sulfoftalein	6,0–7,6	žlutá-modrá
fenolftalein	ftalein	8,2–10,0	bezbarvá-červená
tropeolin O	azobarvivo	11,1–12,7	žlutá-hnědá

Funkční oblast indikátorů se může poněkud měnit vlivem některých faktorů. Mezi ně patří zejména:

- a) **teplota:** změna teploty ovlivňuje rovnovážné konstanty, tedy též indikátorovou konstantu i iontový součin vody.
- b) **obsah rozpuštěných solí:** rozpuštěné soli ovlivňují iontovou sílu roztoků a s ní souvisejí aktivity přítomných iontů (i příslušných nabitých forem indikátorů). Tzv. solná chyba se nejvýrazněji projevuje u indikátorů na bázi sulfoftaleinů.
- c) **proteiny:** ve vodném roztoku mají proteiny (kromě isoelektrického bodu) nenulový náboj. Některé indikátory (zvláště jejich aniontové formy) se mohou na kladně nabitě proteiny vázat, čímž dochází ke změně zbarvení indikátoru - tzv. proteinová chyba (methylobranž).

6.1.5. Praktické použití acidimetrie a alkalimetrie

6.1.5.1. Odměrné roztoky a standardní látky

Při acidobazických titracích používáme jako odměrná činidla roztoky silných kyselin a zásad. U acidimetrie se jedná nejčastěji o kyselinu chlorovodíkovou, sírovou či chloristou. U alkalimetrie roztoky hydroxidů sodného, draselného, někdy též barnatého.

Připravíme-li z uvedených látek odměrný roztok, bude jeho skutečná koncentrace poněkud odlišná od požadované hodnoty, neboť obsah účinné složky v komerčně dostupných preparátech těchto látek není definován s požadovanou přesností.

Před titrací vzorku musíme tedy provést titraci roztoku vhodné standardní látky a z výsledku titrace vypočítat přesnou koncentraci odměrného roztoku.

Standardní látka musí být snadno dostupná ve vysokém stupni čistoty (nejméně p.a.). Čistota ani složení standardu se nesmí skladováním měnit. Základní látka nesmí být hygroskopická, měla by mít co největší relativní molekulovou hmotnost, aby se snížila chyba při navažování.

Standardem pro acidimetrické titrace jsou nejčastěji hydrogenuhličitan draselný, bezvodý uhličitan sodný a tetraboritan sodný.

Jako standardy u alkalimetrických titrací se používají: kyselina šťavelová a hydrogenftalan draselný.

6.1.5.2. Příklady některých acidobazických titračních stanovení

Silné kyseliny a zásady lze stanovovat s vysokou přesností, zvláště nejsou-li jejich koncentrace příliš nízké. Vzhledem k výrazné změně pH v okolí bodu ekvivalence je i výběr indikátorů poměrně široký.

Slabé kyseliny: pro stanovení slabých kyselin je důležité nejprve zjistit, jaké bude pH v bodu ekvivalence (pT).

Kyselina siřičitá se stanovuje titrací hydroxidem sodným do 1. stupně na indikátor methylobranž. Titrace do 2. stupně neposkytuje přesné výsledky.

Kyselina uhličitá se stanovuje titrací hydroxidem sodným do 1. stupně na indikátor fenolftalein.

Kyselina trihydrogenfosforečná se stanovuje titrací hydroxidem sodným do 1. stupně na methylovanž.

Kyselina fluorovodíková se titruje hydroxidem sodným na fenolftalein. Při práci je nutné používat polyethylenové nádoby.

Kyselina trihydrogenboritá je velmi slabá jednosytná kyselina. Není ji možno stanovit přímou titrací ve vodném roztoku. Je-li však k titrovanému roztoku přidán glycerol či mannitol, vzniká silnější kyselina glycerinoboritá či mannitoboritá, titraci je možno provést hydroxidem sodným na fenolftalein.

Organické kyseliny (mravenčí, octová) se titrují hydroxidem sodným na fenolftalein či thymolovou modř.

Slabé zásady většinou netitrujeme kyselinami přímo. Přidáváme nejprve nadbytek silné kyseliny o známé koncentraci a titrujeme pak zpětně odměrným roztokem hydroxidu. Jako indikátor se používá obvykle methylovanž či methylocervec.

Amonné soli stanovujeme buď metodou destilační, nebo metodou formaldehydovou.

U destilační metody je prvním krokem zalkalizování roztoku vzorku přebytkem silné zásady. Uvolněný amoniak vydestilujeme do předlohy, kde se zachytí ve známém nadbytečném množství odměrného roztoku kyseliny chlorovodíkové či sírové. Zpětnou titrací roztoku v destilační předloze hydroxidem sodným zjistíme obsah amonných solí ve vzorku.

Formaldehydová metoda je založena na reakci amoniaku (uvolněného z amonné soli) s formaldehydem, při níž vzniká hexamethylentetraamin:



Uvolněná HCl se titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného na fenolftalein.

6.2. Odměrné metody založené na srážecích reakcích

Srážecí reakce lze v omezeném rozsahu použít též pro odměrná stanovení. Podmínkou pro reakce použitelné při srážecích titracích je jejich rychlý, kvantitativní a stechiometrický průběh a rovněž možnost vhodně indikovat bod ekvivalence. Vylučování sraženin ve většině případů probíhá pomalu, zvláště v okolí bodu ekvivalence. Tato skutečnost, která nevadí při gravimetrii, kde je možno nechat sraženinu při zvýšené teplotě koagulovat delší dobu, je vážnou překážkou při srážecích titracích a omezuje jejich použitelnost na víceméně klasickou skupinu stanovení.

Srážecí titrace jsou vhodné např. pro stanovení halogenidů (Cl^- , Br^- , I^-), pseudo-halogenidů (CN^- , SCN^- , N_3^-) či Ag^+ iontů. Nejběžnějším srážedlem je odměrný roztok AgNO_3 či NaCl. V takovémto případě hovoříme někdy o argentometrickém stanovení.

Jedním z nejběžnějších argentometrických postupů je stanovení chloridových iontů *Mohrovou metodou*.

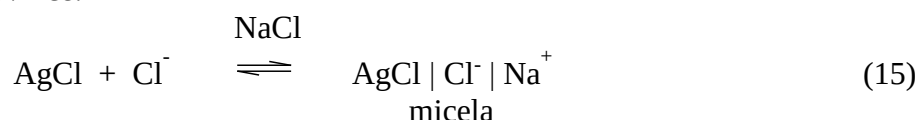
Roztok halogenidu se titruje odměrným roztokem dusičnanu stříbrného. Před bodem ekvivalence se do roztoku přidá indikátor (roztok chromanu draselného). V bodě ekvivalence se bílá či nažloutlá sraženina halogenidu stříbrného zbarví červenohnědě v důsledku vyloučení Ag_2CrO_4 . Podstatou indikace bodu ekvivalence chromanem draselným je skutečnost, že halogenidy stříbrné jsou méně rozpustné, než chroman stříbrný.

Při argentometrickém stanovení halogenidů a pseudohalogenidů můžeme použít k indikaci bodu ekvivalence též adsorpčních indikátorů. Jako adsorpční indikátor používáme nejčastěji fluorescein (Fajansova metoda).

Toto organické barvivo disociuje v roztoku dle schématu:



Částice AgCl , vznikající při titraci chloridových iontů na sebe zpočátku vážou nadbytečné Cl^- ionty z roztoku dle rovnice:



Za bodem ekvivalence, kdy je v roztoku nepatrný nadbytek Ag^+ iontů, vzniknou micely typu AgNO_3



Vnější anion z micely (obv. NO_3^-) je na rozdíl od Na^+ (před bodem ekvivalence - rovnice (15)) zaměnitelný aniontem vzniklým disociací indikátoru - Fl^- , tedy



V bodě ekvivalence má adsorbovaný anion indikátoru odlišné zbarvení (ružovofialové) od aniontu nesorbovaného před bodem ekvivalence (žlutozelené zbarvení).

Jako další příklady srážecích titrací je možno uvést stanovení stříbrných iontů dle Gay-Lussaca a Volharda. Gay-Lussacova zákalová metoda je založena na titraci stříbrných iontů odměrným roztokem chloridu sodného. Během titrace je roztok zakalen koloidní disperzí AgCl , jehož micely jsou před bodem ekvivalence nabitě Ag^+ ionty (vlastními krystalové mřížce sraženiny) a anionty (např. NO_3^-).

Tyto shodně nabité částice se odpuzují. V oblasti bodu ekvivalence jsou takřka všechny adsorbované (Ag^+) ionty již vázány do sraženiny AgCl , sraženina zřetelně koaguluje a nadbytečná kapka titračního činidla již nevyvolá další tvorbu sraženiny. I přes nenáročnost provedení tato metoda poskytuje velmi přesné výsledky.

Volhardova metoda se používá při stanovení Ag^+ iontů. Jako titrační činidlo slouží roztok thiokyanatanu amonného v kyselém prostředí. Indikátorem jsou Fe^{3+} ionty, které s nadbytkem thiokyanatanových iontů (po vysrážení AgSCN) tvoří intenzivní červené zbarvení.

Standardní látky při srážecích titracích:

Jako standardů se při běžných typech srážecích titrací používá čisté stříbro a chlorid sodný.

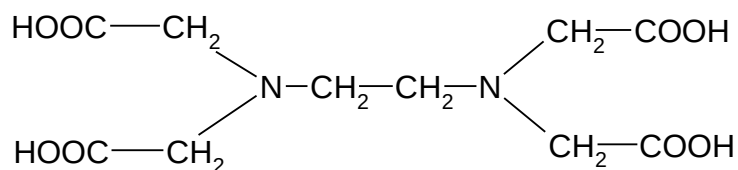
6.3. Odměrné metody založené na komplexotvorných reakcích

Pro rychlá stanovení kovových iontů lze s výhodou využít komplexotvorných reakcí. O vhodnosti příslušného komplexotvorného činidla rozhoduje termodynamická stabilita vznikajícího komplexu, významnou roli hraje též rychlost vzniku komplexu. Jelikož většina titrací probíhá ve vodném prostředí, musí být činidlo i příslušný komplex dobře rozpustné ve vodě. Z hlediska analytického i vzhledem k stechiometrickým poměrům je velmi výhodné, když stabilní komplex vzniká v jediném reakčním stupni:



a složitější komplexy typu ML_n nevznikají. V případě vzniku složitějších komplexů je možno odměrná stanovení provádět spíše výjimečně, a to pouze tehdy, když konstanty stability dvou sousedních komplexotvorných stupňů jsou dostatečně odlišné (vzdálené). I přes velký počet látek vykazujících komplexotvorné vlastnosti vyhovuje uvedenému požadavku jen omezená skupina činidel. V analytické chemii se velmi osvědčily aminopolykarboxylové kyseliny. Tato organická polydonorová činidla obsazují více koordinačních míst centrálního atomu, jelikož mají několik skupin s volnými elektronovými páry. Při reakci polydonorového ligandu s kovovým iontem vznikají cyklické komplexy neboli cheláty (z řeckého chelé = klepeto). Komplexotvorná činidla s těmito vlastnostmi nazýváme chelatony (méně běžně též chelony). Patrně nejrozšířenějším činidlem tohoto typu je kyselina ethylendiamintetraoctová, jejíž disodná sůl (dihydrát) se pod názvem Chelaton 3 (nebo též Komplexon III, Titriplex III, Titrisol) používá v mnoha analytických laboratořích.

Kyselina ethylendiamintetraoctová



Existují i jiné druhy podobných činidel. Odměrná stanovení založená na reakci chelatonů s kovovými ionty se označují společným názvem „chelatometrické metody“ či „chelatometrie“.

Výhodou chelatometrických činidel používaných v praxi je skutečnost, že reaguje vždy 1 molekula komplexotvorného činidla s 1 atomem kovu bez ohledu na jeho oxidační stupeň. Titrační stechiometrie chelatometrických titrací je tedy velmi jednoduchá. Látkový poměr chelaton : kov = 1 : 1.

V praxi se uplatňují tři varianty chelatometrických titrací: přímé stanovení (nejběžnější), zpětná titrace a vytěšňovací titrace.

Přímé stanovení: U alikvotního podílu vzorku upravíme pH na potřebnou hodnotu (nejčastěji přidavkem tlumivého roztoku). Poté přidáme vhodný indikátor a titrujeme odměrným roztokem chelatonu až do změny zbarvení.

Zpětná titrace: Tuto variantu chelatometrie můžeme s výhodou využít při stanovení kovů vázaných ve sraženinách ve vodě nerozpustných. Často jsou tyto sraženiny rozpustné v nadbytku roztoku chelatonu. Nadbytek činidla se pak stanoví zpětnou titrací odměrným roztokem zinečnaté nebo hořečnaté soli. Zpětná titrace se výhodou použije také v případě, že reakce chelatonu s kovem je sice kvantitativní, ale pro přímou titraci příliš pomalá, či vyžaduje např. zvýšenou teplotu.

Zpětnou titrací lze stanovit např. Pb vázané v PbSO_4 , Ca vázaný v CaC_2O_4 atd. Při zpětné titraci však musíme mít na paměti, že stabilita finálního komplexu chelaton-kov musí být menší nebo nejvýše stejná jako stabilita komplexu stanovovaného kovu (v případě chelatonátu zinečnatého a zejména hořečnatého tato podmínka obvykle splněna je).

Zpětná titrace je rovněž vhodná pro stanovení některých aniontů, pokud vytvářejí nerozpustné sloučeniny s chelatometricky stanovitelnými kovy (např. SO_4^{2-} převedeme na BaSO_4 a zpětnou titrací stanovíme Ba).

Vytěšňovací titrace: Je nejméně běžný chelatometrický postup. Použijeme jej tehdy, když pro stanovovaný kov neexistuje, či nemáme k dispozici vhodný indikátor. Podmínkou však je vyšší stabilita komplexu stanovovaného kovu s chelatonem, oproti stabilitě komplexu chelaton - hořčík. Pracovní postup spočívá v titraci stanovovaného kovu roztokem chelatonátu hořečnatého. Při reakci se uvolní hořčík a stanovovaný kov vytvoří s chelatonem komplex. V dalším kroku pak ztitrujeme uvolněný hořčík přímou titrací chelatonem.

6.3.1. Indikátory používané při chelatometrických titracích

V chelatometrii se používají tzv. metalochromní indikátory. Jedná se o látky, které tvoří s kovy barevné komplexy. Jelikož samy indikátory jsou zpravidla látky barevné, sledujeme při titraci změnu zbarvení či odstínu barvy obdobně, jako u jiných odměrných metod s vizuální indikační koncovkou. Metalochromní indikátory jsou obvykle poměrně složitá organická barviva, která vykazují barevné změny též v souvislosti se změnami pH. Z těchto důvodů je nutno zajistit při titraci přiměřeně konstantní hodnotu pH, aby tento faktor neovlivňoval sledování barevné změny související s tvorbou (či rozpadem) komplexu chelaton - kov. Při chelatometrii je tedy nezbytné používat vhodné tlumivé roztoky.

Mezi nejběžnější metalochromní indikátory patří:

- Eriochromová čern T, používaná zejména pro stanovení hořčíku, manganu, olova, zinku a kadmia. Titrace se provádějí v prostředí amonného tlumiče ($\text{pH} \approx 10$).
- Murexid je vhodný ke stanovení vápníku (v silně alkalickém prostředí ($\text{pH} \approx 12$), rovněž pak kobaltu, niklu a mědi v prostředí amonného tlumiče ($\text{pH} \approx 10$).
- Xylenolová oranž je používána ke stanovení rtuti, zinku, kadmia či olova v prostředí urotropinu ($\text{pH} = 5-6$), některé kovy s vyšším oxidačním číslem lze titrovat v kyselém prostředí při $\text{pH} 1-3$ (prostředí stabilizováno pouze přidavkem kyseliny dusičné), např. bismut a thorium.

Směsi kovů

Chelatometrii lze s úspěchem použít i při stanovení směsí kovových iontů. Jednou z nejrozšířenějších aplikací (používaných zejména ve vodohospodářských laboratořích) je stanovení dvojice kovů vápník - hořčík (např. při zjišťování tvrdosti vody).

Stanovení provedeme ve dvou krocích. Nejprve určíme celkový obsah kovů titrací v prostředí amoniakálního tlumiče $\text{pH} = 10$ (na indikátor eriochromovou čern T), pak v novém podílu vzorku upravíme pH na 11–12 přidavkem roztoku NaOH a stanovíme pouze vápník titrací na indikátor murexid.

6.3.2. Praktická chelatometrie

Chelaton III není standardní látkou. Odměrné roztoky (obvykle o koncentraci 0,001 až 0,1 mol.l⁻¹) standardizujeme titrací vhodných chelatometrických standardů. Těmi jsou např. chemicky čistý kovový zinek, thiokyanatan bis-pyridinozinečnatý či chlorid olovnatý. Standardizované roztoky chelatonu (zvláště zředěné) se nedoporučuje uchovávat ve skleněných láhvích z důvodu možné interakce s kovy alkalických zemin ve skle. Nejvhodnější jsou pro skladování láhve plastové.

6.4. Odměrné metody založené na redoxních reakcích

Podmínek pro možnost využití redoxních dějů v odměrné analýze je několik. Reakce musí probíhat kvantitativně, rychle a musíme mít vhodný způsob k indikaci bodu ekvivalence.

Používáme-li jako odměrné činidlo roztok oxidovadla, jde o oxidimetrii, v případě titrace redukovadlem hovoříme o reduktometrii. Oxidimetrie tvoří v praxi výrazně větší podíl z obou zmíněných variant.

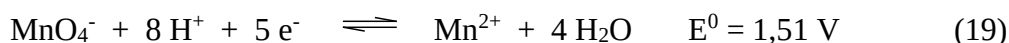
V závislosti na použití odměrného činidla rozlišujeme několik nejběžnějších oxidimetrických metod: permanganatometrii (častěji, avšak poněkud méně správně manganometrii), bichromatometrii, cerimetrii, jodometrii a bromatometrii.

V případě, že stanovovaná látka je v nejvyšším oxidačním stupni, musíme ji před titrací zredukovat. K tomuto účelu používáme různá vhodná činidla, jako např.: oxid siřičitý,

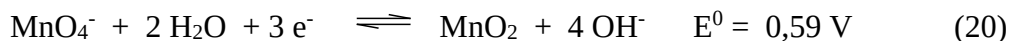
sulfan, chlorid cínatý, v omezené míře též používáme kovové amalgámy. Velmi často přidáme redukčního činidla nadbytek, po reakci zbylé množství redukovadla zjistíme zpětnou titrací oxidimetricky.

6.4.1. Permanganatometrie (manganometrie)

Jako činidlo slouží v manganometrii roztok KMnO_4 o koncentraci 0,05–0,005 mol.l⁻¹. Takřka výhradně se při odměrných stanoveních využívá silných oxidačních vlastností této látky v kyselém prostředí.

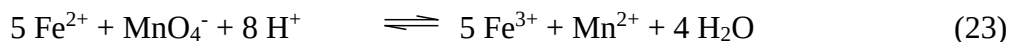
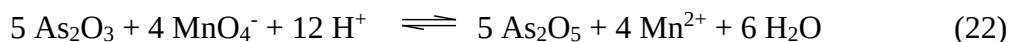
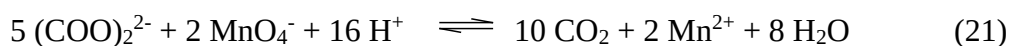


V roztocích slabě zásaditých či neutrálních se manganistan redukuje na oxid manganičitý.



Této reakce se však v analytické chemii využívá podstatně méně. Je nutno mít na paměti, že odměrný roztok KMnO_4 se zvolna rozkládá za uvolňování kyslíku a MnO_2 , který se usazuje na stěnách nádoby a katalyticky urychluje další rozklad KMnO_4 . Z těchto důvodů je nutno titr odměrného roztoku periodicky kontrolovat pomocí standardních látek.

K tomuto účelu se používají zejména: šťavelan sodný (popř. dihydrát kyseliny šťavelové), oxid arsenitý, jenž je patrně nejlepším standardem, avšak pro svou jedovatost se v praxi používá méně často a konečně Mohrova sůl (hexahydrát síranu amonno-železnatého). Průběh a stechiometrii příslušných reakcí naznačují následující rovnice:



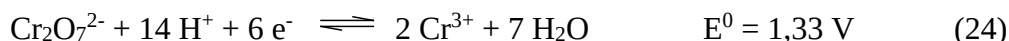
Značnou výhodou práce s manganistanem draselným je intenzivní fialové zbarvení činidla, které při redukci přechází na takřka bezbarvou manganatou sůl. Z tohoto důvodu není nutné dodávat do roztoku jakýkoli indikátor, neboť první nadbytečnou kapkou odměrného roztoku se titrovaný roztok zbarví bledě fialově.

Přímou titrací roztokem KMnO_4 lze stanovit široké spektrum látek schopných oxidace. Mezi nejběžnější aplikace patří stanovení železa, dusičnanů či aktivního kyslíku v peroxidických sloučeninách.

Velmi často se však využívá zpětná titrace, kdy se vzorek oxiduje známým nadbytkem KMnO_4 , a poté se nadbytečný KMnO_4 ztitruje odměrným roztokem např. železnaté soli. V tomto směru však manganometrie své možnosti zdaleka nevyčerpala. Jelikož v praxi přichází v úvahu často stanovení složek ve vyšším či nejvyšším oxidačním stupni, volí se mnohdy tzv. nepřímé stanovení těchto látek (oxidovadel). Různá oxidační činidla, peroxid vodíku, peroxodisírany, chlorečnany, oxid olovičitý apod. necháme reagovat se známým množstvím železnaté soli v nadbytku a nespotřebované množství Fe^{2+} iontů stanovíme manganometricky. V tomto směru se manganometrie (a do značné míry oxidimetrické metody jako takové) stává univerzální odměrnou metodou při práci s redoxními systémy.

6.4.2. Bichromatometrie

Jako odměrné činidlo slouží v bichromatometrii roztok $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ o koncentraci $0,01\text{--}0,05 \text{ mol.l}^{-1}$. Jeho hlavní výhodou oproti KMnO_4 je dobrá stabilita odměrného roztoku. Další výhodou je možnost přípravy odměrného roztoku přímo ze známé navážky $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, který je po dvojí rekrytalizaci a vysušení při 180°C standardní látkou. Nevýhodou je však nižší redoxní potenciál reakce:



a dále skutečnost, že oranžové zbarvení titračního činidla svou intenzitou neumožňuje vyloučení indikátorů jako v případě manganometrie. Z těchto důvodů je do titrovaného roztoku nutno přidat vizuální oxidačně-redukční indikátor.

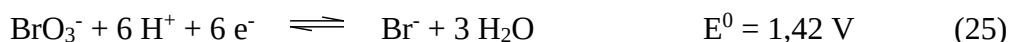
Oxidačně-redukční indikátory jsou látky, jejichž oxidovaná forma má jiné zbarvení, než forma redukováná. Jde obvykle o organické sloučeniny či o vhodně volené komplexní sloučeniny. Mezi nejběžnější látky používané k tomuto účelu patří difenylamin, který se při titraci oxiduje na difenylbenzidinovou violet. Difenylaminu se používá jako 1%ního roztoku v koncentrované kyselině sírové.

Osvědčeným oxidačně-redukčním indikátorem, používaným zejména při bichromatometrii, je o,o'-fenanthrolinoželeznatý komplex. Jeho redukováná forma, tzv. feroin, má červené zbarvení, oxidovaná forma feriin má barvu modrou.

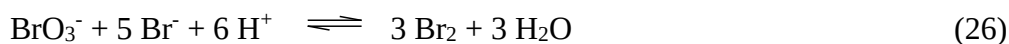
Obvyklým prostředím pro bichromatometrické titrace je zředěný roztok kyseliny sírové. V případě roztoků HCl by její koncentrace neměla překročit 1 mol.l^{-1} , neboť při vyšších koncentracích a rovněž při zvýšené teplotě dochází účinkem dichromanu k oxidaci chloridových iontů na chlor.

6.4.3. Bromatometrie

Titračním činidlem při bromatometrii je roztok KBrO_3 o koncentraci $0,01\text{--}0,05 \text{ mol.l}^{-1}$.



Bromičnan draselný je standardní látkou a po přesné navážce připravíme jeho rozpuštěním odměrný roztok. Titrujeme v prostředí zředěné kyseliny chlorovodíkové. Jak vyplývá z hodnoty standardního redoxního potenciálu, je podstatně slabším oxidačním činidlem než KMnO_4 . V bodě ekvivalence začínají nadbytečné bromičnanové ionty reagovat s bromidovými ionty v roztoku podle rovnice:



Uvolněný brom zbarví titrovaný roztok žlutavě. Pro zvýraznění barevné změny v bodě ekvivalence přidáváme před očekávaným bodem ekvivalence do roztoku indikátor methylčerveně nebo methyloranž. Tyto látky známé jako acidobazické indikátory přecházejí účinkem bromu v bezbarvé leukoformy a chovají se zde tedy jako nevratné redoxní indikátory. Jelikož ani tento způsob zvýraznění bodu ekvivalence nepřináší vždy uspokojivé výsledky, pracuje se v bromatometrii někdy formou zpětné titrace tak, že kombinujeme bromatometrii s jodometrií. K stanovované (oxidované) látce přidáme známý nadbytek bromičnanu, nezreagovaný bromičnan zredukujeme nadbytkem bromidu na brom. K roztoku pak přidáme nadbytek jodidu draselného, který účinkem bromu poskytne jod. Uvolněný jod nakonec ztitrujeme roztokem thiosíranu sodného (viz jodometrie). V tomto provedení je bromatometrie velmi přesnou analytickou metodou.

6.4.4. Jodometrie

Jodometrie patří vedle manganometrie patrně k nejčastěji používaným odměrným metodám, jež jsou založené na redoxních dějích. Přímá jodometrie využívá oxidačních vlastností roztoku jodu, jenž se při reakci se stanovovaným redukovadlem redukuje na jodid.



Redoxní potenciál uvedené reakce je podstatně nižší než u ostatních oxidimetrických metod. V rozmezí pH 0–8 nezávisí na koncentraci vodíkových iontů. Při vyšších hodnotách pH se uplatňují nežádoucí reakce, které znemožňují použití přímé jodometrie.



Odměrným roztokem je v přímé jodometrii roztok jodu ($c = 0,01\text{--}0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) v jodidu draselném. Přídavek jodidu draselného nemá samozřejmě vliv na obsah účinného jodu. Jeho přídavek usnadňuje rozpouštění jodu (jenž se v destilované vodě rozpouští obtížně), dále pak

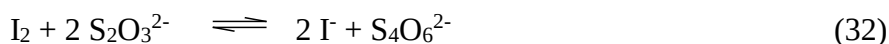
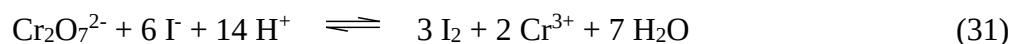
snižuje tenzi par jodu nad odměrným roztokem a tím zvyšuje jeho stabilitu. Při rozpouštění jodu v roztoku jodidu draselného vzniká trijodidový anion.



Ke standardizaci odměrného roztoku jodu je nejvhodnější základní látkou oxid arsenitý.

Přímá jodometrie (titrace roztokem jodu) se však používá podstatně méně často ve srovnání s jodometrií nepřímou. V analytické praxi představuje nepřímá jodometrie ideální řešení pro stanovení nejrozumnějších oxidovadel.

Oxidovadlo (např. $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, MnO_4^- , H_2O_2 , IO_3^- , BrO_3^- , AsO_4^{3-} , Cl_2 , Br_2 atd.) reaguje s nadbytkem jodidu draselného. Uvolněný jod je pak ztitrován roztokem thiosíranu sodného. Proces můžeme na příkladu dichromanu popsat takto:



Po reakci oxidovadla s jodidem titrujeme vzorek odměrným roztokem thiosíranu sodného. Před očekávaným bodem ekvivalence přidáme do roztoku indikátor - škrobový roztok, jenž s jodem vytváří modré zbarvení. Konec titrace je indikován vymizením zbarvení roztoku. Podstatou indikace je skutečnost, že škrobový roztok obsahuje amylosu, složku, která vytváří s jodem intenzivně modrou adsorpční sloučeninu (pD reakce je 5–6).

Thiosíran sodný není standardní látkou. Přesnou koncentraci odměrného roztoku thiosíranu zjišťujeme tak, že pomocí vhodného standardu vyloučíme z nadbytku jodidu jod, který pak titrujeme. Doporučuje se ponechat čerstvě připravený roztok thiosíranu asi 1 týden stát a pak teprve stanovit jeho přesnou koncentraci. Je rovněž vhodné stabilizovat roztok thiosíranu přidávkou malého množství jodidu rtuťnatého.

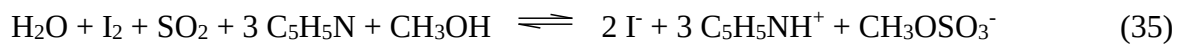
Standardní látkou pro stanovení přesné koncentrace odměrného roztoku thiosíranu může být $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (viz reakce (31) a (32)) nebo KIO_3 .



Jak již bylo uvedeno, je praktické použití jodometrie velmi široké, zvláště v případě nepřímého stanovení oxidovadel. Kromě redoxních aplikací v praxi je též významné využití jodometrie při stanovení dvojných vazeb v organických látkách, které je založeno na adiční reakci:



Takto se zjišťuje např. obsah nenasycených dvojných vazeb v tucích a olejích a udává se jako tzv. jodové číslo, vyjadřující množství halogenu v procentech jodu adovaného na vzorek. Další zvláštní aplikací jodometrie je stanovení stop vody (zejména v organických rozpouštědlech). Metoda dle K. Fischera spočívá v reakci:



Titrace roztoku jodu a SO_2 ve směsi pyridinu a methanolu se dnes provádí takřka výhradně v coulometrickém uspořádání.

7. Potenciometrie

7.1. Princip potenciometrických metod

Při potenciometrických měřeních se měří elektromotorické napětí galvanického článku, které je závislé na koncentraci stanovovaného iontu. Galvanický článek se sestavuje z elektrody měrné, jejíž potenciál je závislý na koncentraci (správněji na aktivitě) stanovovaného iontu a z elektrody referentní, která má konstantní potenciál, nezávislý na složení roztoku. Je-li při měření odběr elektrického proudu z článku omezen na minimum, představuje změřené elektromotorické napětí rovnovážné napětí článku.

Závislost potenciálu na koncentraci pro oxidačně redukční elektrody udává Nerstova rovnice. Jestliže na elektrodě probíhá oxidačně-redukční reakce



má tato rovnice tvar:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{c(\text{Ox})}{c(\text{Red})}$$

kde E^0 je standardní potenciál elektrody, R - plynová konstanta, T - teplota v kelvinech, n - počet elektronů vyměňovaných při elektrodové reakci, F -Faradayova konstanta, $c(\text{Ox})$ a $c(\text{Red})$ - koncentrace oxidované a redukované formy prvku. Rovnice bývá někdy uvedena s $c(\text{Red})$ v čitateli a $c(\text{Ox})$ ve jmenovateli, pak je znaménko za E^0 záporné.

Obdobná rovnice byla odvozena i pro membránové elektrody (viz dále).

Elektromotorické napětí článku je dáno rozdílem potenciálů katody a anody

$$U_e = E_{\text{kat}} - E_{\text{an}}$$

Pro měření elektromotorického napětí článků s vysokým vnitřním odporem se používají výchylkové metody s využitím elektronických zesilovačů. Měřicí přístroje této skupiny se vyznačují velkým vstupním odporem (10^{10} – $10^{12} \Omega$). Moderní přístroje mají digitální převodník, na displeji je možno odečítat hodnoty napětí (v mV), nebo je stupnice kalibrována přímo na koncentraci měřeného iontu (např. pH).

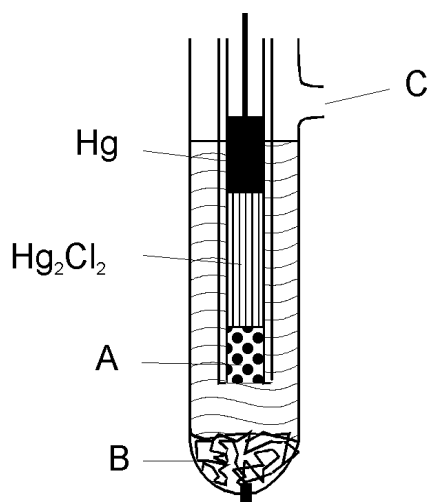
7.2. Referentní elektrody

Nejčastěji používanou referentní elektrodou při potenciometrických měřeních je elektroda kalomelová. Je tvořena kovovou rtutí, vrstvou chloridu rtuťného (kalomelu), který je ve styku s roztokem chloridu draselného. Do rtuti je ponořen platinový drátek pro odvod potenciálu. Potenciál kalomelové elektrody je závislý na koncentraci chloridových iontů podle rovnice:

$$E = E^0 - \frac{RT}{F} \cdot \ln C_{\text{Cl}^-}$$

Z tohoto důvodu je nutno zabezpečit stálou koncentraci chloridových iontů v systému. Používá se proto nasycený roztok KCl, obsahující ještě krystalky pevného KCl. Tato elektroda se nazývá nasycená kalomelová elektroda - SKE. Schéma kalomelové elektrody je $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}(\text{sat})$.

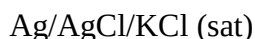
Konstrukce továrně vyráběných kalomelových elektrod je zřejmá z obr. č. 7.1.



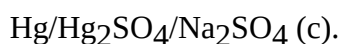
Obr. č. 7.1.: Kalomelová elektroda

A - porézní ucpávka, B - nasycený roztok KCl s krystalky KCl, C - plnicí otvor

Další často používanou referentní elektrodou je elektroda chloridostříbrná. Je to v podstatě stříbrný drátek, povlečený elektrolyticky vyloučeným chloridem stříbrným, ponořený do roztoku chloridových iontů. Rovněž potenciál této elektrody je závislý na koncentraci chloridových iontů podle obdobné rovnice jako u kalomelové elektrody. Její schéma je následující:



Při měřeních, kde vadí přítomnost chloridových iontů, se používá jako referentní elektroda merkurosulfátová, tvořená rtutí, síranem rtuťným a roztokem síranu sodného:



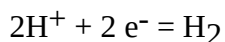
7.3. Měrné elektrody

7.3.1. Oxidačně-redukční elektrody

Oxidačně-redukční elektroda je tvořena drátkem nebo plíškem z inertního kovu (Pt, Au), ponořeného do roztoku, obsahujícího dvě redoxní formy určité látky. Potenciál takovéto

elektrody je dán rovnicí, uvedenou v kap. 7.1. Povrch inertní elektrody zprostředkovává výměnu elektronů mezi částicemi redoxního páru.

K tomuto typu patří především vodíková elektroda, jejíž standardní potenciál je podle konvence považován za nulový a k němuž jsou všechny potenciály vztahovány. Vodíkovou elektrodu tvoří platinový plíšek, pokrytý platinovou černí (houbovitá platina), ponořený do roztoku vodíkových iontů. K povrchu plíšku v roztoku se přivádí plynný vodík. Na elektrodě probíhá reakce:

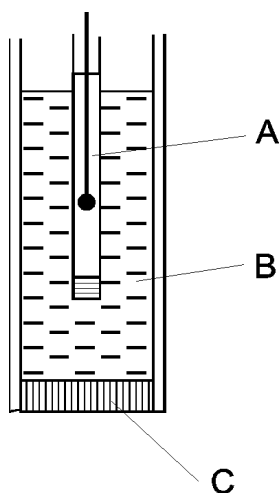


Potenciál této elektrody je úměrný koncentraci vodíkových iontů v roztoku a našla proto použití pro měření pH. Její úprava je však značně náročná, proto se běžně k tomuto účelu nepoužívá.

Na principu redoxní reakce jsou rovněž založeny elektrody chinhydronová, antimonoxidová a bismutoxidová, které se rovněž používají pro měření pH. Vizmutová elektroda je doporučována pro měření v silně alkalické oblasti, při hodnotách pH blížících se 14.

7.3.2. Iontově selektivní elektrody (ISE)

Iontově selektivní elektrody umožňují přímé měření koncentrace (lépe aktivity) řady iontů. Čidlem iontově selektivní elektrody je elektrochemická membrána, jejíž potenciál závisí na aktivitě určitého iontu v roztoku. Konstrukci iontově selektivní elektrody ukazuje obr. č. 7.2.



Obr. č. 7.2.: Schéma iontově selektivní elektrody

A - vnitřní referentní elektroda, B - vnitřní roztok, C - membrána

Je to v podstatě trubice, uzavřená na jednom konci elektrochemickou membránou. Uvnitř trubice je roztok iontu, k jehož stanovení je elektroda určena. Do tohoto roztoku je

ponořena svodná referentní elektroda, obvykle chloridostříbrná. V tomto případě je ještě ve vnitřním roztoku roztok KCl, který je zde nezbytný pro zajištění jejího stálého potenciálu. Ponoří-li se tento systém do roztoku stejných iontů, které jsou uvnitř trubice, o odlišné koncentraci, vytvoří se na membráně tzv. membránový potenciál, jehož velikost je úměrná rozdílu koncentrací iontu na obou stranách membrány. Sestavení článku pro měření s iontově selektivními elektrodami lze znázornit schématem:



Vlastní systém iontově selektivní elektrody je tvořen vnitřní referentní elektrodou 2, vnitřním roztokem iontově selektivní elektrody 2 a membránou. Tato soustava je ponořena do měřeného roztoku 1, do něhož je ponořena i referentní elektroda 1. Elektromotorické napětí tohoto článku je dáno vztahem:

$$E = E_2 + \Delta \varphi_M - E_1$$

kde φ_M je membránový potenciál.

Součet potenciálu vnitřní referentní elektrody a membránového potenciálu se nazývá potenciál membránové elektrody E_{ISE}

$$E_{ISE} = E_2 + \Delta \varphi_M.$$

V případě, že membrána ISE je na obou stranách v kontaktu s roztokem téhož iontu (B), jehož koncentraci chceme stanovit a ani ve zkoumaném roztoku ani ve vnitřním roztoku ISE není jiný ion, který by ovlivňoval membránový potenciál, pak je tento potenciál dán vztahem:

$$\Delta \varphi_M = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c(B)_1}{c(B)_2}$$

kde z je nábojové číslo iontu B, $c(B)$ jsou koncentrace v roztocích 1 a 2.

Tato rovnice je obdobná Nernstově rovnici. Protože potenciály obou referentních elektrod jsou známé a konstantní, je potenciál iontově selektivní elektrody dán vztahem:

$$E_{ISE} = \text{konst} + \frac{RT}{zF} \ln \frac{c(B)_1}{c(B)_2}$$

kde konstantní člen je dán veličinami, které nezávisí na koncentraci určovaného iontu v roztoku.

Iontově selektivní elektrody se rozdělují do dvou hlavních skupin podle toho, zda jsou použity membrány pevné nebo kapalné. Do první skupiny patří membrány tvořené např. monokrystaly LaF_3 nebo Ag_2S , polykrystalickými membránami apod. Do této skupiny se zařazuje i skleněná elektroda.

Do druhé skupiny patří kapalné membrány tvořené organickými rozpouštědly nemísícími se s vodou, ve kterých jsou rozpuštěny vhodné kationtové nebo aniontové měniče iontů, které reagují selektivně s určitým iontem. Použije-li se například vápenatá sůl kyseliny

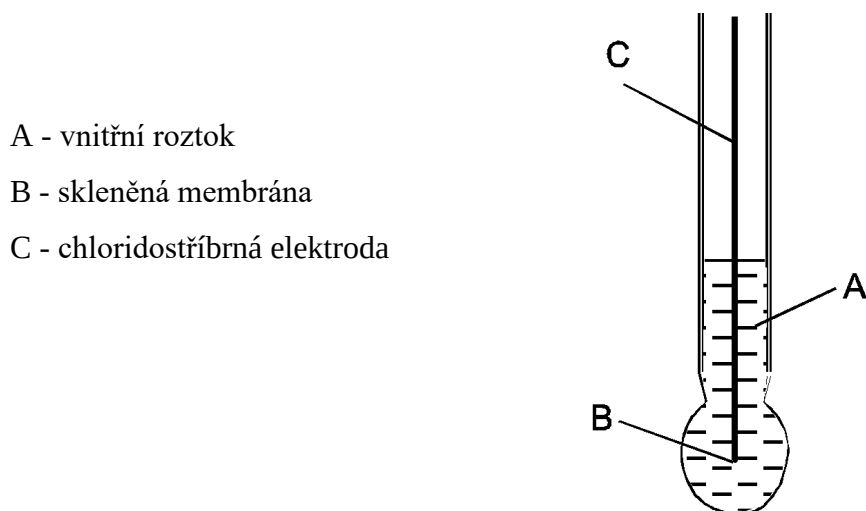
dodecylfosforečné, rozpuštěná v dioktylfenylfonátu, získá se membrána, která reaguje selektivně na koncentraci vápníku. Roztokem iontoměniče je nasycena porézní vložka (slinuté sklo, různé filtrační materiály, fólie z plastů apod.), která tvoří spodní uzávěr elektrody.

Skleněná elektroda.

Skleněná elektroda (obr. č. 7.3.) je jednou z nejdéle a nejvíce používaných ISE. Používá se ke stanovení koncentrace vodíkových iontů. Elektrochemická membrána ve formě baničky ze speciálního elektrodového skla je natavena na skleněné trubičce. Uvnitř baničky je roztok o určitém pH (obvykle fosfátový pufr), do něhož je ponořena chloridostříbrná elektroda jako svodná. Konstantní potenciál této elektrody je zajišťován přítomností chloridových iontů. Potenciál skleněné elektrody je v širokém rozmezí pH lineární funkcí pH:

$$E = E^0 - 2,303 \frac{RT}{F} \text{pH}$$

Běžnými skleněnými elektrodami lze měřit pH v rozmezí od 1 do 10, speciální elektrody lze použít i pro měření pH do 14.



Obr. č. 7.3.: Skleněná elektroda

Fluoridová iontově selektivní elektroda.

Tato elektroda je typickým představitelem elektrod s pevnou monokrystalickou membránou. Její membrána je tvořena monokrystalem fluoridu lanthanitého, aktivovaného příměsí europia. Je plněna roztokem s určitou konstantní koncentrací fluoridových a chloridových iontů. Závislost jejího potenciálu na pF ($\text{pF} = -\log c(\text{F}^-)$) je lineární v rozmezí pF od 1 do 6. Patří k nejpoužívanějším iontově selektivním elektrodám.

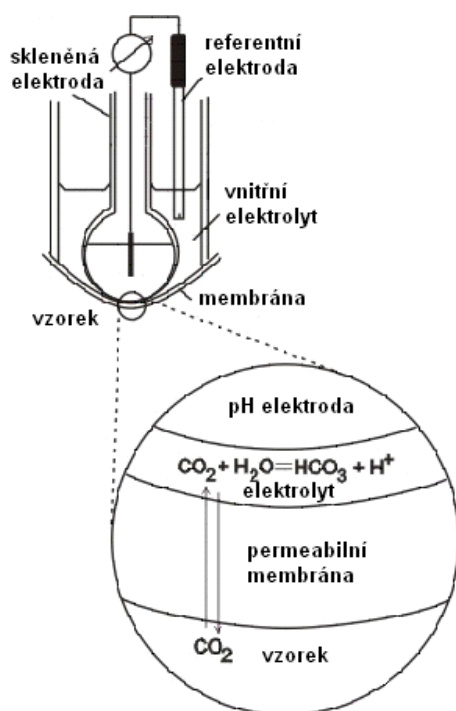
Iontově selektivní elektrody s polykrystalickými membránami.

Polykrystalické membrány jsou lisovány z málo rozpustných solí těžkých kovů, obvykle ze sulfidů. Do membrán jsou často přidávány různé příměsi pro zlepšení iontové

selektivních vlastností nebo ke zvýšení iontové vodivosti membrány. Typickým příkladem takovéto ISE je sulfidová elektroda, jejíž polykrystalická membrána je slisována z Ag_2S . Tuto elektrodu lze pochopitelně využít i ke stanovení Ag^+ iontů. Podobně ISE pro stanovení Cu^{2+} a Pb^{2+} iontů mají membránu zhotovenou z CuS , respektive PbS (s přidavkem Ag_2S pro zvýšení iontové vodivosti membrány). Ionově selektivní elektrodu s polykrystalickou membránou z AgI lze použít pro stanovení jodidových iontů.

7.3.3. Plynové detektory s ISE

Indikační potenciometrické elektrody mohou být základem detektorů plyných látek. V těchto detektorech (senzorech) je elektroda ponořena ve vhodně zvoleném roztoku a oddělena od analyzovaného prostředí permeabilní membránou, která zajistí, aby se do roztoku, v němž je elektroda ponořena, dostaly pouze plynné složky. Plyn z analyzovaného prostředí se rozpouští v materiálu neporézní membrány a difunduje jím do roztoku elektrolytu voleného tak, aby se v přítomnosti plynu měnilo jeho složení (obr. č. 7.4.).



Obr. č. 7.4.: Potenciometrický detektor plynu se skleněnou ISE

Na tyto změny reaguje indikační elektroda změnou svého potenciálu. Vnitřní roztok tvoří velmi tenký film mezi membránou a povrchem elektrody, aby byla odezva detektoru dostatečně rychlá. Nejčastěji se využívá skleněná indikační elektroda a stanovovány jsou plyny, které se ve vodném roztoku účastní protolytických rovnováh spojených se změnou funkce pH. Příkladem takových plynů může být CO_2 nebo NH_3 . Plynové potenciometrické detektory se používají k přímému stanovení plyných látek v plynném nebo kapalném prostředí (např. CO_2 v krvi). Dále mohou být využity pro stanovení látek, které lze do

plynného skupenství převést jednoduchou chemickou reakcí (např. siřičitany lze převést na SO₂ a ten následně stanovit). V neposlední řadě mohou být tato čidla základem tzv. senzorů s imobilizovaným enzymem. V tomto případě je na straně membrány, která přichází do styku s analyzovaným prostředím, imobilizována vrstvička vhodného enzymu, který katalyzuje takovou reakci analytu, při níž vzniká plynný produkt, a ten je detektorem stanoven. Je-li imobilizovaným enzymem ureasa, lze stanovit močovinu (diamid kyseliny uhličitě), neboť reakčními produkty jejího enzymatického rozkladu jsou oxid uhličitý a amoniak, jež lze pomocí plynových detektorů stanovit.

7.4. Využití potenciometrických metod

7.4.1. Přímá potenciometrie

Při přímém potenciometrickém stanovení koncentrace iontů se sestaví článek z měřeného roztoku, do kterého se ponoří vhodná referentní elektroda a indikační elektroda, reagující selektivně na koncentraci stanovovaného iontu. Změřené elektromotorické napětí je úměrné koncentraci stanovovaného iontu. Závislost U_e na pX je u dobrých elektrod lineární v rozmezí $10^0 - 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Obvykle se postupuje tak, že se připraví standardní roztoky stanovovaného iontu, změří se jejich hodnoty U_e , ze kterých se sestojí kalibrační křivka $U_e - pX$. Při měření je třeba dbát toho, že potenciál měrné elektrody může být ovlivňován pH, iontovou silou roztoku či přítomností jiných iontů. Poměrně široký výběr iontově selektivních elektrod umožňuje přímé stanovení řady iontů.

7.4.2. Potenciometrická titrace

Potenciometrie je rovněž možno použít k indikaci bodu ekvivalence při titračních stanoveních. Ve srovnání s vizuální indikací přináší tato metoda zvýšení citlivosti, vyšší přesnost a možnost automatizace. V tomto případě se do titrovaného roztoku ponoří referentní elektroda indikační, jejíž potenciál je závislý buď na koncentraci iontu stanovovaného, nebo na koncentraci iontu titračního činidla, který se stanovovaným iontem při titraci reaguje. Výhodná je rovněž indikace bodu ekvivalence oxidačně-redukčních titrací, kdy se používá jako měrná elektroda platinová nebo zlatá. Titrační křivka, vyjadřující závislost U_e na spotřebě titračního činidla má tvar písmene S, případně obrácené S. Bod ekvivalence je dán inflexním bodem této křivky a určí se buď graficky z ní, nebo výpočtem.

8. Polarografie

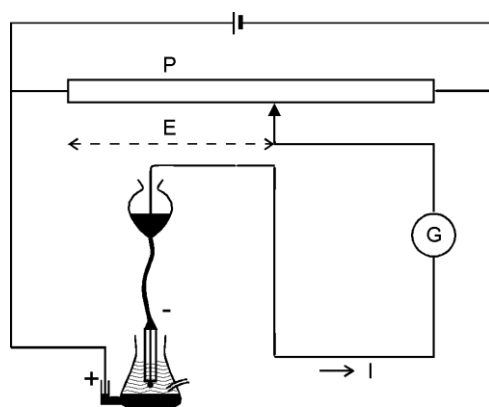
Polarografie je zvláštní variantou elektrolyzy. Patří mezi voltametrické (též voltamperometrické) metody, při nichž se sleduje závislost proudu na vloženém napětí v elektrochemickém článku složeném z nepolarizovatelné referentní a polarizovatelné pracovní (měrné) elektrody. Pro polarografii je typické použití rtuťové kapkové elektrody (RKE) jako elektrody pracovní.

Vývoj polarografie se po jejím objevení (nositel Nobelovy ceny, akademik J. Heyrovský) v r. 1922 ubíral jak směrem fyzikálně - chemickým, tak směrem analytickým. Polarografie se brzy ukázala jako velmi vhodná nejen pro řešení elektrochemických problémů, ale též pro analytickou chemii iontů kovů. Dnešní polarografické techniky umožňují vysoce citlivé stanovení většiny kovů, některých nekovů a řady organických sloučenin.

Mezi hlavní přednosti polarografické analýzy patří její přesnost a dobrá reprodukovatelnost, jednoduchá příprava vzorku k analýze, minimální spotřeba chemikálií a malá spotřeba vzorku.

8.1. Základní zapojení polarografu

Nejjednodušší uspořádání při polarografickém měření je uvedeno na obr. č. 8.1. Vrstva rtuti na dně nádoby je vodivě spojena s kladným pólem zdroje napětí. Do roztoku (5–20 ml) zasahuje ústí kapiláry rtuťové kapkové elektrody (průměr menší než 0,1 mm). Kapilára je spojena hadičkou s rezervoárem rtuti. Rychlost odkapávání rtuti je dána polohou (výškou) rezervoáru nad ústím elektrody. Obvyklý interval mezi dvěma následujícími odkápnutími rtuti se nazývá doba života kapky (τ). Volí se zpravidla $\tau = 2\text{--}4$ s. Reprodukovatelnost zvoleného τ zajišťuje spolehlivost polarografického záznamu. RKE je přes galvanometr G připojena k posuvnému kontaktu potenciometru (na záporný pól). Posunem kontaktu lze plynule zvyšovat napětí E vkládané na obě elektrody. Potenciál RKE vztažený k potenciálu rtuťového dna se rovná záporné hodnotě vloženého napětí, protože potenciál rtuťového dna se v průběhu měření významně nemění. Při měření se vhodně tlumí výchylky proudu vznikající při nárůstu jednotlivých kapek rtuti a střed těchto oscilací odpovídá střední hodnotě polarografického proudu.



Obr. č. 8.1.: Základní zapojení při polarografickém měření: P - potenciometr (plynulá změna napětí), G - galvanometr, E - vložené napětí, I - proud

8.2. Rtuťová kapková elektroda

Rtuťová kapková elektroda (RKE) je realizována tlustostěnnou skleněnou kapilárou délky asi 10 cm o vnitřní světlosti 0,03–0,08 mm, která je spojena plastikovou hadicí se zásobníkem rtuti. Proti ostatním elektrodám má RKE tyto zvláštnosti či výhody:

- naprosto pravidelné odkapávání čisté rtuti vytváří v roztoku vždy nový povrch rtuti, který téměř není ovlivněn předcházející polarizací, takže výsledky jsou dokonale reprodukovatelné.
- rtuť se vyznačuje největším přepětím vodíku, takže i z neutrálních roztoků mohou být vyloučeny dokonce alkalické kovy snadněji než vodík. Díky této unikátní vlastnosti RKE lze polarografii běžně provádět i v kyselých roztocích a nebýt této vlastnosti, polarografie by v analytické chemii zajisté nezískala své důležité postavení.
- při elektrolýze se vylučuje jen nepatrné množství depolarizátoru, takže polarografické záznamy mohou být prakticky libovolněkrát opakovány v jediném vzorku, aniž se významně změní složení roztoku.
- RKE slouží jako neporušitelná oxidačně - redukční elektroda, přičemž v důsledku stále obnovovaného povrchu nepodléhá pasivačním jevům či "otravám" jako běžné tuhé elektrody.
- pro své nepatrné rozměry umožňuje RKE měření i ve velmi malých objemech (až 0,005 ml), což má velký význam pro mikroanalýzu.

Obor potenciálů přístupný RKE se pohybuje dle složení roztoku od +0,4 V až do -2,6 V (proti SKE). Nad +0,4 V nastává anodické rozpouštění rtuti, pod -2,6 V rozklad vody.

8.3. Polarografická analýza

V klasickém uspořádání je polarografická nádobka naplněna základním elektrolytem (např. 0,1M-KCl). Z roztoku elektrolytu je proudem dusíkových bublinek odstraněn rozpuštěný kyslík. Poté se plynule zvyšuje napětí odvětvované na elektrody. Hodnota středního proudu, procházejícího elektrolytem je velmi nízká (asi 10^{-7} A) a nepatrně lineárně narůstá. Proud, který je během této doby registrován, je tzv. nabíjecí - kapacitní (viz dále). Souvisí s růstem rtuťové kapky.

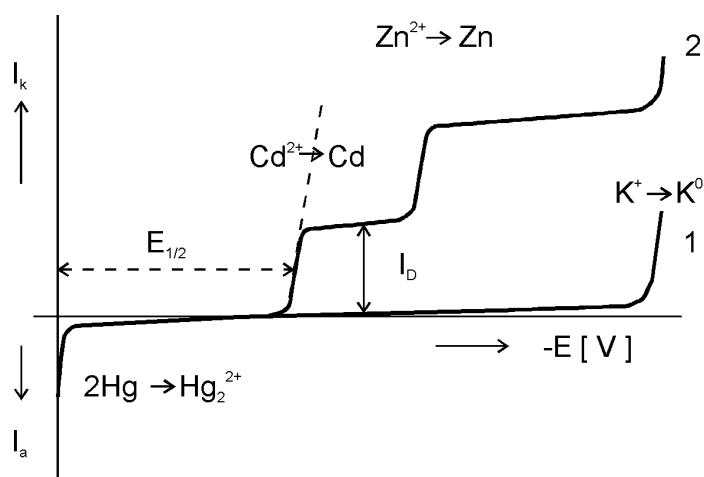
Když je dosaženo přibližně -1,8 V, měřený proud začne náhle prudce narůstat, protože na povrchu RKE se draselné ionty začnou redukovat na draslík, jenž se ve rtuti rozpouští na amalgám. Tím záznam křivky a analýza končí.

Za základ pro odvětvovaná napětí je obvyklé volit vhodnou referentní elektrodu a její potenciál konvenčně ztotožnit s nulou. Potenciál RKE se většinou vztahuje k potenciálu nasycené kalomelové elektrody (SKE).

Potenciál RKE se tedy rovná záporné hodnotě vloženého napětí.

Obsahuje-li polarografovaný roztok kromě základního elektrolytu ještě jiné kovové ionty - např. kadmennaté a zinečnaté, v koncentraci řádově 10^{-3} mol.l⁻¹, změní se průběh polarografického záznamu.

Když vložené napětí překročí cca $-0,5$ V, začne proud narůstat, protože na RKE se začnou redukovat Cd^{2+} ionty na Cd, které rovněž vytváří se rtuť amalgám. Kdyby však roztok obsahoval kademnaté ionty v koncentraci srovnatelné s koncentrací základního elektrolytu, proud by podobně jako v případě elektrolýzy K^+ u čistého nosného elektrolytu exponenciálně narůstal. Jsou-li však analyzované ionty minoritní složkou roztoku (obvyklá situace), pak všechny kademnaté ionty, které se difúzí dostanou k povrchu elektrody, ihned zreagují a koncentrace Cd^{2+} iontů na povrchu elektrody je nulová. Rychlost přísunu dalších kademnatých iontů k povrchu elektrody je dána rychlostí difúze. Z toho důvodu nemůže po dosažení určité limitní hodnoty proud přenášený kademnatými ionty i přes zvyšující se negativní potenciál RKE dále vzrůstat, dochází ke stabilizaci, která se na polarizační křivce projeví jako plato, rovnoběžné s počáteční částí křivky. Proud související s difúzí a následnou redukcí kademnatých iontů označujeme jako *limitní difúzní proud* I_D . Jeho velikost je přímo úměrná koncentraci stanovovaných iontů v roztoku za předpokladu, že základního elektrolytu je přebytek. Látka, která se na elektrodě vylučuje, se nazývá *depolarizátor*. Zvyšujeme-li plynule dále vložené napětí, pak při hodnotě napětí přibližně -1 V se začnou redukovat zinečnaté ionty obdobným způsobem, jako předtím kademnaté (obr. č. 8.2.).



Obr. č. 8.2.: Znázornění klasického polarografického záznamu

Při analýze směsi několika látek se získá křivka, složená z odpovídajícího počtu "vln". Výšky jednotlivých vln na proudové ose jsou úměrné koncentracím, neboť difúzní proud je aditivní. Poloha vln (jejich inflexní body) na potenciálové ose odpovídá tzv. *půlvlnovému potenciálu* příslušného iontu. Za daných podmínek v roztoku je konstantou, je tabelován a z jeho hodnoty lze určit, o jaký vylučovaný ion se jedná. Limitní difúzní proud je tedy kvantitativním analytickým údajem, půlvlnový potenciál kvalitativním údajem. Moderní polarografické analyzátory však zpravidla poskytují záznam ve formě derivace polarizační křivky. Tento záznam připomíná chromatogram, kde výška píku odpovídá limitnímu difúznímu proudu a poloha píku (jeho vrchol) odpovídá půlvlnovému potenciálu.

8.3.1. Nabíjecí (kapacitní) proud

I když základní elektrolyt neobsahuje žádný depolarizátor, ukazuje galvanometr po vložení napětí na elektrody náhlý vzrůst a následný pokles proudu. Perioda kolísání proudu je shodná s dobou života kapky na RKE. Jakmile totiž elektrodu polarizujeme, vytváří se na fázovém rozhraní rtuti a roztoku elektrická dvojrůstka jako důsledek elektrostatických jevů a adsorpce. V běžném uspořádání bývá např. tato dvojrůstka tvořena K^+ ionty, které obklopují rostoucí, záporně nabitou RKE, a Cl^- ionty. K tomu, aby na povrchu kapky vznikla dvojrůstka, je třeba dodat kapce při daném potenciálu určitý náboj. Povrch kapky však neustále roste, takže dochází k nepřetržitému proudu označovanému jako kapacitní či nabíjecí (I_N). Jeho velikost se pohybuje v rozmezí 10^{-8} – 10^{-7} A a omezuje použití klasické polarografie při koncentracích stanovovaných látek menších než 10^{-5} mol.l⁻¹.

Na počátku doby života kapky je kapacitní proud největší, s růstem kapky do roztoku jeho hodnota klesá. Nejnižší hodnota I_N je v okamžiku před odkápnutím kapky.

8.3.2. Difúzní proud

Za přítomnosti dostatečného nadbytku základního elektrolytu je přenos depolarizátoru k povrchu elektrody řízen pouze difúzí. Polarografická vlna představuje závislost difúzního proudu na potenciálu.

Difúzní proud je nejmenší na začátku doby života kapky, když je povrch kapky nejmenší. Maxima dosahuje difúzní proud na konci doby života kapky (obr. č. 8.3.). Matematické vyjádření difúzního proudu zformuloval Ilkovič s ohledem na odlišnosti RKE oproti tuhým elektrodám. Okamžitá hodnota difúzního proudu je dána vztahem

$$I_D = 0,734 n F m_h^{2/3} t^{1/6} D_{ox}^{1/2} \quad (1)$$

což je tzv. Ilkovičova rovnice pro okamžitý proud (n = počet vyměněných elektronů, F = Faradayova konstanta, m_h = hmotnostní průtok rtuti kapilárou, D_{ox} = difúzní koeficient oxidované složky, c_{ox} = látková koncentrace oxidované složky, t = čas).

Při běžném měření v polarografii se zaznamenává průměrný tzv. střední difúzní proud $\bar{I}_D$.

$$\bar{I}_D = \frac{1}{\tau} \int_0^{\tau} I_D dt = 0,629 n F m_h^{2/3} \tau^{1/6} D_{ox}^{1/2} c_{ox} \quad (2)$$

8.3.3. Půlvlnový potenciál

Heyrovský a Ilkovič popsali polarizační křivku (vlnu) na rtuťové kapkové elektrodě a pro půlvlnový potenciál odvodili vztah:

$$E_{1/2} = E^0 + 2,303 RT/(nF) \cdot \log \sqrt{(D_{Red} / D_{Ox})} \quad (3)$$

Půlvlnový potenciál se liší od příslušné hodnoty podmíněného oxidačně - redukčního potenciálu zpravidla málo, jelikož se difúzní koeficienty (D_{Red} , D_{Ox}) u většiny oxidačních forem příliš neliší. Půlvlnový potenciál nezávisí na koncentraci oxidované a redukované formy látky v roztoku.

8.3.4. Polarografická maxima

Na polarografických křivkách se mohou tvořit tzv. maxima. Projevují se v určitých oblastech potenciálů nárůstem proudu nad hodnotu danou Ilkovičovou rovnicí. Na křivkách se pak objevují různá špičatá či zaoblená maxima, která mohou komplikovat či zcela znemožnit správné vyhodnocení analýzy.

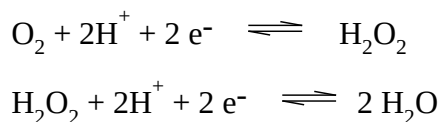
Maxima se nejčastěji vyskytují na křivkách zředěných roztoků (pod $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) s malým množstvím indiferentního elektrolytu. Ve zředěných elektrolytech je kapková elektroda při průchodu proudu nestejnoměrně polarizována a na jejím povrchu vzniká rozdíl potenciálů. Rozdíl potenciálů vyvolá rozdíl povrchového napětí.

V povrchu RKE vzniká proudění, které se přenáší i na roztok, jenž je v kontaktu s RKE. Tímto pohybem je kromě difúze dopravován depolarizátor k elektrodě, ustálenost difúze je porušena a proud nerovnoměrně vzrůstá.

Maxima lze potlačit zvýšením koncentrace základního elektrolytu, avšak nejefektivnější způsob je založen na přidavku povrchově aktivní látky do analyzovaného roztoku. K tomuto účelu se nejlépe osvědčila želatina (účinná již v koncentraci 0,005 %), agar, některá organická barviva či alkaloidy.

8.3.5. Vliv kyslíku na polarografický záznam

Ve všech běžných vodných roztocích vzorků a činidel je vždy rozpuštěn vzdušný kyslík. Jeho přítomnost způsobuje na polarografických křivkách dvě výrazné polarografické vlny (tzv. kyslíková maxima), které mohou snadno překrýt signály jiných minoritních složek vzorku. První vlna odpovídá redukci kyslíku na peroxid vodíku, druhá vlna redukci peroxidu vodíku na vodu.



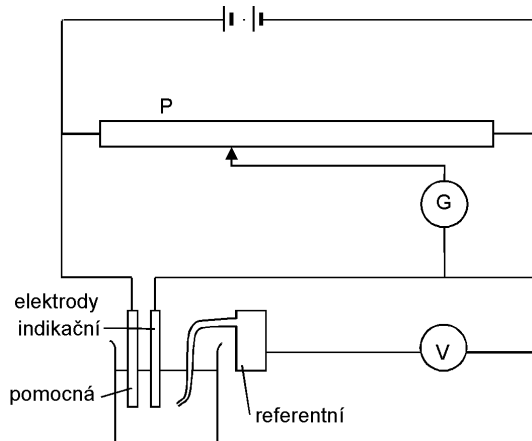
Rušivý vliv kyslíku lze odstranit vypuzením kyslíku z polarografovaného roztoku polarograficky indiferentním plynem - dusíkem či vodíkem. Během 5–20 minut probublávání dojde k odstranění kyslíku z roztoku. V alkalickém prostředí je možno kyslík odstranit přidavkem siřičitanu sodného, který se účinkem rozpuštěného kyslíku oxiduje na síran sodný.

8.4. Moderní polarografické metody

Během téměř 100 let své existence prošla polarografie značným vývojem. Velké nároky na reprodukovatelnost doby života kapky dovedly výrobce polarografických analyzátorů k opuštění starého systému kapilára - plastová hadička - rezervoár rtuti. Dnešní přístroje jsou vybaveny kapilárou, na jejíž horní konec těsně dosedá kovová jehlička, která se ve zvoleném rytmu na předem zvolenou dobu zdvihne a vypustí do kapiláry malé množství rtuti (odpovídající 1 kapce). Poté je přívod rtuti do kapiláry jehličkou těsně, avšak elektricky vodivě uzavřen. Na konci doby života kapky je bočním úderem klepátka na stěnu kapiláry sražena kapka do roztoku a zdvihem jehličky je nastavena kapka nová. Rytmus pohybů jehličky i klepátka je volitelný a je vždy přesně synchronizován, čímž je zaručena vysoká reprodukovatelnost doby života kapky nezbytná pro moderní polarografické techniky.

U soudobých přístrojů představuje právě popsané zařízení "nejrozměrnější" část polarografu. Veškeré elektrické, resp. elektronické části přístroje jsou miniaturizovány a umístěny na kartě, jež vložena do PC tvoří spolu s obslužným a vyhodnocovacím softwarem kompletní polarografický analyzátor.

Při přesných měřeních se stupňujícími se nároky na citlivost je nutno vyloučit jakoukoli možnost polarizace referentní elektrody. Proto se používá tříelektrodového systému (obr. č. 8.3.). Proud prochází indikační (RKE) a pomocnou elektrodou a měří se galvanometrem. Potenciál indikační elektrody se měří proti referentní elektrodě, která není zapojena v proudovém okruhu a není tedy proudově zatížena.



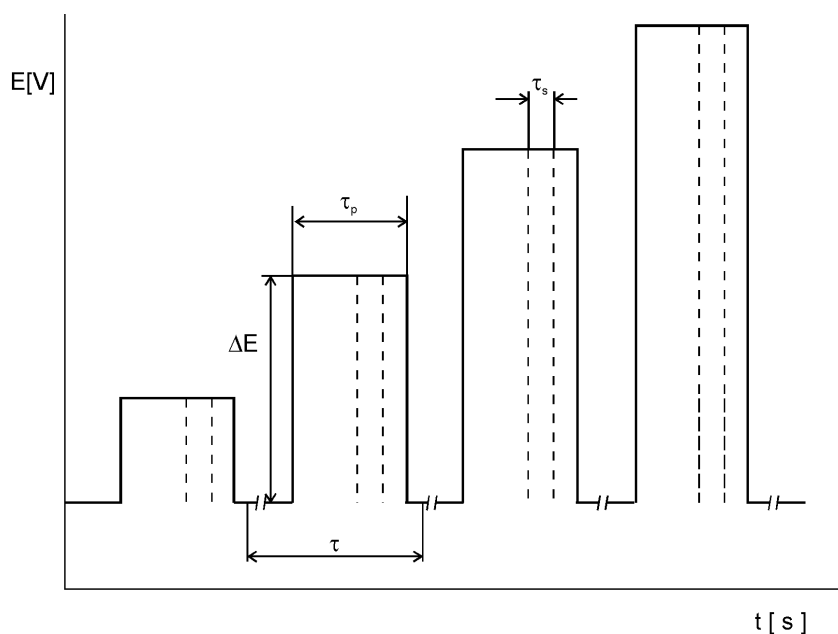
Obr. č. 8.3.: Zapojení při polarografickém měření s tříelektrodovým uspořádáním

8.4.1. Polarografie "tast"

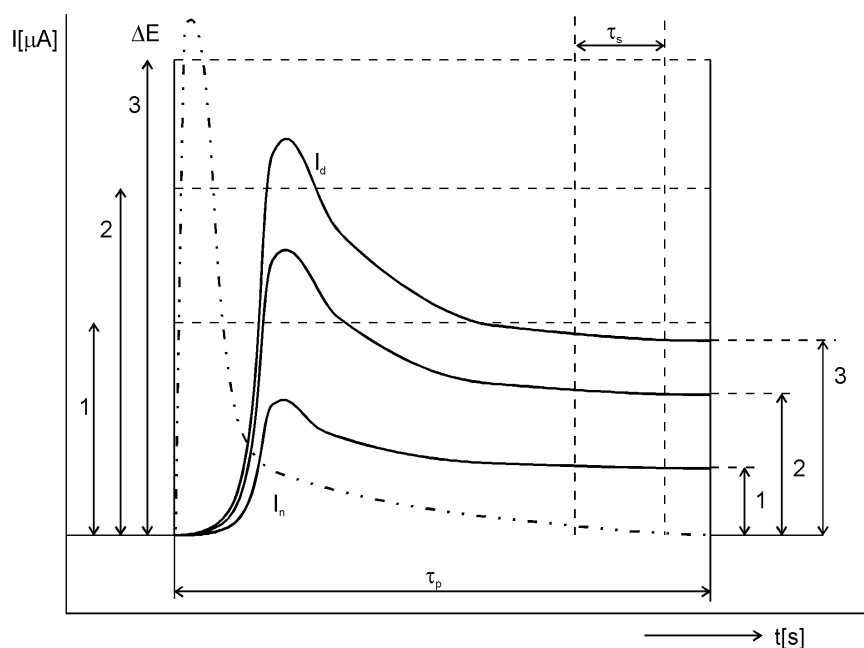
Jak bylo uvedeno dříve, nabíjecí (kapacitní) proud RKE limituje citlivost polarografického stanovení a již první snahy o vylepšení klasické polarografie byly zaměřeny právě na řešení problémů spojených s kapacitním proudem. Vzhledem k tomu, že během doby života kapky kapacitní proud klesá a difúzní proud roste tak, že na konci doby života kapky dosahují oba proudy téměř konstantních hodnot, nabízí se možnost měřit proud během krátkého intervalu před odkápnutím kapky. Tím se docílí zvýšení meze stanovitelnosti polarografické analýzy. Tato technika se nazývá polarografie "tast".

8.4.2. Normální pulzní polarografie (NPP)

Při této technice se na konci doby života kapky τ vkládá v intervalu τ_p (asi 50 ms) na RKE pravoúhlý napěťový pulz, jehož amplituda ΔE s časem lineárně narůstá (obr. č. 8.4.). Před koncem pulzu, po odeznění kapacitního proudu I_N se v intervalu τ_s měří difúzní proud (obr. č. 8.5.). Předností této techniky je, že zařazením napěťového pulzu na konec τ nabíjecí proud nemůže dosáhnout obvyklých (vyšších) hodnot a rychleji klesá. Měření difúzního proudu tak probíhá za podstatně výhodnějších podmínek.



Obr. č. 8.4.: Normální pulzní polarografie: závislost vkládaného napětí na čase



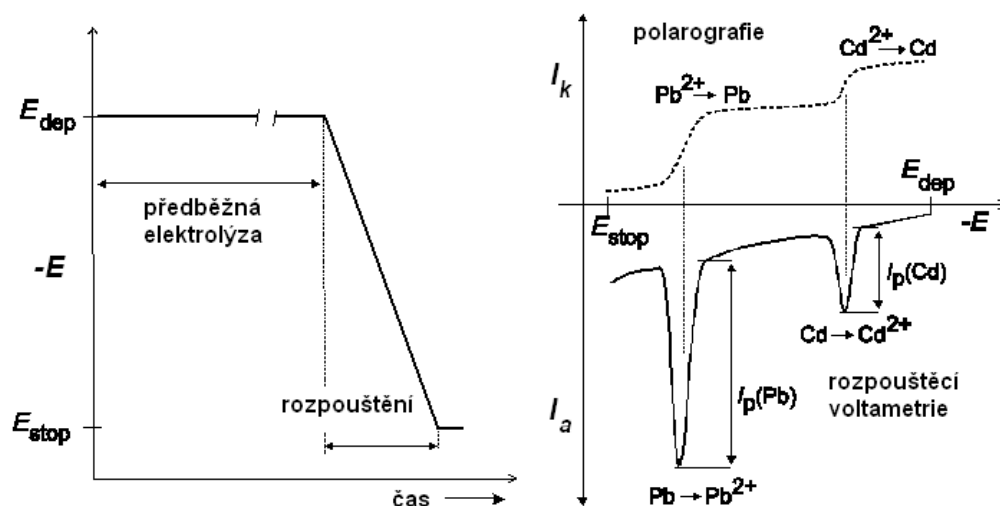
Obr. č. 8.5.: Normální pulzní polarografie: průběh faradayického proudu

8.4.3. Diferenční pulzní polarografie (DPP)

V diferenční pulzní polarografii je RKE kontinuálně polarizována lineárně rostoucím napětím, tak jako v klasické polarografii. Na toto narůstající napětí se však v okamžiku konce doby života kapky superponuje pravoúhlý napěťový pulz o amplitudě řádově 10^{-4} V. Proud se měří dvakrát. Těsně před vložením pulzu a těsně před odezněním pulzu (a tedy rovněž těsně před odkápnutím kapky). Diference mezi oběma změřenými hodnotami představuje téměř "čistou" hodnotu difúzního proudu. DPP je v současnosti jednou z nejdokonalejších polarografických technik a většina moderních přístrojů využívá nejčastěji tento pracovní režim. Pulzními technikami byla mez stanovitelnosti analytů snížena na koncentrace řádově 10^{-8} mol.l⁻¹.

8.4.4. Rozpouštěcí voltametrie

Ještě nižších mezí stanovitelnosti oproti DPP je možno dosáhnout předběžným nahromaděním analytu elektrolýzou za konstantního potenciálu na visící rtuťové kapkové elektrodě. Po zakoncentrování látky (kovu) v rtuťové kapce (doba elektrolýzy - desítky až stovky sekund) se elektroda polarizuje ke kladným hodnotám potenciálu. Zakoncentrovaný kov se z amalgámu či povrchu elektrody anodicky oxiduje a rozpouští se. Proud se při rozpouštění obvykle sleduje pulzními polarografickými metodami. Metoda se označuje někdy též jako "stripping" voltametrie a meze stanovitelnosti se zde pohybují v rozmezí 10^{-11} – 10^{-12} mol.l⁻¹. Jde o nejcitlivější elektroanalytickou metodu. Srovnání tradiční polarografie a rozpouštěcí voltametrie znázorňuje obr. č. 8.6. V levé části obrázku je uveden potenciálový program pro rozpouštěcí voltametrii, v pravé části proudové odezvy pro polarografii a rozpouštěcí voltametrii.



Obr. č. 8.6.: Potenciálový program (vlevo) a proudové odezvy v rozpouštěcí voltametrii. Signál (vpravo) je zde uveden vedle signálu pro tradiční polarografii

V současné době je se stále větší oblibou využívána rovněž tzv. adsorpční rozpouštěcí voltametrie. Analyt se v tomto případě zakoncentrovává na povrchu elektrody při určitém potenciálu adsorpcí. Pokud jsou naadsorbované látky elektrochemicky aktivní, lze je po jejich nakoncentrování stanovit na základě výšky píku při jejich redukci či oxidaci. Největší význam má tento způsob zakoncentrovávání pro stanovení stopových množství rozličných organických látek (například derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků). Lze ho však použít i pro stanovení iontů kovů, zejména těch, které nelze akumulovat elektrolyticky. Ionty kovů se zde před vlastním stanovením převádějí do vhodných komplexů s organickými ligandy. Jako příklad lze uvést stanovení niklu po navázání do komplexu s diacetylglyoximem nebo stanovení Al a Be, jež nelze stanovit tradičními polarografickými technikami přímo, po jejich převedení do komplexu s alizarinovou violetí či beryllonem.

8.5. Praktická polarografie

Polarografie je v praxi používána ke stanovení anorganických i organických látek. Velmi dobře lze polarograficky stanovit Cu, Zn, Cd, Hg, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Mn, Fe, Co, Ni. Prvky 5. a 6. skupiny se vyskytují v různých oxidačních stupních, z nichž některé lze využít ke stanovení (Sb, Bi, Cr, U).

Kovy ušlechtilější než rtuť (Ag, Au, Pt, Pd) se na RKE vylučují i bez vloženého napětí a difúzní proud lze využít ke stanovení. Stanovovat je možno též některé anionty. Redukovat lze na RKE např. chlornany, bromičnany, jodičnany, seleničitany, dusičnany, dusitany. Redukční vlny poskytuje též rozpuštěný kyslík, peroxidy, oxid siřičitý, dusnatý a dusičitý.

Polarografie je vhodná zejména při studiu elektrochemických dějů či objasňování kinetiky redoxních reakcí.

Z organických látek jsou stanovitelné např. aldehydy, ketony, chinony, nitro- a nitrososloučeniny, uhlovodíky s konjugovanými systémy dvojných vazeb.

Významně konkuruje polarografie spektrálními analytickými metodám v těch případech, kdy je nutno identifikovat a stanovit formy (komplexně) vázaných kovů. Velmi vhodná je též ke stanovení nečistot v kovech a slitinách, čistých chemikáliích, v chemii životního prostředí, v medicíně, potravinářství či geologii.

8.5.1. Kvalitativní a kvantitativní analýza

Jak již bylo zmíněno dříve, hodnota půlvolného potenciálu je kvalitativním údajem o látce za předpokladu, že stanovení bylo provedeno za podmínek shodných s literárními údaji.

Z Ilkovičovy rovnice vyplývá, že za konstantních parametrů RKE je výška polarografické vlny přímo úměrná koncentraci stanovovaného depolarizátoru.

Při kvantitativním vyhodnocování lze postupovat metodou kalibrační křivky či metodou standardního přídávku.

8.5.1.1. Metoda kalibrační křivky

Volí se obvykle pro sériové analýzy. Do kalibračního grafu se vynášejí výšky vln pro vhodně volenou řadu roztoků se vzrůstající koncentrací depolarizátoru. Při analýzách vzorků je pak nutno dodržet stejné podmínky, za jakých byla analyzována kalibrační řada.

8.5.1.2. Metoda standardního přídavku

Následující postup lze využít nejen v polarografii, ale též v jiných instrumentálních technikách, kde intenzita signálu detektoru je úměrná koncentraci stanovované látky ve vzorku.

Metoda se provádí dvěma poněkud odlišnými způsoby:

1. Postup se dvěma roztoky

Do dvou odměrných baněk o stejném objemu pipetujeme stejné množství vzorku (V_0). Do první odměrné baňky však pipetujeme ještě zvolené množství standardního roztoku stanovované látky (V_s) o známé koncentraci (c_s). Do obou odměrných baněk pak přidáme činidla potřebná pro správný průběh analýzy (tlumivý roztok, želatinu atd.) a baňky doplníme po rysku. Po provedení analýzy obou roztoků získáme polarografické vlny o výšce h_0 (vzorek bez přídavku) a h_1 (vzorek s přídavkem standardu). Lze odvodit, že koncentrace stanovované látky ve vzorku bude:

$$c_0 = h_0 / (h_1 - h_0) \cdot (V_s / V_0) \cdot c_s \quad (4)$$

Tento postup je sice pracnější, avšak poskytuje velmi přesné výsledky.

2. Postup s jedním roztokem

Do polarografické nádoby pipetujeme vzorek (V_0). Přidáme příslušná činidla a provedeme analýzu. Získáme polarografickou vlnu o výšce h_0 . Po ukončení analýzy přidáme do roztoku standardní roztok (V_s) o známé koncentraci (c_s) a analýzu takto obohaceného roztoku opakujeme. Získáme vlnu o výšce h_1 . Koncentrace stanovované látky bude v tomto případě:

$$c_0 = c_s h_0 V_s / (h_1 (V_0 + V_s) - h_0 V_0) \quad (5)$$

Postup je náročný na přesné odměřování objemů. Při druhém měření se mírně mění složení polarografovaného roztoku. Tato metoda je poněkud méně přesná, avšak pro řadu úkolů zcela vyhovuje.

9. Voltametrie

Voltametrie, podobně jako její varianta polarografie, je analytická metoda založena na měření polarizačních křivek. Sleduje se zde tedy závislost proudu procházejícího pracovní elektrodou ponořenou v analyzovaném roztoku na potenciálu, který se na tuto elektrodu vkládá z vnějšího zdroje. Při voltametrické analýze se používají rozličné pracovní elektrody zhotovené z různých materiálů, obvykle jde o elektrody platinové, zlaté, uhlíkové nebo visící rtuťové. Běžným typem elektrod jsou rotující diskové elektrody. Při voltametrické analýze se elektroda zpravidla polarizuje v obou směrech (od kladnějších k záporným potenciálům a naopak) z důvodu hystereze měření. Depolarizátor se k povrchu rotující diskové elektrody dostává konvektivně difúzním transportem. Pro konvektivně difúzní limitní proud platí Levičova rovnice ve tvaru:

$$I_l = k' \cdot z \cdot F \cdot \pi \cdot r^2 \cdot D^{2/3} \cdot \nu^{-1/6} \cdot \omega^{1/2} \cdot c = k \cdot c$$

I_l - konvektivně difúzní limitní proud, k' - numerická konstanta, z - počet vyměňovaných elektronů, F - Faradayova konstanta, r - poloměr diskové elektrody, D - difúzní koeficient, ν - kinematická viskozita roztoku, ω - úhlová rychlost otáčení elektrody, c - koncentrace depolarizátoru, k - numerická konstanta

Z Levičovy rovnice vyplývá, že limitní proud pro rotující diskovou elektrodu je přímo úměrný koncentraci analytu a při konstantní koncentraci analytu roste lineárně s druhou odmocninou rychlosti rotace elektrody. Levičova rovnice je základem analytického využití rotujících diskových elektrod, podobně jako Ilkovičova rovnice je základem využití rtuťové kapkové elektrody.

9.1. Voltametrické elektrody

9.1.1. Visící rtuťové elektrody

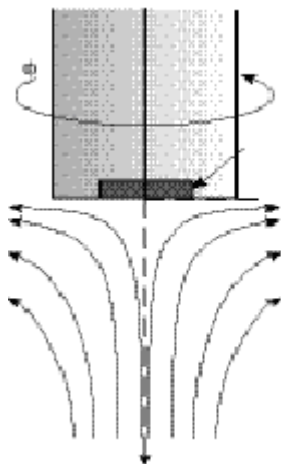
Visící rtuťové elektrody jsou speciální variantou rtuťových elektrod, u nichž lze celou analýzu provést na jedné rtuťové kapce. Při jejich použití je možné pracovat v míchaném roztoku. Platí zde samozřejmě omezení, že rtuť lze v běžných pracovních elektrolytech polarizovat pouze v oblasti záporných potenciálů (proti nasycené kalomelové elektrodě).

9.1.2. Plíškové a drátkové elektrody

V praxi se příležitostně používají rotující nebo vibrující drátkové elektrody zhotovené z platiny nebo ze zlata. Pro takovéto elektrody je typická malá reprodukovatelnost naměřených dat. Z tohoto důvodu se užívají obvykle pouze při amperometrických titracích.

9.1.3. Rotující disková elektroda

Rotující disková elektroda (obr. č. 9.1) je nejobvyklejší verzí voltametrické pracovní elektrody. Její použití při analýze umožňuje dosáhnout vysoké reprodukovatelnosti měření. Materiálem elektrody je většinou platinový nebo zlatý disk o průměru 1 až 10 mm zabudovaný na konci teflonového válce. Často se rovněž používá disk zhotovený ze skelného uhlíku.



Obr. č. 9.1.: Rotující disková elektroda

9.1.4. Rotující disková elektroda s prstencem

Disková elektroda s prstencem je modifikací prosté rotující diskové elektrody. Okolo vlastního elektrodového disku je umístěn prstenec pracující při odlišném potenciálu ve srovnání s diskem. Na prstenci lze například elektrolyticky generovat sloučeninu, která se následně detekuje na pracovní elektrodě (disku).

9.1.5. Uhlíkové pastové elektrody

Práškový uhlík rozptýlený v hydrofobní kapalině vytváří elektricky vodivou pastu, která je umístěna v dutině těla elektrody a je opatřena přívodem. Konstrukce elektrody umožňuje obnovování čistého povrchu elektrody seříznutím části pastové elektrody, což je velmi výhodné ve srovnání se skelným uhlíkem používaným u klasických rotujících diskových elektrod, neboť skelný uhlík se obtížně čistí. Do jisté míry zde však hrozí vymývání pastového materiálu z těla elektrody.

9.2. Využitelné potenciálové rozsahy pracovních elektrod

Výhodou rtuťové pracovní elektrody je možnost polarizovat ji v závislosti na složení roztoku od +0,4 V do -2,6 V proti nasycené kalomelové elektrodě. V oblasti nad +0,4 V nastává

anodické rozpouštění rtuti, pod $-2,6$ V dochází k rozkladu pracovního elektrolytu. Platinové pracovní elektrody mohou být naopak v kyselém prostředí polarizovány až k $+1,5$ V. Katodické vylučování vodíku zde však nastává již při velmi malém negativním potenciálu (kolem $0,0$ V). S rostoucím pH pracovního elektrolytu se ale oblast jejich použitelnosti posouvá k negativnějším potenciálům. V roztoku hydroxidu činí tento posun $0,5$ až $0,7$ V. Zlaté pracovní elektrody lze polarizovat v obdobném intervalu potenciálů jako elektrody platinové. Využitelný potenciálový rozsah uhlíkových elektrod do jisté míry překrývá oblast použitelnosti Hg a Pt elektrod, nedosahuje však příliš negativních ani příliš pozitivních hodnot. V neutrálním roztoku lze například skelný uhlík polarizovat od $-0,75$ V do $+1,0$ V.

9.3. Amperometrie

Amperometrie je elektrochemická metoda, při níž je analyt stanoven z velikosti proudu procházejícího pracovní elektrodou při konstantním (na čase nezávislém) potenciálu. Konstantní potenciál je volen tak, aby elektrodou procházel limitní proud analytu. Vzhledem k tomu, že jde o speciální případ voltametrie, lze k amperometrické analýze použít stejnou instrumentaci jako k analýze voltametrické.

9.3.1. Amperometrické detektory v proudu kapaliny

Amperometrie se často používá při separačních metodách pro detekci látek v toku kapaliny. Amperometrické nádoby speciální konstrukce zde slouží jako detektory na výstupu z HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) nebo CZE (kapilární zónová elektroforéza) kolony. Základním požadavkem kladeným na takovéto detektory je malý vnitřní objem. Běžné typy amperometrických detektorů využívají konstrukce tenkovrstvých (thin-layer), tryska proti stěně (wall-jet) nebo tubulárních (tubular) cel.

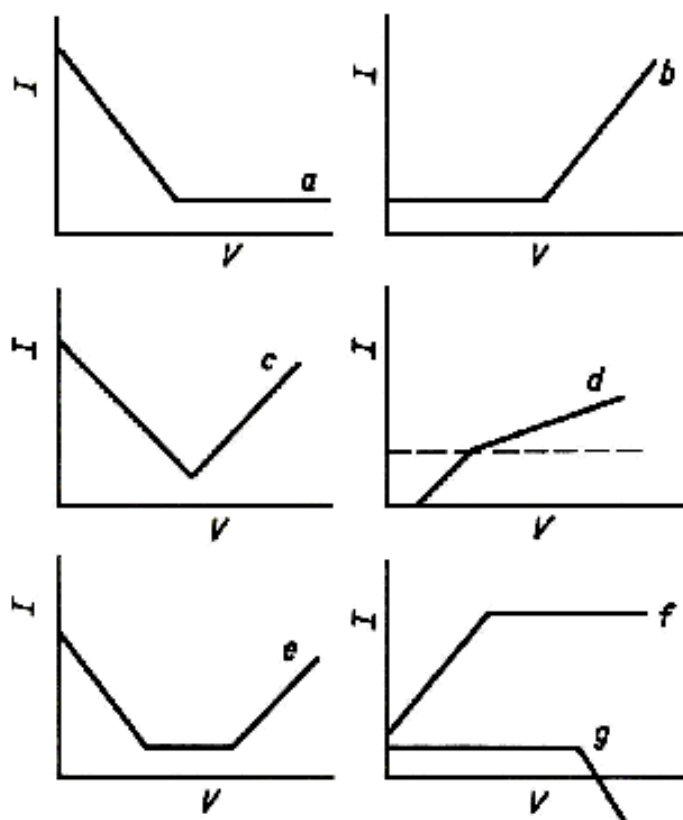
9.3.2. Amperometrické membránové senzory

Typickým příkladem amperometrického detektoru pro stanovení plyných látek v plynné i kapalně fázi je Clarkův senzor (viz kapitola 20.2.1.1.4.). Elektrody jsou v tomto případě od analyzovaného prostředí odděleny permeabilní polymerní membránou. Pouze plyné molekuly procházejí z analyzovaného prostředí k pracovní elektrodě. Plyn lze takto stanovit i ve vzorcích se složitou maticí (kyslík v krvi). Stanovovaný kyslík je na platinové katodě redukován za vzniku vody. Stříbrná anoda v prostředí KCl slouží jako referentní argentchloridová elektroda.

9.3.3. Amperometrické titrace

Princip amperometrických titrací je jednoduchý: na pracovní elektrodu je vložen konstantní potenciál, při kterém elektrodou protéká limitní proud analytu nebo titračního činidla podle toho, která z těchto látek má v daném případě příznivější elektrochemické chování. V průběhu titrace koncentrace analytu klesá, a tím klesá i jeho limitní proud, popřípadě po dosažení bodu ekvivalence roste limitní proud titračního činidla přidávaného v nadbytku. Využitelná je

i kombinace obou možností, pokud obě látky (analyt i odměrné činidlo) jsou při použitém potenciálu elektrochemicky aktivní. Amperometrické indikace bodu ekvivalence lze využít při srážecích, komplexotvorných nebo při redoxních titracích. Příklady amperometrických titračních křivek jsou uvedeny na obr. č. 9.2.

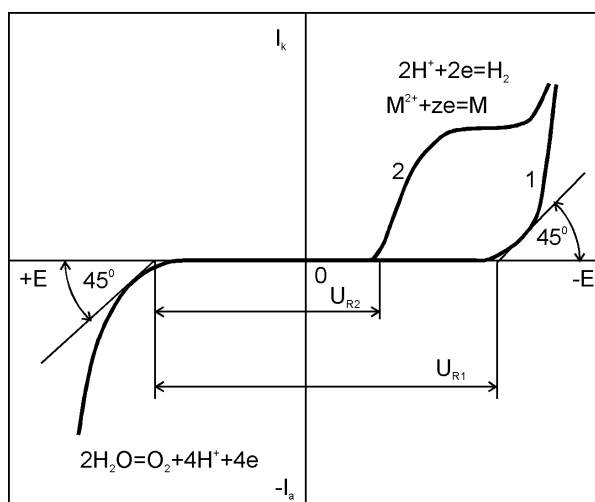


Obr. č. 9.2.: Příklady amperometrických titračních křivek. a - elektrochemicky redukovatelná látka je titrována látkou elektrochemicky neredukovatelnou, b - elektrochemicky neredukovatelná látka je titrována elektrochemicky redukovatelnou látkou, c - stanovovaná látka i činidlo jsou elektrodově aktivní a poskytují katodický proud, d - stanovovaná látka poskytuje anodický proud, činidlo proud katodický, e - titrace olovnaté a barnaté soli roztokem chromanu, f - titrace arseničnanu jodidem, g - titrace neredukovatelného iontu roztokem EDTA

10. Elektrogravimetrie a coulometrie

10.1. Elektrolýza

Ponoříme-li do roztoku elektrolytu dvě elektrody z inertního kovu a zvyšujeme-li vložené napětí, pak po překročení určité hodnoty nastane trvalý rozklad elektrolytu. Na katodě se zpravidla redukuje kation na kov, na anodě dochází k oxidaci vody na kyslík (obr. č. 10.1.).



Obr. č. 10.1.: Polarizační křivky při elektrolýze

1 - základní elektrolyt, 2 - průběh v přítomnosti kovového iontu, $U_{r,1}$ a $U_{r,2}$ - rozkladná napětí

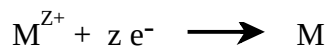
Rozkladné napětí elektrolytu (úseky U_r na potenciálové ose) je dáno rovnicí:

$$U_r = E_a + \eta_a - (E_k + \eta_k) + I_z \cdot R \quad (1)$$

kde E_a a E_k jsou rovnovážné potenciály elektrod, η_a a η_k přepětí těchto elektrod, I_z je tzv. zbytkový proud, R je odpor elektrolytu mezi elektrodami.

10.1.1. Reakce na elektrodách za konstantního proudu

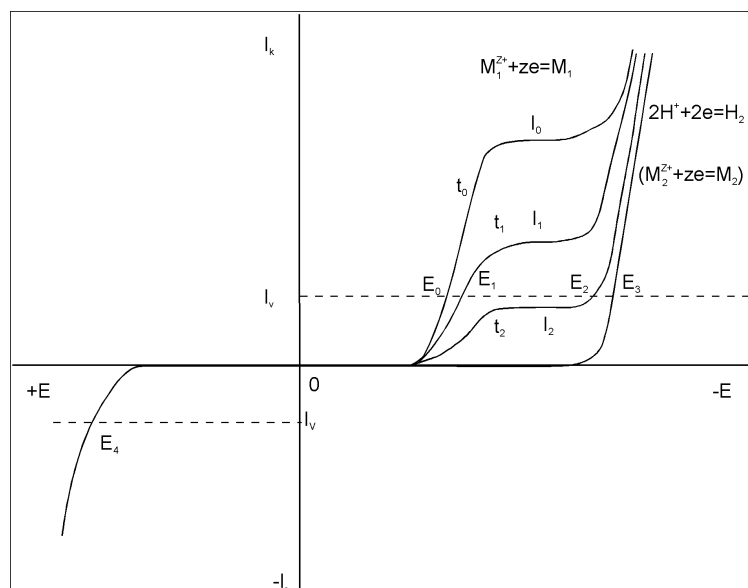
Předpokládejme, že v roztoku elektrolytu je kovový kation M^{Z+} , který se na katodě redukuje:



Tak jak se v průběhu elektrolýzy zmenšuje koncentrace M^{Z+} , klesá současně i limitní proud podle rovnice:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-kt}, \quad (2)$$

kde I_t je proud v čase t , I_0 je limitní proud na počátku elektrolýzy, k je koeficient přenosu hmoty. Při elektrolýze za konstantního proudu se udržuje procházející proud na stejné a nízké hodnotě I_v .



Obr. č. 10.2.: Polarizační křivky při elektrolýze za konstantního proudu v souvislosti s časem. Třem časovým momentům (t_0 , t_1 a t_2 odpovídají limitní proudy I_0 , I_1 a I_2 a potenciály katody E_0 , E_1 a E_2). Proud je konstantní (I_v). E_4 je potenciál anody, E_3 potenciál katody v základním elektrolytu (bez kovového iontu).

Potenciál pracovní elektrody není konstantní a posouvá se z počáteční hodnoty E_0 k zápornějším hodnotám. Jakmile limitní proud klesne pod hodnotu zvoleného konstantního proudu I_v , zvýší se potenciál pracovní elektrody na hodnotu, při níž začne probíhat redukce dalšího kationtu, resp. dojde k rozkladu základního elektrolytu. Nevýhodou této elektrolytické techniky je riziko, že v případě, bude-li v roztoku další redukovatelný kov, může na konci vylučování prvního kovu dojít souběžně k vylučování kovu druhého. Výhodné je vázat druhý kov do stabilního komplexu, ze kterého je redukovatelný až při zápornějším potenciálu než ion vodíkový.

Elektrolýza pak končí vylučováním vodíku (z vody, v níž je roztok nosného elektrolytu) a k vylučování druhého kovu ve vodném prostředí nemůže dojít.

Obvykle se za kvantitativní považuje vyloučení 99,9 % kovu, kdy koncentrace M^{Z+} klesne na tisícinu původní koncentrace (c).

Pro potenciál pracovní elektrody platí:

$$E_M = E_{M^{Z+},M}^0 + 2,303 \frac{RT}{zF} \cdot \log c \cdot 10^{-3} \quad (3)$$

Vývoj vodíku nastává při potenciálu:

$$E_H = 2,303 RT/F \cdot \text{pH} + \eta_H \quad (4)$$

kde η_H je přepětí vodíku. Vývoj vodíku elektrolýzu neruší, jestliže $E_H < E_M$.

10.1.2. Reakce na elektrodách za konstantního potenciálu

Současné vylučování dvou kovů nehrozí, pracujeme-li při elektrolýze v potenciostatickém zapojení. Volí se taková hodnota E_k , aby koncentrace vylučovaného kovu M_1 byla na konci elektrolýzy dostatečně malá ve srovnání s původní koncentrací a aby nedocházelo k vylučování doprovodných kovů. Vyloučí-li se kov z 99,9 %, má potenciál elektrody hodnotu $E_{k,1}$ vypočtenou z rovnice (3). V praxi se elektrolýza ukončuje, když proud klesne pod hodnotu $I_0 \cdot 10^{-3}$.

10.2. Elektrogravimetrie

Oba popsané elektrolytické režimy se využívají při elektrogravimetrii. Do kádinky se vzorkem se umístí platinové pracovní elektrody (většinou ve formě sítě či spirály), kádinka se ponoří do temperované lázně. Starší amperostatické přístroje jsou dnes nahrazovány elektrolýzéry vybavenými potenciostaty, neboť použití operačních zesilovačů odstranilo dřívější potíže s udržováním konstantního potenciálu pracovní elektrody na zvolené hodnotě. Elektrolýza probíhá po dobu 20–30 minut, elektroda s vyloučeným produktem se po opláchnutí suší při 105 °C a váží.

Metoda poskytuje vysoce přesné a precizní výsledky, neboť vlastní chyba metody bývá menší než chyba vážení a činí tedy obvykle méně než 0,1 % rel. Elektrogravimetrie se používá ke stanovení řady kovů, zejména při rozbořech technických slitin, galvanických lázní, ocelí, legovacích směsí apod.

10.3. Coulomerie

Coulometrické stanovení spočívá v měření náboje, který je nutný k úplné chemické přeměně stanovované látky. Vztahu mezi hmotností vyloučené látky a odpovídajícím nábojem zjištěným coulometricky bývalo již dříve využíváno ve fyzice, např. při cejchování ampérmetrů. K analytickému využití stanovení množství látky nebo její koncentrace v roztoku změřením prošlého náboje při elektrochemické reakci došlo až koncem třicátých let 20. století.

Coulometrická analýza se podle pracovního způsobu dělí na coulometrii za konstantního potenciálu (potenciostatická coulometrie) a coulometrii za konstantního proudu (amperostatická coulometrie), která se obvykle nazývá coulometrická titrace.

Při potenciostatické coulometrii se při stanovení udržuje potenciál pracovní elektrody na stálé hodnotě, takže intenzita proudu postupně klesá tak, jak ubývá stanovovaná látka v roztoku. Analýza se ukončí, když proud klesne téměř na nulu. Množství stanovované látky se vypočte z údaje coulometru.

Při amperostatické coulometrii se látka stanoví elektrolýzou konstantním proudem, přičemž konec titrace a tím i potřebná doba elektrolýzy se určí vhodným indikátorem.

Podle Faradayových zákonů je hmotnost m látky vyloučené na elektrodě úměrná elektrickému náboji, který prošel článkem. K redukci nebo oxidaci jednoho molu chemických ekvivalentů se spotřebuje náboj odpovídající Faradayově konstantě F ($96484,56 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Potom:

$$m = (Q \cdot M) / (z \cdot F) \quad (5)$$

kde M je molární hmotnost látky, z je počet vyměněných elektronů při elektrodové reakci.

Elektrodová reakce musí probíhat se 100% proudovým výtěžkem, čehož dosáhneme úpravou pracovních podmínek. Rušivý vliv látky, která vzniká na pomocné elektrodě, odstraňujeme oddělením anodového prostoru průlinčitou diafragmou (např. fritou), která omezuje difúzi elektrolytu mezi oběma poločládky.

11. Konduktometrické metody

Konduktometrické metody patří mezi elektroanalytické techniky využívající specifických vlastností celého chemického systému mezi elektrodami, tedy nikoli pouze diskretních jevů na rozhraní mezi elektrodou a roztokem.

Konduktometrická (vodivostní) měření se uplatňují tam, kde stanovovaná složka může významně ovlivňovat elektrickou vodivost roztoků.

Použití konduktometrie souvisí s teorií přenosu elektrického proudu v roztocích, který je mezi elektrodami přenášen migrací přítomných iontů. Elektrická vodivost je aditivní veličina, jež je ovlivněna koncentrací, elektrickým nábojem a pohyblivostí příslušných iontů. Základní veličiny používané v konduktometrii viz úvod kapitoly Elektromigrační metody.

Elektrický odpor vodiče první třídy (kovu) i druhé třídy (roztoku elektrolytu) je přímo úměrný jeho délce l a nepřímo úměrný jeho průřezu S .

$$R = \rho l / S \quad (1)$$

kde ρ je měrný odpor vodiče. Převrácená hodnota odporu je vodivost $G=1/R$. Jednotkou vodivosti je siemens ($S = \Omega^{-1}$). Vodivost roztoku elektrolytu je dána jeho měrnou vodivostí (konduktivitou) κ [$S \cdot m^{-1}$]. Podobně jako vodivost je převrácenou hodnotou odporu, je měrná vodivost převrácenou hodnotou měrného odporu $\kappa = 1/\rho$.

Úpravou rovnice (1) dostaneme:

$$1/R = S / (\rho \cdot l) \quad (2)$$

tedy

$$G = \kappa S / l \quad (3)$$

odtud

$$\kappa = G l / S \quad (4)$$

Při měření měrné vodivosti roztoku je díky konstrukci měrné cely plocha a vzdálenost elektrod konstantní. Poměr l / S lze tedy shrnout do tzv. odporové konstanty nádoby k [m^{-1} či cm^{-1}].

Pak

$$\kappa = G \cdot k \quad (5)$$

Měrná vodivost je aditivní veličina, takže pro měrnou vodivost směsi elektrolytů platí:

$$\kappa = \sum_{j=1}^n \kappa_j \quad (6)$$

Velký vliv na vodivost má viskozita a relativní permitivita rozpouštědla. Jelikož viskozita úzce souvisí s teplotou roztoku, souvisí též hodnota měrné vodivosti s teplotou. Pro vodné roztoky přibližně platí, že zvýšení teploty o 1 °C vede ke zvýšení vodivosti roztoku asi o 2 %.

Vodíkové a hydroxidové ionty mají velmi vysoké hodnoty molární vodivosti. Jejich vysokou pohyblivost lze vysvětlit přenosem protonu na sousední molekulu vody či ion OH^- . Vodíkový či hydroxidový ion vzniká s velkou rychlostí na konci řetězce molekul vody, které jsou navzájem náhodně poutány vodíkovými můstky.

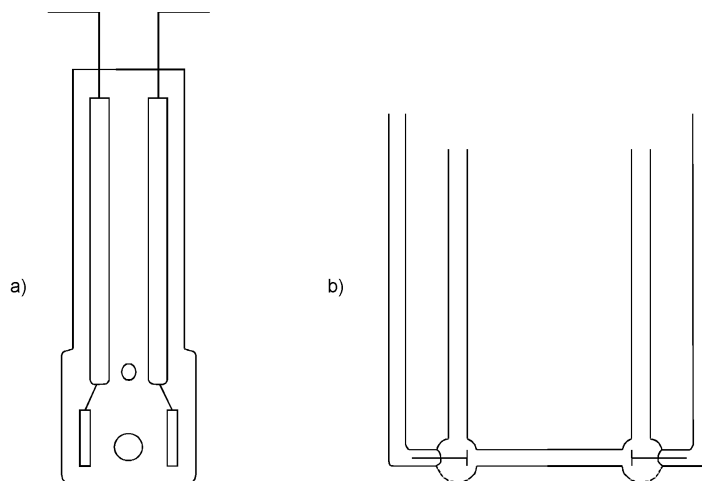
11.1. Měření vodivosti roztoků

Na elektrody vodivostní nádoby ponořené do roztoku elektrolytu s odporem R_x (obr. č. 11.1.) se z oscilátoru vkládá konstantní střídavé napětí U_1 (obvykle 0,2 V). Napětí se dělí mezi odpor vodivostní nádoby R_x a zatěžovací odpor R_z . Jeho poměrná část U_2 na odporu R_z je přímo úměrná vodivosti roztoku G , jelikož:

$$R_z/R_x = U_2 / (U_1 - U_2) \quad (7)$$

$$G = U_2 / (R_z(U_1 - U_2)) \quad (8)$$

Změnou zatěžovacího odporu R_z se mění citlivost přístroje, která je u konduktometrie značná. Změnou lze přepínat citlivost přístroje pro rozmezí 0–1,5 S či 0–1500 mS.



Obr. č. 11.1.: Vodivostní nádoby:

a) pro konduktometrické titrace

b) pro fyzikálně-chemická měření

Vodivostní nádoby bývají nejrůznější konstrukce dle účelu, k němuž jsou určeny. Nejběžnější typ je uveden na obr. č. 11.1. Do skleněné, dole nálevkovitě rozšířené trubice jsou

vtaveny či vlepeny elektrody. Plocha elektrod i jejich vzájemná vzdálenost jsou tím pevně dány. V praxi se obvykle nezjišťuje plocha a vzdálenost elektrod, nýbrž odporová konstanta nádoby k změřením vodivosti standardního roztoku KCl (při 20 °C je $\kappa(\text{KCl}, c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}) = 0,1278 \text{ S.m}^{-1}$). Měrná cela s elektrodami se do měrného roztoku přímo ponořuje, přičemž otvory v rozšířené části cely unikne vzduch a elektrody jsou zcela zaplaveny roztokem.

Pokud při měření nedosáhne hodnota napětí hodnoty rozkladného napětí, projevuje se vedle měrného odporu elektrolytu i vliv kapacity elektrických dvojvrstev, které se tvoří u povrchu elektrod. Tento negativní jev se potlačuje jednak zvýšením frekvence střídavého napětí (několik kHz) a zvětšením účinné plochy elektrod jejich pokrytím platinovou černí. U málo vodivých roztoků ($\kappa < 1.10^{-5} \text{ S.cm}^{-1}$) je naopak vhodnější používat lesklé platinové elektrody a měřicí frekvenci relativně nízkou (50 Hz).

Jak již bylo uvedeno, měrná vodivost souvisí úzce s teplotou roztoku. Pro přesná měření je nezbytné pracovat při konstantní a přesně definované teplotě, např. v termostatované nádobce. Teplota roztoku by neměla kolísat více než o $\pm 0,25 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Pak chyba měření vyvolaná teplotní diferencí nepřesáhne zpravidla $\pm 0,5 \text{ } \%$.

Moderní přístroje jsou někdy vybaveny čidlem pro měření teploty a provádějí při měření automatickou korekci naměřené hodnoty. Tato podmínka musí být splněna zejména při tzv. přímé konduktometrii, kdy měříme absolutní hodnotu elektrické vodivosti. Při konduktometrické titraci, kdy měříme relativní změnu vodivosti, se někdy bez termostatování můžeme obejít.

11.2. Praktická konduktometrie

Přímou konduktometrií se stanovují koncentrace elektrolytů pouze v jednoduchých roztocích, neboť vodivost je aditivní nespecifická veličina. Pro složitější roztoky je konduktometrie nevhodná metoda. Hodnota měrné vodivosti zde udává pouze úhrnnou koncentraci solí, což však v některých případech může být informace postačující. Vodivostní čidla se proto využívají v chemickém průmyslu, zejména ve vodohospodářství. Konduktometrie je jednou z nejpoužívanějších metod kontroly čistoty vod (destilované - v laboratořích, napájecí vody kotlů v průmyslu, chladicí vody aj.). Pro nepříliš znečištěné vody velmi přibližně platí:

$$k = 7,5 \cdot \kappa \quad (9)$$

kde k je přibližný úhrnný obsah solí [mg.l^{-1}] a κ měrná vodivost [mS.m^{-1}]. Metodu lze rovněž využít pro stanovení vody v různých kapalinách, neboť obsah vody znatelně ovlivňuje jejich vodivost.

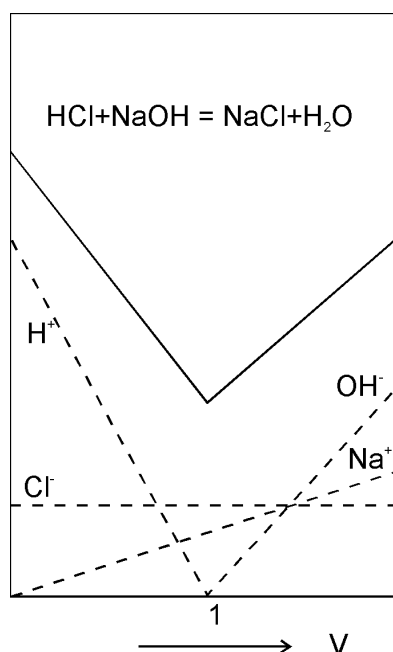
Výhoda přímé konduktometrie spočívá v její velké citlivosti, rychlosti a jednoduchosti měření. Dnešní moderní kapesní bateriové konduktometry jsou ideální pro méně náročná terénní měření. Významnou aplikací konduktometrie je její využití při indikaci konce titrace.

11.2.1. Konduktometrická titrace

Mění-li se během titrační reakce vodivost chemického systému, lze průběh titrace sledovat konduktometricky. Metoda byla použita nejen při acidobazických, ale též při srážecích, komplexotvorných a redoxních titracích. Dnes se však tento způsob indikace bodu ekvivalence používá takřka výhradně u acidobazických titrací.

Zvláštní výhodnost konduktometrické indikace u acidobazických titrací vyplývá z mimořádně vysoké pohyblivosti vodíkových a hydroxidových iontů (viz kapitola Elektromigrační metody). Konduktometrická indikace se uplatňuje hlavně při titracích značně zředěných roztoků i slabých kyselin (až do $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$), kde již běžné způsoby titrace s vizuálními indikátory neposkytují dobré výsledky. Důležité je však zajistit, aby se během titrace objem roztoku měnil minimálně. Pracuje se tedy s relativně velkým objemem vzorku či jeho roztoku (stovky ml), titrační činidlo se přidává v koncentrovanějším roztoku (řádově jednotky mol.l^{-1}) mikrobyretou (1–10 ml). Během titrace má být zachována konstantní teplota roztoku.

Příklad průběhu konduktometrické titrace kyseliny chlorovodíkové hydroxidem sodným je uveden na obr. č. 11.2.



Obr. č. 11.2.: Konduktometrická titrační křivka. Alkalimetrické stanovení HCl

Na počátku titrace jsou v roztoku pouze ionty Cl^- a vysoce pohyblivé ionty H^+ . Celková vodivost roztoku G je dána vodivostí přítomných iontů (plná čára). V průběhu titrace reagují vodíkové ionty s hydroxidovými ionty za vzniku málo disociovaného produktu - vody. Sodíkové ionty nahrazující H^+ ionty se jim svou vodivostí nemohou rovnat a úhrnná vodivost systému klesá. V bodě ekvivalence je koncentrace nejvodivějších iontů (H^+ a OH^-) takřka nulová, celková vodivost systému je minimální, je dána vodivostí Na^+ a Cl^- iontů. Za bodem

ekvivalence se do systému dostávají nadbytečné vysoce pohyblivé OH^- ionty (a ovšem i Na^+ ionty). Tvar titrační křivky pak připomíná písmeno V a bod ekvivalence se nalézá v místě zlomu křivky.

11.2.2. Vysokofrekvenční konduktometrie

Při vysokofrekvenční konduktometrii se k měření používají nádoby, které mají elektrody na vnějších stěnách. Elektrody tedy nejsou v přímém kontaktu s měřeným roztokem. Méně běžné je uspořádání, kdy nádobka se vzorkem tvoří jádro indukční cívky. Na elektrody nebo cívku se vkládá vysokofrekvenční střídavé napětí (o frekvenci 1–100 MHz). Metoda využívá známé fyzikální vlastnosti kondenzátorů. V důsledku polarizačních jevů vyvolaných v dielektriku vysokofrekvenčním polem klesá s rostoucí frekvencí střídavého (vysokofrekvenčního) napětí odpor kondenzátoru. Výhodou vysokofrekvenční konduktometrie je zamezení styku elektrod s měřenými roztoky. Tím je vyloučeno znečištění elektrodového povrchu resp. jeho koroze či jiné poškození.

11.2.2.1. Vysokofrekvenční titrace

Vysokofrekvenční titrace lze použít pro stejné systémy jako nízkofrekvenční metody. Bezelektrodové měření je obzvláště vhodné u systémů, kdy během titrace dochází ke vzniku sraženin, které by u běžné konduktometrické titrace způsobovaly zanášení elektrodového povrchu. V praxi se vysokofrekvenční indikace osvědčila zvláště při titracích v nevodném prostředí, při titracích zakalených roztoků či srážecích titracích.

12. Optické metody

12.1. Základní pojmy a vztahy

Optické metody představují soubor analytických metod, založených na interakci záření s analyzovanou složkou. Původně se název optické metody vztahoval pouze na oblast viditelného světla, dnes se pod tímto názvem rozumí metody, využívající celé spektrum elektromagnetických vln, od γ záření až po radiové vlny.

Optické metody lze v zásadě rozdělit na metody spektroskopické a nespektroskopické. Základem nespektroskopických metod jsou interakce hmoty se zářením, při kterých nedochází k výměně energie mezi hmotou a zářením, dochází pouze ke změnám určitých vlastností záření, jako například změna rychlosti záření, změna polarizace apod. Spektroskopické metody jsou charakterizovány interakcemi, při kterých dochází k výměně energie mezi hmotou a zářením.

12.1.1. Vlastnosti elektromagnetického záření

Elektromagnetické záření je ve fyzice definováno jako příčné vlnění se dvěma periodicky proměnnými složkami - elektrickou a magnetickou. Jejich vektory jsou kolmé navzájem i ke směru šíření paprsku. U nepolarizovaného záření kmitají oba vektory ve všech rovinách kolmých ke směru šíření paprsku. U polarizovaného záření kmitají oba vektory pouze ve dvou na sebe kolmých rovinách. Prochází-li elektromagnetické záření bodem v prostoru, můžeme v tomto bodě sledovat periodickou změnu intenzity magnetického a elektrického pole, průběh těchto změn vyjadřuje sinusoida. Vzdálenost mezi dvěma nejbližšími body na sinusoidě, které jsou charakterizovány stejnými intenzitami pole, se nazývá vlnová délka, označuje se λ a udává se nejčastěji v nanometrech ($1\text{nm} = 1\mu\text{m} = 10^{-9}\text{m}$.) Ve starší literatuře se můžeme rovněž setkat s dalšími jednotkami: $1\text{\AA} = 10^{-10}\text{m}$, $1\mu = 10^{-6}\text{m}$, $1\text{m}\mu = 10^{-9}\text{m}$. K dalším jednotkám, charakterizujícím záření, patří: vlnčet, který vyjadřuje počet vln na 1 m (1 cm), jeho rozměr je m^{-1} (cm^{-1}). Vlnčet $\tilde{\nu}$ je definován vztahem:

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

Kmitočet ν udává počet kmitů za sekundu, jednotkou je hertz (Hz) a rozměr s^{-1} .

Rychlost záření ve vakuu je přibližně $300 \cdot 10^3 \text{ km.s}^{-1}$. Vztah mezi výše jmenovanými veličinami vyjadřuje rovnice:

$$\lambda = \frac{c}{\nu}$$

Elektromagnetické záření je nositelem energie, jež se šíří směrem daným paprskem záření. Energie záření je závislá na jeho kmitočtu podle Planckovy rovnice:

$$E = h \cdot \nu$$

kde h je Planckova konstanta. Energie vyměňovaná mezi částicí analyzované složky a zářením je kvantována, velikost těchto kvant odpovídá rozdílu mezi možnými energetickými stavy, ve kterých se částice může nacházet. Jestliže částice ztrácí energii, projevuje se to emisí záření, absorpce záření je doprovázena zvýšením energie částice. Při emisi nebo absorpci záření dochází k následujícím procesům, které jsou charakteristické pro určité vlnové délky záření : přeskoky elektronů, vibrace atomů a skupin v molekulách, vibrace a rotace molekul. Procesy spojené s výměnou zářivé energie spolu s příslušnými vlnovými délkami jsou v tab. 12.1.

Tabulka 12.1.: Procesy spojené s výměnou zářivé energie

Oblast záření	Vlnová délka	Druh procesu
rentgenová (RTG)	10^{-3} –10 nm	přeskoky elektronů v hladinách atomů K a L
ultrafialová (UV)		
vakuová	10–190 nm	přeskoky elektronů ve středních a vnějších hladinách atomu
blízká	190–380 nm	přeskoky valenčních elektronů v atomech
viditelná (VIS)	380–780 nm	přeskoky valenčních elektronů v atomech
infráčervená (IR)		
blízká	780–2500 nm	vibrace atomů a skupin v molekulách
střední	2500–50000 nm	vibrace atomů a skupin v molekulách
vzdálená	50–1000 μ m	pomalé vibrace a rotace v molekulách
mikrovlnná	10–1000 mm	rotace molekul

12.2. Atomová spektrometrie

12.2.1. Vznik atomových spekter

Pod pojmem spektrum záření se obvykle rozumí soubor vlnových délek, které dané záření obsahuje. Emise a absorpce záření atomy je spojena se změnami energetických stavů elektronů. U tzv. optické spektroskopie (vlnové délky v rozmezí 10–1500 nm) se jedná o změny energetických stavů valenčních elektronů, u rentgenové spektroskopie o změny stavu elektronů vnitřních vrstev elektronového obalu (především na hladinách K a L). Při přechodu elektronu na nižší energetickou hladinu dochází k emisi záření, při absorpci záření naopak dochází k přechodu elektronu do vyšších energetických stavů. Atomová spektra jsou čárová, poloha a intenzita čar ve spektru atomu jsou z výše uvedených důvodů závislé na celkovém systému elektronů, který je pro daný prvek charakteristický. S rostoucím počtem valenčních elektronů vzrůstá počet přechodů a tedy i počet čar ve spektru daného prvku. Zároveň stoupá i vzájemné ovlivňování elektrických a magnetických polí elektronů. Přechody elektronů mezi jednotlivými energetickými hladinami nejsou libovolné, jsou řízeny tzv. výběrovými pravidly, která určují, které přechody jsou možné a které nikoliv. Nejintenzivnější čáry vznikají přechodem elektronů mezi hladinou základní a hladinami nejbližší vyššími, z nichž může přejít elektron jednoznačně pouze do hladiny základní. Tyto čáry se nazývají rezonanční. Emise a absorpce jsou děje inverzní, atomy nejsnáze absorbují záření o vlnové délce rezonančních čar. V analytické chemii se využívá obou uvedených případů - pokud se měří záření vysílané látkou, jedná se o emisní spektroskopii, měří-li se absorpce, jedná se o absorpční spektroskopii. Podle toho, zda se interakci se zářením zúčastňují atomy či molekuly, mluvíme o atomové či molekulové spektroskopii.

12.2.2. Atomová emisní spektroskopie v oblasti optických spekter

Emisní spektroskopie zahrnuje několik metodik, lišících se způsobem excitace částic a způsobem detekce emitovaného záření. Atom emituje záření při přechodu elektronu z vyššího, excitovaného stavu do stavu s nižším obsahem energie. Protože přeskoky nejsou libovolné, vysílá každý prvek záření jiných vlnových délek, přičemž intenzita emitovaného záření je úměrná počtu emitujících atomů. Princip měření při emisní spektroskopii je následující: analyzovaný vzorek po dodání vhodné energie (excitaci) vysílá polychromatické záření, které prochází rozkladným zařízením, z něhož vychází rozloženo na jednotlivé vlnové délky. Takto rozložené záření je pak detekováno vhodným detektorem. Vlnové délky excitovaného záření jsou charakteristické pro jednotlivé prvky, intenzita záření je úměrná obsahu prvku ve vzorku.

12.2.2.1. Součásti přístrojů pro atomovou emisní spektroskopii

a) Budící (excitační) zdroje

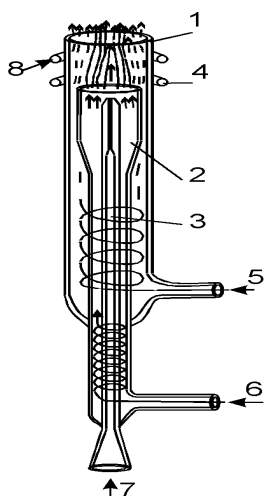
Pod pojmem budící zdroj se rozumí zařízení, kde se vzorku dodává energie jednak k převedení do stavu atomů (do plynného stavu), jednak k převedení jeho atomů do excitovaného stavu. K tomuto účelu se používají většinou vysokoteplotní zdroje: plamen

(2000–3000 K), elektrický výboj (oblouk 3500–6000 K, jiskra 10 000–15 000 K) a vysokofrekvenční argonová plasma (10 000 K).

Povaha budícího zdroje má vliv na počet čar v získaném spektru. Obecně platí, že zdroj musí mít tím vyšší teplotu, čím větší je budící energie nutná k převedení atomu do excitovaného stavu. Hodnoty budící energie jsou velmi rozdílné, například pro vybuzení základní rezonanční čary alkalických kovů stačí teplota plamene, pro většinu ostatních prvků je třeba teplota elektrického výboje. U plamenného zdroje slouží k excitaci plamen vznikající spalováním plynu ve směsi se vzduchem nebo oxidem dusným. Nejčastěji se používá směs acetylen-vzduch, který umožňuje získání teploty plamene až 2500 K. Kapalný vzorek je přiváděn do plamene ve směsi s topným plynem a vzduchem (či jiným zdrojem kyslíku) po převedení na formu aerosolu ve speciálních směšovacích komůrkách - zmlžovačích.

U elektrických zdrojů dochází k atomizaci a excitaci v elektrickém výboji, jiskrovém nebo obloukovém. Elektrický výboj se uskutečňuje mezi dvěma elektrodami, obvykle grafitovými z vysoce čistého materiálu. Na jednu z elektrod se vnáší malé množství vzorku (pevného nebo kapalného). Při analýze kovových materiálů tvoří někdy vzorek pracovní elektrodu. U stejnosměrného oblouku jsou elektrody připojeny ke zdroji stejnosměrného proudu o napětí řádově 10^2 V. Hodnoty dosažených teplot se pohybují mezi 3000 K až 8000 K a lze je redukovat přidávkou vhodného prvku do plazmatu. Výhodnější je oblouk střídavý, při němž se výboj periodicky přerušuje 100krát za vteřinu. Vyšší teploty a energii lze získat jiskrovým vysokonapěťovým výbojem. K tomuto výboji dochází mezi dvěma elektrodami, které jsou připojeny přes indukční cívku ke kondenzátoru s měnitelnou kapacitou. Na kondenzátor se vkládá vysoké napětí (řádově až 10^4 V). Teploty při jiskrových výbojích přesahují 10 000 K.

Mezi nejmodernější budící zdroje patří indukčně vázaný plazmový výboj, do kterého je vzorek přiváděn v jemně rozptýlené formě. V plazmatu, jehož teplota se pohybuje od 5000 do 10 000 K, dochází k vypaření, účinné atomizaci i excitaci většiny prvků. Plazma je tvořeno proudem argonu za atmosférického tlaku a potřebná energie se dodává indukčně radiofrekvenčním elektromagnetickým polem. Základní uspořádání plazmového hořáku je na obr. č. 12.1.



Obr. č. 12.1.: Plazmový hořák. 1 - vnější plazmová trubice, 2 - prostřední trubice, 3 - injektor, 4 - indukční cívka, 5 - chladicí plyn, 6 - plazmový plyn, 7 - nosný plyn, 8 - chladicí voda

Plazmová hlavice je tvořena soustavou tří koaxiálních křemenných trubic. Vnitřní kapilárou se přivádí spolu s nosným plynem argonem do výboje aerosol vzorku. Vnější trubicí se přivádí do plazmatu argon nebo dusík. Argon se přivádí rovněž střední trubicí.

Okolo hlavice je umístěna vodou chlazená indukční cívka napájená vysokofrekvenčním generátorem. Proud, přiváděný do cívky, má obvykle frekvenci 27,12 MHz. Stabilní plazma vzniká tak, že zapalovací jiskrou se v proudu argonu vytvoří volné elektrony, které přebírají energii z vysokofrekvenčního elektromagnetického pole, až dosáhnou energie potřebné k ionizaci dalších atomů.

U luminiscenčních metod a Ramanovy spektrometrie se používá k excitaci elektromagnetické vlnění, u rtg spektroskopie se používají elektrony.

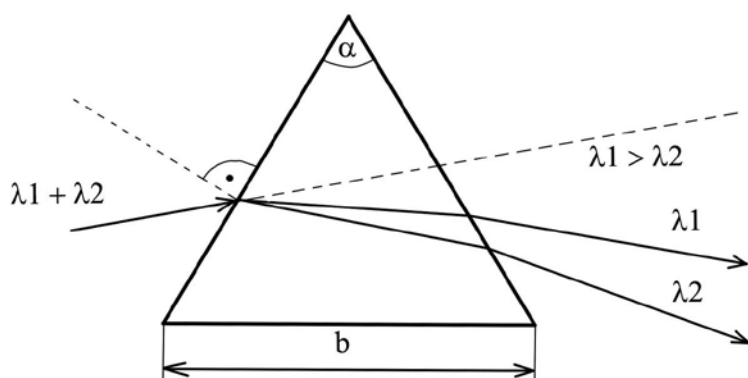
b) Rozkladná (dispersní) zařízení

Pro spektroskopická měření je nezbytné izolovat ze záření, emitovaného látkou, vlnové délky odpovídající stanovované složce. K tomuto účelu se používají optické filtry, hranoly nebo mřížky. Důležitými veličinami, charakterizujícími disperzní zařízení, jsou vlnová délka v maximu propustnosti a tzv. pološířka. Je to rozmezí vlnových délek v poloviční výšce píku, charakterizujícího závislost intenzity záření vycházejícího z disperzního prvku, na vlnové délce.

Optické filtry

Nejjednodušším zařízením, používaným k izolaci záření určitých vlnových délek, jsou absorpční nebo interferenční filtry. Jako absorpční filtry pro viditelnou oblast slouží barevná skla, která pohlcují určitou část bílého světla a zbytek propouštějí. Tyto filtry mají pološířku 50–100 nm, používají se tedy u méně kvalitních přístrojů. Selektivnější jsou interferenční filtry, založené na interferenci světla. Jejich pološířka je asi 10 nm.

K rozkladu polychromatického záření se používají speciálně konstruované hranoly nebo mřížky. Na hranolu dochází ke spektrálnímu rozkladu světla na základě závislosti úhlu lomu světla na jeho vlnové délce (obr. č. 12.2).

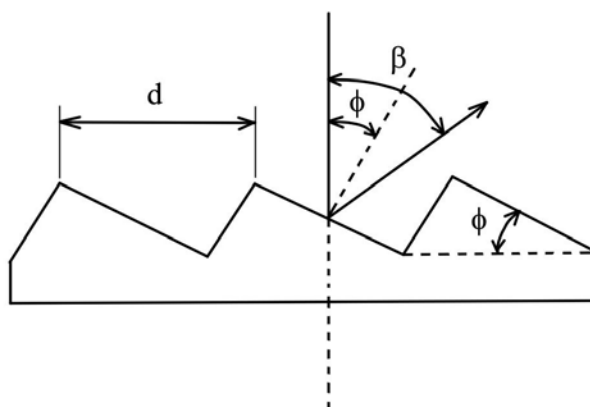


Obr. č. 12.2.: Rozklad světla hranolem. b - délka základny, α - lámavý úhel

Pro oblast viditelného záření se používají hranoly skleněné, pro práci v oblasti ultrafialové je nutno používat hranoly (a i ostatní optiku) křemenné. Veličinou, charakterizující vlastnosti rozkladného zařízení, je úhlová disperze, což je úhel sevřený dvěma rozloženými paprsky, vycházejícími z hranolu či mřížky, jejichž vlnová délka se liší o 0,1 nm. Rozlišovací schopnost vyjadřuje schopnost monochromátoru rozlišit vlnové délky dvou paprsků s blízkou vlnovou délkou.

Mřížka rozkládá polychromatické záření na základě závislosti ohybu (ohybové mřížky) nebo odrazu (odrazné mřížky) světla na vlnové délce. Ohybové mřížky jsou tenké skleněné či křemenné destičky, které mají na svém povrchu mechanicky provedené jemné vrypy (600–3000 vrypů na 1 mm pro viditelné světlo). Při průchodu světla těmito vrypy dochází k ohybu světla a k jeho spektrálnímu rozkladu.

U odrazných mřížek, které se dnes nejčastěji používají, jsou vrypy vyryty do materiálů, které dobře odrážejí světlo (například hliník), nanesených na destičku ze skla nebo z umělých hmot. Funkce odrazné mřížky je znázorněna na obr. č. 12.3.



Obr. č. 12.3.: Geometrie odrazné mřížky

Φ - úhel profilu vrypu, d - mřížková konstanta (vzdálenost vrypů), β - úhel odrazu

Monochromátor je optické zařízení, kterým lze izolovat úzký pás vlnových délek v širokém rozsahu spektra. Jeho hlavní součástí je disperzní prvek (hranol nebo mřížka) a dvě štěrbin. Vstupní štěrbina slouží ke geometrickému vymezení úzkého svazku paprsků ze záření zdroje, výstupní štěrbina k izolaci záření o určité vlnové délce či pološířce, vystupujícího z disperzního prvku. Kromě disperzního prvku a štěrbin obsahuje monochromátor ještě pomocnou optiku pro vedení paprsku.

c) Detektory

Zářivý tok lze detekovat čidly, která převádějí světelnou energii na jiné snadno měřitelné formy. Nejjednodušším detektorem je oko, které vnímá záření v rozsahu vlnových délek 380–760 nm. Pro oko je charakteristické, že není schopno absolutního měření, může pouze rozlišit, zda jas dvou zdrojů je stejný či nikoliv. Vizuální detekce se v současné době používá méně často. Fotografická deska jako detektor záření se používá v klasických spektrografech. Zčernání fotografické emulze (optická hustota) je závislá na množství zářivé energie, která na desku dopadla. Zčernání emulze na desce se měří buď vizuálně, nebo absorpční technikou na mikrofotometru.

V současné době se v oblasti viditelné, ultrafialové a blízké infračervené používá detekce fotoelektrická. Při tomto způsobu detekce vzniká při dopadu světelného záření na detektor elektrický proud, jehož intenzita je závislá na intenzitě dopadajícího záření. U jednodušších přístrojů se používají k detekci polovodičové fotoelektrické články, z nichž nejznámější je selenový fotočlánek. Při osvětlení se na článku vytváří napětí úměrné dopadajícímu zářivému toku. Selenové fotočlánky lze použít pouze pro viditelnou oblast.

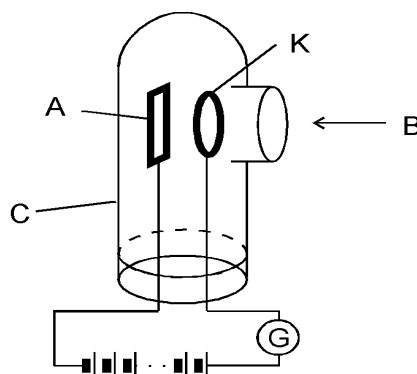
K nejkvalitnějším detektorům patří fotonky a fotonásobiče, pracující na principu fotoelektrického jevu. Schéma fotonky je na obr. č. 12.4.

A - anoda, K - katoda

B - vstup záření

C - baňka

G - galvanometr



Obr. č. 12.4.: Schéma fotonky

Fotonka je evakuovaná baňka, v níž jsou katoda a anoda spojeny se zdrojem stejnosměrného napětí a měřičem fotoelektrického proudu. Katoda fotonky je destička pokrytá světlocitlivou vrstvou, obvykle ze slitiny cesia (Cs-Ag, Cs-Sb). Při dopadu záření na katodu dojde k emisi elektronů, které se pohybují k anodě, na niž je vloženo kladné napětí. Tak vzniká fotoelektrický proud úměrný dopadajícímu toku záření. Fotonásobiče pracují na stejném principu jako fotonky, mají však kromě katody a anody pomocné zesilovací elektrody-dynody, které jsou rovněž pokryty vrstvou světlocitlivého materiálu. Účinkem záření se uvolňují z katody fotoelektrony, které dopadnou na první dynodu, kde se jejich počet sekundární emisí znásobí. Proud elektronů dopadá na druhou a další dynodu, přitom na každé z nich se opakuje znásobení počtu elektronů. Počet elektronů, které dopadnou na anodu, je proto mnohonásobně vyšší než počet elektronů uvolněných z katody, tedy i proud v měřicím obvodu se mnohonásobně zvýší. Schéma fotonásobiče je na obr. č. 12.5.

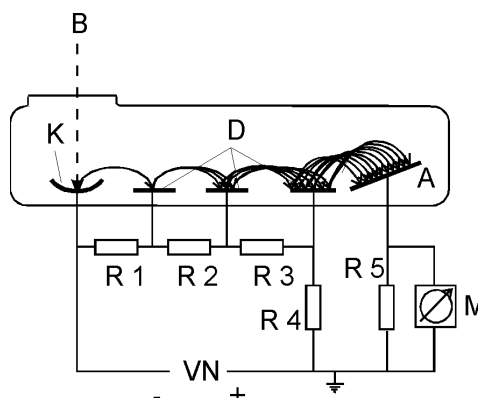
K - katoda, A - anoda

B - vstup záření

D - dynody

R₁₋₅ - odpory

M - měřicí jednotka



Obr. č. 12.5.: Schéma fotonásobiče

Dnes se u moderních spektrometrů k detekci záření stále častěji využívají tzv. detektory s diodovým polem. Detektor se skládá z řady fotocitlivých diod, na jednom čipu jich bývá 64 až 4096, nejčastěji 1024. Každá dioda slouží k detekci záření o určité vlnové délce, respektive záření v úzkém intervalu vlnových délek.

Z detektorů, používaných převážně v infračervené oblasti, je třeba jmenovat termoelektrické články a sloupy, bolometr a pneumatický detektor. Termoelektrické články a sloupy jsou založeny na termoelektrickém jevu. Jsou tvořeny plátky dvou různých kovů (např. Sb-Bi, Ag-Bi), které jsou spájeny a spoj je dokonale začerněn. Při dopadu záření na spoj obou kovů vzniká na nich termoelektrické napětí, které je úměrné zářivému toku. Termoelektrické sloupy jsou tvořeny několika články, spojenými za sebou.

Bolometr je založen na závislosti odporu kovových vodičů na teplotě. Mírou zářivého toku je změna odporu čidla při ozáření.

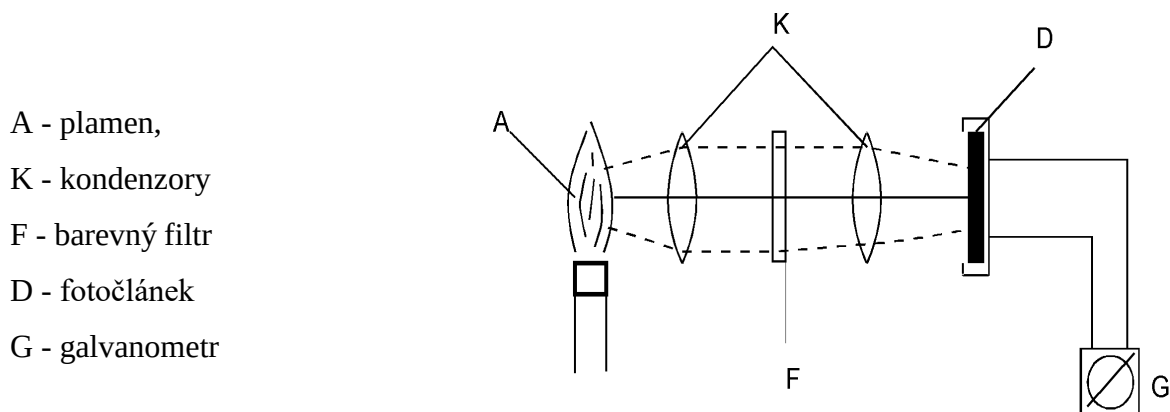
Pro indikaci infračerveného záření se dobře osvědčují tzv. pneumatické detektory. Jejich představitelem je Golayova cela, jejíž hlavní součástí je komůrka o objemu několika mm^3 naplněná plynem a opatřená pružným okénkem. Plyn se absorbovaným zářením ohřívá, mění se tlak a v důsledku toho dochází k deformaci okénka. Deformace se snímá a zesiluje optickou cestou a zachycuje se jako měrný signál.

Úplná měřicí jednotka optických přístrojů je tvořena indikačním obvodem, který sestává z detektoru a elektronické části, v níž se dále zesiluje a transformuje signál z detektoru na žádanou formu.

12.2.2.2. Metody a přístroje atomové emisní spektroskopie

a) Plamenová fotometrie

Schéma plamenového fotometru je znázorněno na obr. č. 12.6.



Obr. č. 12.6.: Schéma plamenového fotometru

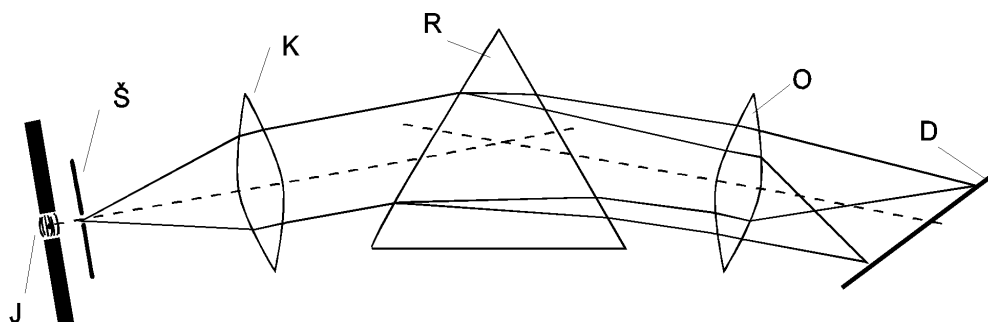
K excitaci slouží plamen vznikající spalováním acetylenu ve směsi se vzduchem. Kapalný vzorek je nasáván do směšovací komory, kde se mísí se vzduchem a topným plynem a tato směs ve formě mlhy vchází do hořáku, kde teplem, vzniklým spalováním topného plynu dochází k excitaci atomů. Emitované záření prochází skleněným optickým filtrem, který

propouští záření příslušející stanovovanému prvku. Intenzita záření se měří selenovým fotočlánkem. Plamenová fotometrie se používá ke stanovení prvků, které nevyžadují k excitaci příliš vysoké teploty, jako např. alkalické kovy, vápník. Pro stanovení uvedených prvků je to metoda citlivá, dostatečně přesná a přitom rychlá a jednoduchá.

b) Spektrografie

Budícím zdrojem ve spektrografické analýze je nejčastěji elektrický výboj - jiskra nebo oblouk, který vzniká mezi dvěma elektrodami, na které je vloženo příslušné napětí. Teplota plazmatu v oblouku je 4000–8000 K, u jiskry může teplota dosáhnout až 30 000 K. Při analýze kovových materiálů se elektrody vyrábějí přímo z analyzovaného materiálu, pro analýzu práškových materiálů (např. rudy, horniny, sklo) nebo roztoků se používají grafitové elektrody, na které je vzorek nanesen. Charakter a velikost napětí, vkládaného na elektrody, je závislý na druhu stanovení.

Polychromatické záření, vycházející ze zdroje (vzorek) prochází dispersním zařízením (hranol nebo mřížka), ze kterého vychází rozloženo na jednotlivé vlnové délky a dopadá na fotografickou desku. Schéma spektrografu je na obr. č. 12.7.



Obr. č. 12.7.: Schéma spektrografu

J - elektrický výboj (emitující vzorek), Š - štěrbina, K - kolimátor, R - rozkladný hranol, O - objektiv, D - fotografická deska

Spektrogram, který po vyvolání desky získáme, obsahuje spektrální čáry, z nichž každá odpovídá záření určité vlnové délky.

Spektrální složení záření, emitovaného vzorkem, je dáno jeho chemickým složením - kvalitativní vyhodnocení spektrogramu tedy spočívá v určení vlnových délek čar na spektrogramu. Optická hustota čar (stupeň zčernání čáry) je úměrná obsahu daného prvku ve vzorku. Kvantitativní vyhodnocení spektrogramu se provádí srovnáním stupně zčernání čar vzorku a standardu.

Při polokvantitativní (semikvantitativní) analýze se toto srovnání provádí vizuálně a výsledkem je hrubý odhad obsahu složek ve vzorku. Při kvantitativní analýze se stupeň zčernání proměřuje na fotometrech. Vzhledem k poměrně nestabilitě excitačního zdroje se jeví jako nejlepší metoda vyhodnocování spektrogramů tzv. metoda homologických čar, při

kteře se porovnává intenzita (stupeň zčernání) čáry zkoumaného prvku s čárou srovnávacího prvku, tzv. vnitřního standardu a z poměru těchto intenzit se určí koncentrace stanovovaného prvku.

Semikvantitativní analýza slouží k rychlému odhadu kvantitativního složení vzorku, používá se velmi často pro získání základní informace o složení vzorku. Spektrografie se používá pro stanovení minoritních prvků, zejména kovových, v půdách, rudách, kovových slitinách, horninách apod. Není vhodná pro stanovení hlavních složek vzorku.

c) Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem (AES-ICP)

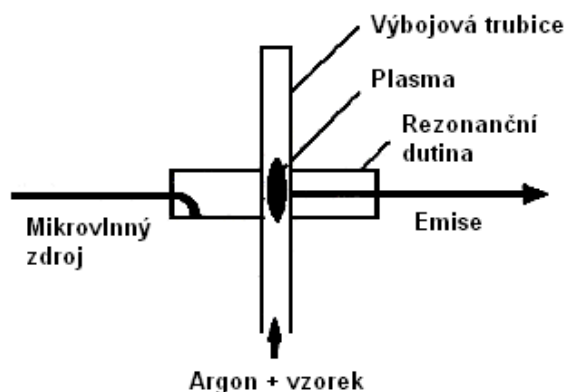
Tato metoda patří mezi nejmodernější metody emisní spektrometrie i celé analytické chemie. Budícím zdrojem je zde bezelektrodové argonové plasma, do kterého je podobně jako u plamene přiváděn vzorek ve formě aerosolu.

Teplota plasmatu se pohybuje kolem 10 000 K a je velmi stabilní. Při této teplotě dochází k atomizaci sloučenin a excitaci atomů. Tento energeticky bohatý a velmi stabilní zdroj umožňuje stanovit i obtížně excitovatelné prvky, jako jsou např. P, Si a jiné. Další součástí ICP spektrometrů, tj. disperzní zařízení, detektor a další vybavení je obdobné jako u automatického spektrometru. K rozkladu záření slouží odrazná mřížka, k detekci fotonásobič. Pracují buď na sekvenčním, nebo simultánním principu.

Atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plasmatem umožňuje stanovení většiny prvků s velmi dobrou přesností a nízkou mezí stanovitelnosti (až $0,001 \text{ mg.l}^{-1}$). Významnou předností metody je možnost měření v širokém rozsahu koncentrací (4–6 koncentračních řádů, tj. např. od $0,001$ – 1000 mg.l^{-1} prvku). Plasmový výboj je také vhodným zdrojem iontů pro hmotnostní spektrometrii.

d) Atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plasmatem (MIP)

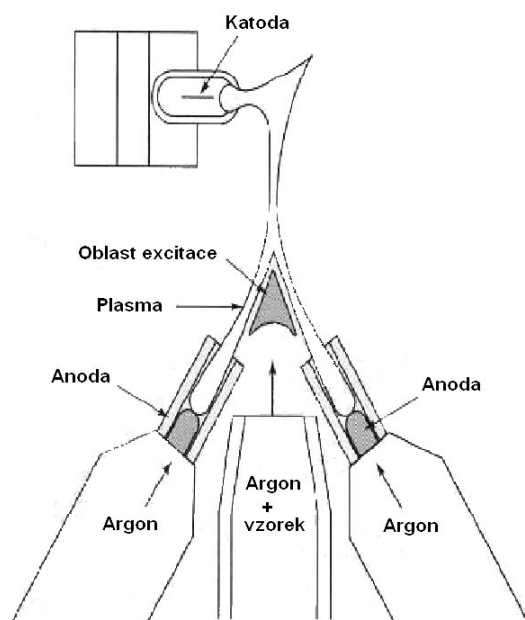
Mikrovlnně indukované plasma vzniká v rezonanční dutině výbojové trubice, kterou protéká helium (3 l.min^{-1}), dodáním energie z mikrovlnného zdroje. Plasma zde není v teplotní rovnováze, jeho teplotu tudíž není možné přesně definovat. Výkonné plasmové zdroje (800 W) umožňují zavádět do plasmatu aerosol vzorku vytvořený zmlžovačem. Výhodou MIP je možnost s úspěchem využít tento zdroj pro stanovení nekovových prvků (fosfor, síra). Schéma MIP znázorňuje obr. č. 12.8.



Obr. č. 12.8.: Schéma mikrovlnně indukovaného plasmatu

e) Atomová emisní spektrometrie se stejnosměrným plasmatem (DCP)

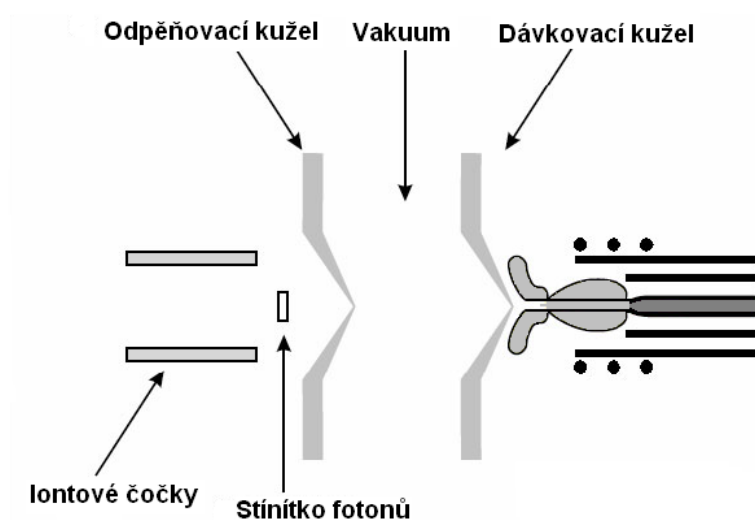
Stejnosemné plasma vzniká průchodem elektrického proudu argonem přiváděným do prostoru mezi dvěma nebo třemi elektrodami. Roztok vzorku je zmlžován nosným plynem (rovněž argon) přímo do výboje plasmatu. Třetí elektroda se používá pro zvýšení stability plasmového zdroje. Pro měření se využívá oblast plasmatu charakterizovaná teplotou kolem 5000 °C. Meze detekce a stanovitelnosti zde bývají srovnatelné s hodnotami typickými pro atomovou absorpční spektrometrii s plamenovou atomizací. Schéma využití plasmatu stejnosměrného elektrického proudu pro atomovou emisní spektrometrii je uvedeno na obr. č. 12.9.



Obr. č. 12.9.: Schéma stejnosměrného plasmatu pro atomovou emisní spektrometrii

12.2.2.3. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem (ICP-MS)

Základem metody ICP-MS je použití budícího zdroje (indukčně vázaného plasmatu) jako zdroje iontů pro hmotnostní spektrometr (MS). Hmotnostní spektrometr následně separuje a detekuje ionty podle jejich hmotnosti. Metoda tedy ze své podstaty není optickou metodou, avšak metodou separační. Spojení indukčně vázaného plasmatu a MS je zajištěno pomocí mezičlánku (interface), který zabezpečuje vstup iontů z prostředí charakterizovaného atmosférickým tlakem do vakua, jež je podmínkou funkce hmotnostního spektrometru. Interface je tvořen dvěma kužely s malými otvory (1 mm), těmito otvory vstupují ionty z plasmatu do hmotnostního analyzátoru (obr. č. 12.10.).



Obr. č. 12.10.: Spojení hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostním analyzátozem zde bývá obvykle kvadrupólový filtr. Analyzátor spolu s detektorem je vychýlen mimo optickou osu přístroje, aby se zabránilo dopadu fotonů na detektor. Pro vzorkování iontů analytu se využívá oblast plasmatu s teplotou kolem 7500 K. Při této teplotě je ionizace prvků obrovská (většinou více než 90 %), pouze H, C, N, O, F, Cl, Br a vzácné plyny jsou ionizovány méně než z 10 %. Rozlišovací schopnost kvadrupólového hmotnostního analyzátoru je většinou 0,5 až 1,0 atomové hmotnostní jednotky. Kvantita zastoupení určitého izotopu je dána intenzitou příslušné linie hmotnostního spektra. Metoda ICP-MS eliminuje spektrální interference. Dosažený detekční limit bývá desetkrát až tisíckrát nižší než u optické metody AES-ICP. Významná je rovněž možnost zjištění izotopového zastoupení prvku ve vzorku. Problémem metody ICP-MS jsou však hmotnostní interference. Ve spektru plasmatu jsou vedle iontů analytu přítomny molekulové ionty pozadí (Ar_2^+ , O_2^+ , N_2^+), které jsou detekovány při stejné atomové hmotnostní jednotce jako některé prvky (izotopy). Nevýhodou metody jsou rovněž velké pořizovací i provozní náklady související s vysokou instrumentální náročností.

12.2.3. Atomová absorpční spektroskopie (AAS)

12.2.3.1. Základní pojmy absorpční spektroskopie

U absorpčních spektroskopických metod se sleduje záření absorbované (pohlčené) stanovovanou složkou. Prochází-li světelné záření prostředím, dochází k úbytku jeho toku v důsledku absorpce záření prostředím. Do prostředí vstupuje tok záření ϕ_0 a vystupuje tok ϕ . Poměr mezi oběma hodnotami

$$T = \frac{\phi}{\phi_0}$$

se nazývá transmittance (propustnost), která se nejčastěji vyjadřuje v procentech:

$$T \% = 100 \cdot \frac{\phi}{\phi_0} .$$

Transmittance prostředí se mění s vlnovou délkou a je závislá na počtu absorbujících částic v prostředí (tedy na koncentraci) a na tloušťce vrstvy absorbujícího prostředí. Zlogaritmováním transmittance se získá veličina A, která se nazývá absorbance (extinkce):

$$-\log T = -\log \frac{\phi}{\phi_0} = A ,$$

která se při absorpčních měřeních nejčastěji používá. Vztah mezi absorbancí a ostatními dříve jmenovanými veličinami vystihuje Lambert-Beerův zákon:

$$A = c \cdot \varepsilon \cdot \ell$$

kde A je absorbance, c je koncentrace ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ nebo $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$), ℓ je tloušťka vrstvy absorbujícího prostředí a ε je absorpční koeficient.

Absorpční koeficient je pro danou látku a vlnovou délku konstantní za předpokladu konstantních podmínek, jeho hodnota je závislá na vlnové délce. Podle Lambert-Beerova zákona je závislost absorbance na koncentraci lineární, to však platí pouze za určitých podmínek (monochromatické záření, nízká koncentrace, nepřítomnost rušivých vlivů).

12.2.3.2. Přístroje pro absorpční spektroskopii

Přístroje založené na měření absorpce záření mají tyto hlavní součásti: zdroj záření, monochromátor, umožňující izolovat z polychromatického záření zdroje záření určité vlnové délky nebo záření o úzké spektrální šíři, dále pak absorbující prostředí (vzorek), detektor, který převádí zářivou energii na energii elektrickou a indikační zařízení. Podle uspořádání se dělí přístroje pro absorpční spektroskopii na jednopaprskové a dvoupaprskové.

U jednopaprskových přístrojů paprsek ze zdroje prochází vzorkem, pak monochromátorem (v případě AAS; u ostatních metod bývá monochromátor zařazen před vzorkem) a je detekován detektorem. U přístrojů dvoupaprskových je paprsek ze zdroje před absorbujícím prostředím rozložen na dva paprsky, z nichž jeden prochází absorpčním

prostředím (vzorkem) a druhý prochází mimo vzorek srovnávacím prostředím. Oba paprsky pak po průchodu monochromátorem vstupují do detektoru a indikační zařízení pak vyhodnocuje vzájemný poměr intenzit obou paprsků.

12.2.3.3. Principy atomové absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektroskopie je založena na selektivní absorpci monochromatického záření volnými atomy prvku v základním elektronovém stavu. Podle Kirchhoffových zákonů jsou volné atomy v plynném stavu schopny absorbovat záření těch vlnových délek, které samy vyzařují. Absorpcí světelného kvanta přechází atom do vzbuzeného stavu, to znamená, že jeho valenční elektrony přecházejí do vyšších energetických hladin. Atom v excitovaném stavu je nestabilní a během zlomku sekundy se vrací do původního stavu, přičemž získanou energii opět vyzáří ve formě fluorescenčního záření. Rozmezí vlnových délek záření absorbované atomy je 190–850 nm. Prvek se stanovuje při vlnové délce tzv. rezonanční čáry, která odpovídá přechodu atomu mezi stavem základním a některým stavem excitovaným. Z těchto rezonančních čar se obvykle používají ty čáry, které odpovídají přechodu s největší pravděpodobností, při kterých je absorpce záření nejvyšší. Tyto čáry odpovídají přechodu ze základního stavu na první excitovanou hladinu. Přechody na vyšší hladiny jsou méně pravděpodobné.

Měřenou veličinou v AAS je stejně jako u ostatních absorpčních metod absorbance, definovaná podle Lambertova-Beerova zákona vztahem:

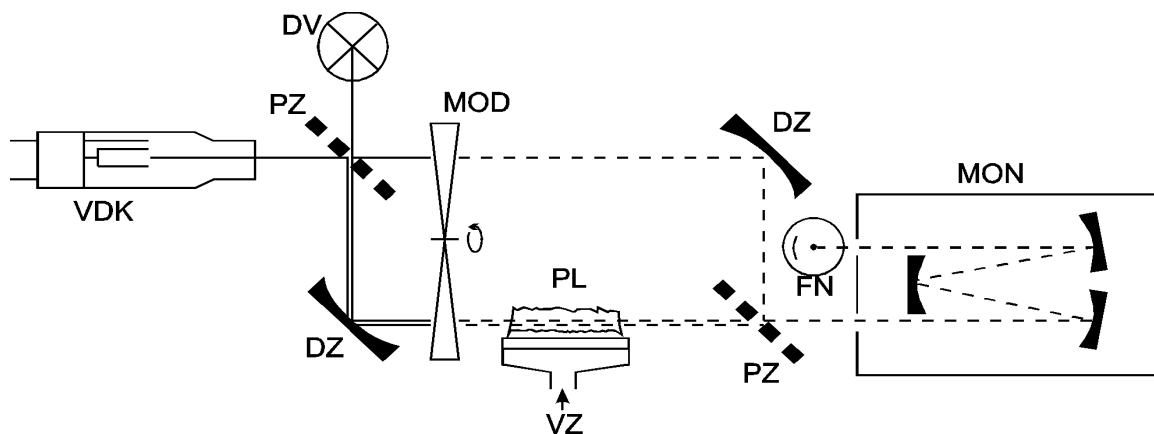
$$A = c \cdot \varepsilon \cdot \ell$$

Při měření metodou AAS záření, vysílané zdrojem, prochází absorbujícím prostředím, ve kterém jsou atomy stanovené látky, zde je zeslabováno a po průchodu monochromátorem dopadá na detektor, jehož signál je veden na indikační zařízení. Zeslabení záření je úměrné množství atomů v jednotce objemu absorbujícího prostředí, tedy koncentraci.

12.2.3.4. Přístroje pro atomovou absorpční spektroskopii a jejich součásti

Každý atomový absorpční spektrometr má pět hlavních součástí: zdroj záření, atomizátor, který je zároveň absorpčním prostředím, monochromátor, detektor a indikační systém, do kterého patří zesilovač, zapisovač, případně tiskárna; u současných přístrojů ve většině případů osobní počítač.

Základní schéma přístroje pro atomovou absorpční spektroskopii je na obr. č. 12.11.



Obr. č. 12.11.: Schéma přístroje pro atomovou absorpční spektrometrii s korekcí pozadí

VDK - výbojka s dutou katodou, DV - deuteriová výbojka, PZ - polopropustná zrcadla, DZ - dutá zrcadla, PL - atomizátor (plamen), VZ - vzorek, MON - monochromátor, FN - fotonásobič, MOD - modulátor

Zdroj záření:

Protože pro měření je nezbytné používat přísně monochromatické záření, nelze použít zdroje záření s kontinuálním spektrem, ze kterého by se izolovala určitá část spektra monochromátorem. Nejběžnějším zdrojem záření je výbojka s dutou katodou, která poskytuje čárové spektrum. Protože toto záření musí obsahovat rezonanční linie stanoveného prvku, používá se pro výrobu katody vždy prvek, pro jehož stanovení je výbojka určena. Z toho vyplývá, že pro každý prvek je třeba používat jiné výbojky. Výbojky jsou plněny inertním plynem (obvykle neonem) při nízkém tlaku. Vloží-li se na elektrody příslušné napětí, dochází k ionizaci plynu, jehož ionty vyrážejí z katody atomy kovu, ty se srážkami excitují a při deexcitaci vydávají záření, obsahující žádané vlnové délky. Jiným zdrojem záření jsou bezelektrodové výbojky, buzené vysokofrekvenčním proudem.

Absorpční prostředí a atomizátory

Absorbující prostředí v AAS musí obsahovat volné atomy stanovovaného prvku v základním energetickém stavu. Převodění látky do stavu atomů se až na některé výjimky provádí zahříváním na teploty 2000–3000 K, buď v plameni, nebo elektrotermicky.

Plamenové atomizátory

Plameny používané v atomové absorpční spektrometrii jsou realizovány směsí paliva (obvykle acetylen) a oxidovadla (vzduch nebo oxid dusný). Dnes se většinou používají laminární předmíchávané plameny. Zavádění vzorku do plamene se obvykle provádí pomocí pneumatických zmlžovačů. Alternativou je využití vysokotlakých hydraulických zmlžovačů. Koncentrace volných atomů analytu v různých výškách nad hranou hořáku je obecně různá a udává takzvaný plamenový profil. Z důvodu dosažení maximální citlivosti je žádoucí provádět měření v oblasti charakterizované nejvyšší koncentrací volných atomů. Pro metodu plamenové atomizace je typické značné naředění analytu spalnými plyny, účinnost pneumatických zmlžovačů bývá navíc velmi nízká. Proto je metoda AAS s plamenovou

atomizací méně citlivá (zhruba o tři řády koncentrace) ve srovnání s AAS s elektrotermickou atomizací nebo generováním těkavých sloučenin. Výhodou metody je však velká rychlost analýzy, nižší vliv interferujících složek matrice a rovněž nižší pořizovací i provozní náklady ve srovnání s elektrotermickou variantou AAS. Za použití plamene acetylen - vzduch, jehož maximální teplota je zhruba 2500 K, může u některých analytů docházet v atomizátoru ke vzniku termostabilní sloučeniny. Vznik termostabilní sloučeniny je pozorován například při stanovení vápníku v matrici obsahující velké množství hliníku. V takovémto případě je nutné použít plamen dodávající více energie (acetylen - oxid dusný), u něž lze dosáhnout teploty až 2900 K. Případné ionizaci analytu v důsledku dodání velkého množství energie lze zabránit přidávkou ionizačních pufů, které dodávají do prostoru atomizátoru volné elektrony. Existuje asi 30 prvků, které nemohou být stanoveny v plameni acetylen - vzduch, neboť tvoří velmi stabilní oxidy (např. Cr, Mo, W, Ti, V, Nb, Ta). Řešením je zde opět použití plamene acetylen - oxid dusný. Při stanovení alkalických kovů a kovů alkalických zemin je energie dodaná plamenem příliš velká, dochází k odtržení elektronů a vzniku iontů. Do prostoru atomizátoru je potřeba dodat volné elektrony zavedením soli prvku s nižším ionizačním potenciálem (ionizačního pufru). Jako ionizační pufr se často používají sloučeniny Cs. Aplikace ionizačního pufru při stanovení alkalických kovů a kovů alkalických zemin je obvykle nezbytná.

Elektrotermické atomizátory

Elektrotermické atomizátory (ETA) jsou speciální odporově vyhřívané kyvety zhotovené z grafitu nebo skelného uhlíku, méně často z wolframu. Do atomizátoru se v průběhu měřicího cyklu nadávkuje pomocí automatického dávkovače malé množství vzorku (10 až 50 µl). Analyt lze dávkovat přímo na stěnu kyvety nebo na tzv. platformu. Platformou je grafitová destička vložená dovnitř kyvety, její styčná plocha se stěnami kyvety je malá, energetický přenos z vnitřní stěny kyvety na platformu se děje převážně zářením, v důsledku čehož je aktuální teplota povrchu platformy nižší ve srovnání s aktuální teplotou vlastní kyvety a analyt přechází do plynné fáze později (a za izotermických podmínek), než při atomizaci ze stěny kyvety. Při použití ETA se všechny dávkovaný analyt podílí na absorpci záření, lze tedy dosáhnout výrazně vyšší citlivosti než při práci s plamenovým atomizátorem. Ohřev kyvety probíhá v atmosféře argonu, její teplota je zvyšována podle předem nastaveného zoptimalizovaného teplotního programu. Základními kroky teplotního programu jsou sušení vzorku, pyrolýza matrice a atomizace analytu. Za účelem stabilizace analytu ve fázi pyrolýzy matrice se často používá tzv. modifikátor (například Pd). Po provedení měřicího cyklu je atomizátor vypálen a ochlazen. Analytický signál má tvar píku (vyhodnocuje se jeho výška nebo plocha). Detekční limit bývá pro ET-AAS až o 3 řády nižší ve srovnání s plamenovou atomizací. Metoda je však náchylná k četným interferenčním vlivům, na obsluhu přístroje jsou kladeny vyšší nároky. Pracovník by měl být schopen riziko interferenčních vlivů odhadnout a vhodnou volbou podmínek stanovení (teplotní program, modifikátor matrice, korekce nespecifické absorpce pozadí, popřípadě předúprava vzorku) tyto interference eliminovat. Elektrotermický atomizátor je uveden na obr. č. 12.12.



Obr. č. 12.12.: Elektrotermický atomizátor (grafitová kyveta)

Generování těkavých sloučenin v metodě AAS

Skutečnost, že arsen a řada dalších prvků čtvrté, páté a šesté hlavní skupiny periodické soustavy tvoří při reakci s vodíkem ve stavu zrodu těkavé kovalentní hydridy, se využívá již více než 100 let (Marshova a Gutzeitova zkouška). Podnětem pro zavedení generování těkavých sloučenin do AAS byla na přelomu šedesátých a sedmdesátých let minulého století snaha o překonání obtíží (nízká citlivost) spojených s plamenovou atomizací sloučenin arsenu a selenu. Generování arsenovodíku v metodě AAS bylo poprvé realizováno z roztoku vzorku okyseleného HCl po přidání Zn. V současné době je nejčastěji používaným redukčním činidlem při chemickém generování těkavých hydridů NaBH_4 . Atomární vodík je produkován reakcí činidla s kyselinou, obvykle HCl. Generace těkavých sloučenin je kompatibilní nejen s atomovou absorpční spektrometrií, ale i s metodami atomové emisní spektrometrie a s ICP-MS. Těkavý hydrid lze rovněž generovat na výstupu z chromatografické (HPLC) kolony.

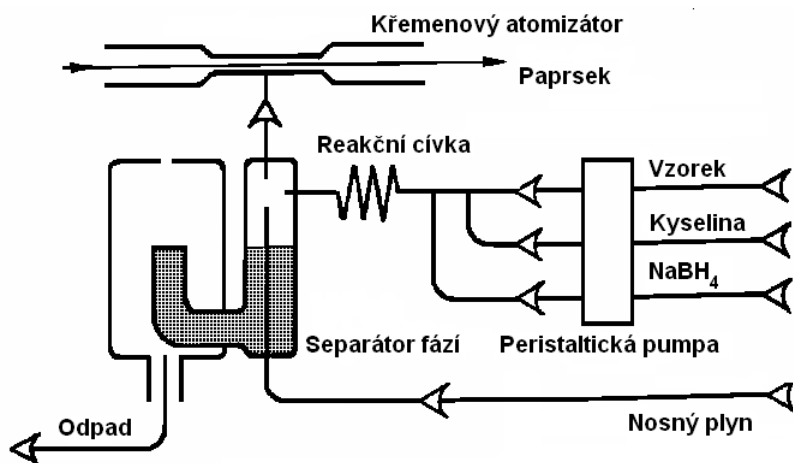
Nejčastěji generovanými těkavými sloučeninami jsou kovalentní hydridy arsenu, antimonu, bismutu, selenu, telluru, germania, cínu, popřípadě olova. Byly provedeny úspěšné pokusy s generováním hydridů india a thalia z nevodného prostředí. S ohledem na výhody generování těkavých hydridů (nahromadění analytu v optické ose spektrometru a separace analytu od matrice) je pochopitelná snaha rozšířit tuto techniku i na jiné těkavé sloučeniny. Běžně se například provádí generování studených par rtuti. Analyticky zajímavé je rovněž stanovení olova či kadmia po ethylační reakci nebo stanovení Ni po převedení na těkavý $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$. Tetrakarbonylnikl lze získat redukcí sloučenin Ni působením NaBH_4 v prostředí HCl (redukce na Ni) a následnou karbonylační reakcí s CO.

Pro generování těkavých sloučenin lze využít metody přímého přenosu (dávkové uspořádání, kontinuální průtoková analýza - obr. č. 12.13., průtoková injekční analýza) nebo metody kolekční (akumulace analytu v absorpčním mediu, tlaková kolekce, kolekce vymrazováním, in-situ akumulace analytu v ETA).

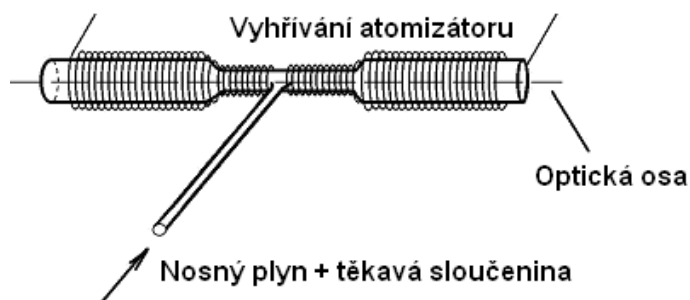
Těkavou sloučeninu s nadbytkem vodíku a nosným plynem je potřeba oddělit od kapalné fáze. K tomuto účelu byla navržena řada separátorů fází různé konstrukce. Používané separátory mohou být rozděleny do tří základních skupin - na separátory hydrostatické, separátory s nuceným odtahem a separátory membránové. Nejčastěji využívané jsou separátory hydrostatické (sifon). Základním nedostatkem těchto separátorů je nemožnost pracovat s vyšším přetlakem a rovněž poměrně značný vnitřní objem. Separátory s nuceným

odtahem obvykle umožňují překonat tyto obtíže, avšak vyžadují zařazení dalšího čerpadla pro odsávání odpadního roztoku. Funkce membránových separátorů je založena na difuzi plynů skrz porézní membránu. Membrána bývá obvykle zhotovena z teflonu nebo ze silikonového plastu. Hlavní předností membránových separátorů fází je odstranění jemného aerosolu, který vzniká v jiných typech separátorů a dostává se až do atomizátoru, kde působí rušivě.

Těkavá sloučenina (hydrid) je převáděna do formy volných atomů v atomizátorech speciální konstrukce. V současné době se nejčastěji používají různé verze křemenných atomizátorů (externě vyhřívané křemenné atomizátory, atomizátory typu plamének v křemenné trubici, atomizátor typu mnohonásobného mikroplaménku). Křemenný atomizátor je obvykle realizován trubicí ve tvaru T (viz obr. č. 12.14.), jejíž atomizační rameno je umístěno v optické ose spektrometru. Atomizátory typu plamének v křemenné trubici využívají k přívodu kyslíku kapiláru, na jejímž konci hoří miniaturní plamének, ve kterém dochází k vlastním procesům atomizace. Atomizátory s externím vyhříváním nemají zvláštní přívod kyslíku, kyslík potřebný pro atomizaci je přiváděn difuzí z okolní atmosféry. Podmínky panující v křemenných atomizátorech jsou daleko od termodynamické rovnováhy. Těkavé hydridy jsou zde atomizovány radikálovým mechanismem. V současnosti se pro atomizaci těkavých sloučenin stále častěji používají rovněž elektrotermické grafitové atomizátory (obvykle ve spojení s kolekcí analytu - tzv. in-situ kolekce těkavé sloučeniny v elektrotermickém atomizátoru).



Obr. č. 12.13.: Schéma aparatury pro generování těkavých sloučenin v AAS



Obr. č. 12.14.: Křemenový atomizátor pro atomizaci těkavých sloučenin v AAS

Korekce pozadí

Paprsek, procházející absorpčním prostředím, může být zeslabován nejen pravou atomovou absorpcí (srážkami s atomy stanovovaného prvku), ale i absorpcí molekulární nebo absorpcí a rozptylem na pevných nevypařených částicích. Toto zeslabení samozřejmě zvyšuje absorbanci a je příčinou vyšších výsledků. Je málo závislé na vlnové délce a označuje se jako absorpční pozadí. Při stanovení vyšších obsahů prvků je možno je zanedbat, při stanovení nepatrných koncentrací však může být zdrojem pozitivních chyb. Novější přístroje jsou vybaveny tzv. korektorem pozadí, kterým lze měřit neatomickou (nespecifickou) absorpci. Jeho hlavní součástí bývá deuteriová výbojka, jejíž kontinuální záření prochází absorpčním prostředím střídavě se zářením výbojky s dutou katodou. Absorpce tohoto záření je na detektoru odečítána od součtové absorpce záření na konkrétní vlnové délce. V současné době se při korekci nespecifické absorpce pozadí stále častěji využívá Zeemanova jevu, kdy v silném magnetickém poli dochází ke štěpení energetických hladin atomu. Měření je prováděno tak, že absorbance je střídavě měřena při vypnutém a zapnutém magnetickém poli. Na detektoru je registrován rozdílový signál, který odpovídá absorpci čistého analytu. Výhodou tohoto způsobu kompenzace pozadí je lepší korekce strukturního pozadí (výskyt ostrých pásů odpovídajících rotačním nebo vibračním přechodům). Určitou nevýhodou může být výskyt maxim na kalibračních křivkách a částečný pokles citlivosti ve srovnání s korekcí pozadí pomocí kontinuálního zdroje záření (deuteriové výbojky).

Monochromátory

Úkolem monochromátoru je izolovat ze záření, vycházejícího z absorpčního prostředí, příslušnou rezonanční čáru. Nejčastěji se používají monochromátory s odraznou mřížkou.

Detektory

Jako detektor slouží fotoelektrický násobič s emisní vrstvou, pokrývající celou oblast sledovaných vlnových délek. Aby detektor zachycoval pouze zářivý tok z výbojky, je proud vložený na výbojku modulován a detektor je spojen se zesilovačem, sladěným s modulační frekvencí výbojky.

Indikační systém

Signál z detektoru je zesilován a je registrován mikroampérmetrem. Moderní přístroje umožňují odečíst přímo koncentraci. Bývají vybaveny počítačovou technikou, která umožňuje automatické nastavení parametrů přístroje a dávkování vzorku.

Analytické aplikace atomové absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie našla velmi široké uplatnění při kvantitativních stanoveních stopových prvků. Pomocí této metody lze analyzovat velice různorodé vzorky. Její výhodou je velká specifičnost stanovení zejména kovů (celkem lze stanovit zhruba 70 chemických prvků). Prvky lze stanovovat bez předchozí separace. AAS je analytická metoda relativní, srovnávací; výsledek vždy získáváme porovnáním signálu vzorku se signály roztoků

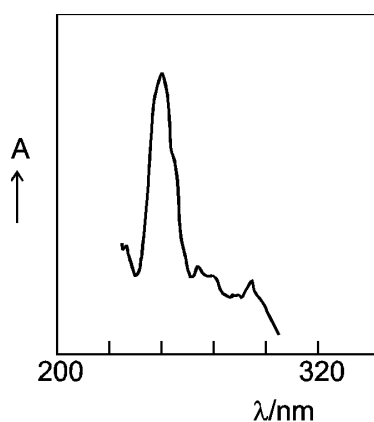
standardů, které by se měly složením matrice blížit analyzovanému vzorku. Obvykle se analyzují vzorky ve formě vodných roztoků, lze ale použít i nevodných rozpouštědel. Do elektrotermického atomizátoru lze s určitými omezeními dávkovat i suspenze pevných látek.

12.3. Molekulová spektroskopie

Molekulová spektroskopie zahrnuje metody, založené na interakci elektromagnetického záření s molekulami analyzované látky. Při absorpci zářivé energie molekulou dochází k přechodu valenčních elektronů do vyšších energetických stavů (molekulová absorpční spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti - UV/VIS) nebo ke změnám vibračních a rotačních stavů molekuly (infračervená a Ramanova spektroskopie). Absorbovaným zářením excitovaná molekula přechází pak zářivými nebo nezářivými deexcitačními mechanismy zpět do základního stavu. Na zářivé deexcitaci molekul excitovaných elektromagnetickým vlněním jsou založeny metody fluorescenční molekulové spektroskopie.

12.3.1. Molekulová absorpční spektroskopie v oblasti ultrafialového a viditelného záření (UV/VIS)

Metody molekulové absorpční spektroskopie v oblasti UV/VIS jsou založeny na absorpci záření v rozmezí vlnových délek 190–800 nm ($53\,000\text{--}12\,500\text{ cm}^{-1}$). Absorpce záření v uvedené spektrální oblasti se projeví v přechodu valenčních elektronů do vyšších energetických stavů. Změna stavu elektronového obalu molekuly je obecně spojena i se změnou vibračních a rotačních stavů molekuly. Přechod z nižší do vyšší elektronové hladiny může probíhat do různých vibračních a rotačních podhladin a tak počet blízkých elektronových přechodů je značný. Tyto blízké přechody nelze obvykle rozlišit jako izolované čáry, výsledkem měření absorpčního spektra molekul jsou absorpční pásy, které se objeví v okolí určité vlnové délky. Elektronový absorpční pás tedy vzniká absorpcí velkého počtu energeticky blízkých zářivých kvant molekulami v základním stavu. Na obr. č. 12.15. je znázorněno absorpční spektrum (závislost A na vlnové délce) fenanthrenu.



Obr. č. 12.15.: Absorpční spektrum fenanthrenu

12.3.1.1. Souvislost mezi charakterem absorpčního spektra a strukturou molekuly

Systematickým sledováním UV/VIS spekter sloučenin byla zjištěna řada korelací mezi absorpčním spektrem a strukturou látek, zvláště organických. Teoretický výklad těchto stavů podává kvantová chemie. Při absorpci UV nebo VIS záření dochází k přechodu vnějších elektronů z energeticky nejnižších (vazebných i nevazebných) molekulových orbitalů do antivazebných orbitalů, které jsou energeticky vyšší a za normálních podmínek neobsazené. U sloučenin s jednoduchými vazbami se vazebné elektrony nacházejí v σ - orbitalu. Pro převedení elektronu do excitovaného stavu, který tvoří antivazebný σ^* orbital, je zapotřebí velké energie, tedy záření o vlnové délce pod 190 nm (vakuová oblast). Tyto sloučeniny proto záření v oblasti UV/VIS neabsorbují (např. voda, alifatické uhlovodíky, ethylalkohol apod.) a jsou vhodné jako rozpouštědla pro absorpční spektrometrii v této oblasti.

Méně energie vyžadují přechody $\pi \rightarrow \pi^*$ a nejméně přechody $n \rightarrow \pi^*$. Tyto dva typy přechodů se využívají v absorpční spektroskopii UV/VIS. Z uvedeného vyplývá, že absorpce záření molekulami je dána typem vazeb, které jsou v molekule, tedy druhem funkčních skupin. Funkční skupiny, které způsobují přechody $\pi \rightarrow \pi^*$ a $n \rightarrow \pi^*$ a umožňují tak absorpci záření v oblasti UV/VIS, se nazývají chromofory.

Látky, které absorbují záření pouze v oblasti ultrafialové, se nám jeví jako bezbarvé; látky, které absorbují z bílého světla některé vlnové délky, se jeví našemu oku jako barevné. Vlnová délka pohlcovaného záření odpovídá doplňkové barvě látky, kterou vnímáme.

12.3.1.2. Analytické využití metod molekulové absorpční spektroskopie v oblasti UV/VIS

a) Kvalitativní analýza

Jak bylo řečeno, jsou poloha a intenzita absorpčních pásů charakteristické pro určitou skupinu atomů (chromofor) v molekule. Z tohoto důvodu se spektra složitých a strukturně blízkých sloučenin poměrně málo liší. Přesto může molekulová spektroskopie UV/VIS poskytnout důležité informace při identifikaci látek.

b) Kvantitativní analýza

Stanovení koncentrace látek absorpční spektrometrií je založeno na Lambert-Beerově zákonu:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot \ell$$

Platnost Lambert-Beerova zákona je však v praktických případech omezena některými odchylkami. Jsou způsobovány disociací, asociací, polymerací, tvorbou komplexů či jinými reakcemi, do kterých může stanovovaná složka vstupovat. Další příčinou odchylek je nedostatečná monochromaticnost použitého záření. Tyto odchylky způsobují, že závislost absorpance na koncentraci nevystihuje v praxi obvykle přímka, ale křivka, jejíž zakřivení se projevuje zejména při vyšších koncentracích. Měření je možno pak provádět pouze v koncentračním rozsahu stanovované složky, kdy je závislost $A - c$ přímková nebo se přímkově blíží. Podstata měření molekulovou absorpční spektrometrií je následující:

z polychromatického záření, vysílaného zdrojem se vhodným zařízením izoluje určitá úzká oblast spektra, odpovídající maximu absorpčního pásu (křivky). Toto záření prochází roztokem vzorku v kyvetě a jeho absorpce je úměrná koncentraci roztoku. Záření po průchodu roztokem dopadá na detektor, jehož signál je po zesílení veden na indikační zařízení. Vyhodnocování výsledků se provádí porovnáním absorpance vzorku s absorpancí standardních roztoků pomocí kalibrační křivky. Moderní přístroje umožňují odečítat přímo hodnoty koncentrací po zkalibrování přístroje pomocí standardních roztoků.

12.3.1.3. Metody a přístroje molekulové absorpční spektroskopie UV/VIS

a) Kolorimetrie

Kolorimetrie je nejstarší modifikací molekulové absorpční spektroskopie. Je založena na skutečnosti, že roztoky určité barevné látky o stejné koncentraci mají stejnou intenzitu zabarvení. Stanovení se provádí porovnáním intenzity zabarvení vzorku se standardními roztoky ve stejných nádobách. Kolorimetrie je velmi jednoduchá metoda, která však poskytuje poměrně dobré výsledky.

b) Fotometrie a spektrofotometrie

Fotometrie a spektrofotometrie jsou založeny na měření záření absorbovaného roztokem. Přístroje pro obě metody mají v podstatě stejné prvky, zásadní rozdíl je ve spektrální kvalitě použitého záření a jeho získávání. U fotometrů se "monochromatické" záření získává pomocí barevných filtrů, u spektrofotometrů je monochromatické záření získáváno rozkladem na hranolovém nebo mřížkovém monochromátoru.

c) Zdroje zářivé energie

Zdroj zářivé energie má zajišťovat v požadovaném intervalu vlnových délek spojitě záření dostatečné intenzity. Pro měření v ultrafialové oblasti splňují tento požadavek vodíkové nebo deuteriové výbojky. Pro oblast viditelného záření se používají žárovky se žhavenou wolframovou spirálou, plněné vzácným plynem (Kr, Ar).

d) Optické filtry a monochromátory

Absorpce záření je závislá na vlnové délce použitého záření. Pro měření se používá záření, které je roztokem maximálně absorbováno. Nejjednodušším zařízením pro získání tohoto záření z polychromatického záření jsou skleněné barevné filtry, které propouštějí záření o spektrální šíři 30–80 nm a které se používají pouze u jednoduchých fotometrů. Ve spektrofotometrech se získává monochromatické záření hranolovými nebo mřížkovými monochromátory. V poslední době se u dražších přístrojů dává přednost mřížkovým s odraznou mřížkou. Spektrální šíře záření získaného kvalitním monochromátorem je 0,5 až 5 nm. Vysoký stupeň monochromatickosti lze získat pomocí tzv. interferenčních filtrů.

e) Kyvety a rozpouštědla

Absorpční prostředí tvoří kyveta s roztokem. Pro měření v UV oblasti je nutno používat kyvety, stejně jako ostatní optické součásti, křemenné. Pro měření v oblasti viditelného záření se používají kyvety a optika skleněné. Při výběru rozpouštědla je nutno dbát na to, aby použité rozpouštědlo neabsorbovalo záření, které se používá pro dané stanovení. Nejčastějším rozpouštědlem je voda, která neabsorbuje záření v rozmezí vlnových délek 180–1000 nm. Při používání organických rozpouštědel je třeba si uvědomit, že řada z nich absorbuje záření při vlnových délkách kratších než 350 nm.

f) Detektory záření, registrace signálu

Pro registraci záření se používají fotoelektrické detektory (u kolorimetrie je detektorem lidské oko). U jednoduchých fotometrů je to nejčastěji selenový hradlový fotočlánek, u kvalitních přístrojů fotonka nebo fotonásobič. Fotoelektrický proud, vzniklý na detektoru dopadem záření, se měří mikroampérmetrem, většinou digitálním. Na stupnici bývají hodnoty transmitance, absorbance (u některých přístrojů označovaná jako extinkce), u moderních přístrojů je možno po kalibraci přístroje odečítat přímo koncentrace. Registrační spektrofotometry jsou vybaveny zapisovačem, umožňujícím grafický záznam spektra.

12.3.1.4. Použití molekulové absorpční spektrometrie v oblasti UV/VIS

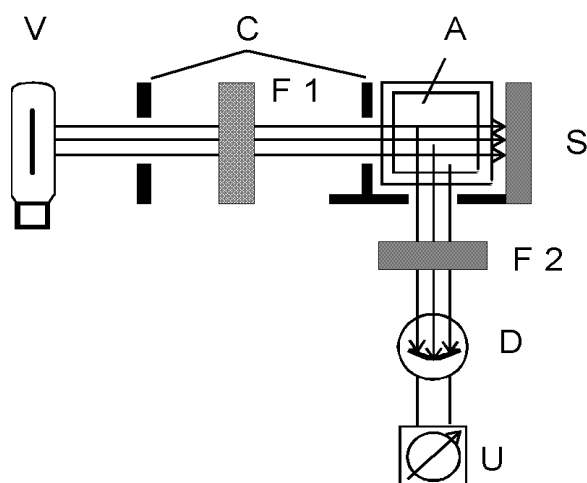
Molekulovou absorpční spektrometrii v oblasti UV/VIS je možno použít pro identifikaci a stanovení látek, které absorbují záření v této oblasti vlnových délek. Látky, které tuto schopnost nemají, lze převést na látku absorbující záření reakcí s jinou chemickou složkou. Toho se využívá například při stanovení řady kovů, vytvářejících s organickými ligandy barevné komplexní sloučeniny. Molekulová absorpční spektrometrie UV/VIS se používá ke stanovení kationtů, aniontů a rovněž pro stanovení řady organických sloučenin. Je určena především pro stanovení látek v nízkých koncentracích.

12.3.2. Luminiscenční analýza

Fotoluminiscenční metody jsou založeny na měření sekundárního záření emitovaného molekulami předem excitovanými absorpcí záření v téže spektrální oblasti. Při měření se nejčastěji využívá fluorescence, která se liší od fosforence podstatně kratším časovým intervalem mezi ozářením a ukončením emise záření (dosvitem). K excitaci fluorescenčního záření je nutno použít záření o stejné nebo větší energii (tj. stejné nebo kratší vlnové délky) než má záření emitované (sekundární). Proto se používá k excitaci fluorescenčního záření ve viditelné oblasti spektra ultrafialového záření, jehož zdrojem je nejčastěji rtuťová výbojka.

Ze záření, které výbojka emituje (primární záření) se monochromátorem izoluje záření určité vlnové délky, které prochází měřeným roztokem. Působením tohoto záření přecházejí molekuly látky do energeticky vyšších excitovaných stavů a jejich přechod do základního stavu se projeví vyzářením luminiscenčního záření (zářivá deexcitace), jehož intenzita je úměrná koncentraci luminiscenční látky. Fluorescenční záření vychází z kyvety, ve které je

měřená látka, všemi směry, měří se však záření vycházející z kyvety ve směru kolmém na primární záření, čímž se eliminuje vliv tohoto záření na změřené hodnoty (obr. č. 12.16.).



Obr. č. 12.16.: Schéma zařízení pro fluorescenční měření

V - výbojka, C - clonky, F1 - primární filtr, A - kyveta se vzorkem,
S - světloabsorbující prostředí, F2 - sekundární filtr, D - fotonka, U - měřič
fotoelektrického proudu

Fluorescenční (sekundární) záření prochází optickým filtrem nebo monochromátorem, které izolují záření vysílané měřenou látkou a to pak dopadá na detektor. K detekci se používají, podle kvality přístroje, fotonky nebo fotonásobiče. Metodu je možno používat i pro stanovení anorganických látek, které normálně nejeví fluorescenční vlastnosti (např. kovy) po převedení do vhodných komplexních sloučenin.

12.3.3. Spektroskopie v oblasti infračerveného záření - (Infračervená - IR - spektroskopie)

12.3.3.1. Principy infračervené spektroskopie

Infračervená absorpční spektroskopie je metodou založenou na interakci infračerveného záření s molekulami měřené látky. Zahrnuje spektrální oblast přibližně od 5000 do 100 cm^{-1} ($2000\text{--}100\,000\text{ nm}$). Jako u ostatních spektroskopických metod i zde se jedná o kvantovanou výměnu energie mezi zářením a molekulami látky. Absorpce infračerveného záření má za následek přechod molekuly do vyšších vibračních nebo rotačních stavů. Možné jsou tyto typy přechodů:

- a) vibrační
- b) rotační
- c) vibrační a rotační

Přechody a) a c) leží většinou v tzv. střední oblasti infračerveného záření ($5000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$), která je nejčastěji využívána. Přechody čistě rotační leží ve vzdálené infračervené a mikrovlnné části spektra a mají zatím z praktického hlediska menší význam. Dopadne-li na molekulu zářivé kvantum o takové energii, která je právě rovna rozdílu energetických hladin dvou vibračních stavů, molekula toto kvantum absorbuje a přejde do vyššího vibračního stavu. Totéž platí, je-li dopadající kvantum rovno rozdílu dvou rotačních stavů - pak molekula přejde do vyššího rotačního stavu. Pokud je dopadající kvantum rovno součtu rozdílů vibračních a rotačních stavů, zvýší současně vibrační i rotační energii. Uvedené přechody se projeví v infračerveném spektru jako absorpční pásy charakterizující vlnočtem svého absorpčního maxima daný přechod.

Pro vibrační a rotační přechody platí určitá pravidla: z hlediska kvantové mechaniky jsou dovolené (možné) pouze přechody mezi sousedními hladinami, při kterých se mění vibrační ev. rotační kvantové číslo o ± 1 . Tyto přechody se nazývají základní. U reálných molekul jsou možné i přechody o více než jednu hladinu, provázené změnou vibračního či rotačního čísla o více než 1. Pravděpodobnost těchto přechodů je však menší a projeví se ve spektru jako středně silné nebo slabé pásy. Pro absorpci záření je ještě nutné upozornit na to, že vibrační energie molekuly se může zvýšit absorpcí záření pouze tehdy, změní-li se současně její dipólový moment. Proto se v infračerveném spektru projeví pouze vibrační přechody, které splňují tuto podmínku.

12.3.3.2. Instrumentace infračervené spektroskopie

Základními součástmi infračervených spektrometrů jsou zdroj záření, monochromátor, detektor a registrační zařízení. U moderních přístrojů se zásadně používá dvoupaprskové uspořádání. Běžný rozsah těchto spektrometrů je od 5000 do 700 cm^{-1} , u kvalitnějších přístrojů až do 200 cm^{-1} . Jako zdroje záření se používají tuhé zářiče, které při zahřátí průchodem elektrického proudu emitují infračervené záření. Nejčastěji používaným zdrojem jsou silitové tyče (globary) z karbidu křemíku, které jsou elektrickým proudem vyhřívány na teplotu kolem $1400\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Disperzním prvkem monochromátoru bývá nejčastěji odrazná mřížka, která má lineární disperzi, závislou pouze na její konstrukci. U kvalitních spektrometrů bývá použito několik výměnných mřížek, určených pro jednotlivé rozsahy infračerveného spektra. Častá je i kombinace hranolu jako předrozkladného zařízení a mřížky.

Jiným typem infračerveného spektrometru je spektrometr na principu interferometru. Záznam spektra, získaný na tomto spektrometru, tzv. interferogram je třeba převést na tvar normálního absorpčního spektra. Tento převod probíhá matematickou cestou, Fourierovou transformací. Spektrometry konstruované na bázi interferometru (spektrometry FTIR) mají proti mřížkovým spektrometrům větší rozlišovací schopnost i mnohem menší ztráty záření. Nejčastěji užívaným detektorem záření je termoelektrický článek, popř. termoelektrický sloup. V některých přístrojích se používá pneumatický detektor (Golayova cela), který je citlivý zejména v oblasti nízkých vlnočtů. V blízké infračervené části spektra lze použít i fotoelektrický detektor.

Vzorek, který měříme, může být ve skupenství plynném, kapalném nebo tuhém. Při měření infračervených spekter je důležitá otázka výběru rozpouštědla a materiálu pro výrobu

kyvet. Základním požadavkem je, aby rozpouštědlo ani kyveta neabsorbovaly infračervené záření. Kyvety pro měření v kapalném a plynném stavu jsou rozebíratelné, hlavní součástí jsou okénka (vstupní a výstupní), které jsou vyrobeny z materiálu, neabsorbujícího infračervené záření (nejčastěji NaCl nebo KBr).

12.3.3.3. Využití infračervené spektroskopie

Infračervená spektroskopie našla využití zejména při identifikaci látek a ve strukturní analýze. Základem kvalitativní interpretace infračerveného spektra je přiřazení jednotlivých absorpčních pásů charakteristickým vibracím molekuly. Z infračerveného spektra je možno získat informace o funkčních skupinách v molekule a rovněž o prostorovém uspořádání molekuly.

Využití infračervené spektroskopie je založeno na stejných principech jako ostatní absorpční metody, tedy na platnosti Lambert-Beerova zákona.

12.4. Optické nespektroskopické metody

12.4.1. Refraktometrie

Refraktometrie je optická metoda založená na stanovení indexu lomu tuhých a kapalných látek. Index lomu je charakteristickou konstantou chemicky čistých látek. Měřením indexu lomu lze kontrolovat čistotu chemických individuí, eventuálně je identifikovat. Poněvadž index lomu závisí na hustotách prostředí, z něhož paprsek vychází a do něhož vstupuje, a protože hustota prostředí souvisí s jeho složením, je tu dána možnost stanovení koncentrace roztoků.

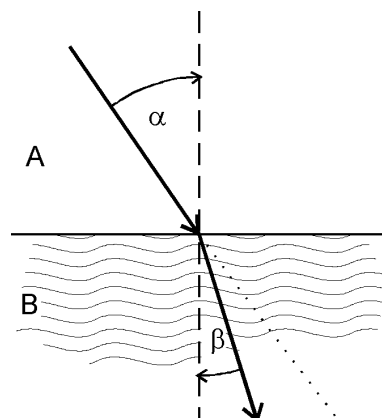
Základní pojmy

Prochází-li světelný paprsek určité vlnové délky z jednoho homogenního prostředí (A) do druhého (B) odlišné optické hustoty, mění se na rozhraní jeho průniková rychlost (v hustším prostředí prochází pomaleji). Nedopadá-li kolmo, nýbrž pod určitým úhlem (α), kromě částečného odrazu změní se po průchodu rozhraním i jeho směr (β) a říkáme, že se láme (obr. č. 12.17.).

Lom (refrakce) světla pro monochromatický paprsek je vystižen Snellovým zákonem, podle něhož platí:

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{C_A}{C_B} = \text{konst.} = n_{A,B}$$

kde α a β jsou úhly, pod jakými paprsek prochází (měřeno ke kolmici na rozhraní), C_A a C_B rychlosti záření v A a B. Konstantu $n_{A,B}$ definujeme jako relativní index lomu dvou uvažovaných prostředí (prostředí B vzhledem k prostředí A).



Obr. č. 12.17.: Lom paprsku na rozhraní dvou prostředí

α - úhel dopadu, β - úhel lomu

Poměr rychlostí je konstantní a je dán poměrem sinů obou úhlů. Pro $C_A > C_B$ je $n > 1$ a $\sin \alpha > \sin \beta$, tzn. $\alpha > \beta$ nastává lom ke kolmici.

Při obráceném chodu paprsku je poměr $\frac{\sin \beta}{\sin \alpha} = \frac{1}{n}$, nastává lom od kolmice a $\frac{1}{n}$ je indexem lomu prostředí A ku prostředí B.

Při kolmém dopadu $\alpha = 0^\circ$, protože $n = 1$, plyne ze vztahu $\sin \alpha = \sin \beta$ také $\beta = 0^\circ$. Při kolmém dopadu se šíří paprsek tímž směrem (neláme se). Zvolíme-li za prostředí A vakuum jako základní (standard), kde průniková rychlost je maximální (= rychlosti světla $3 \cdot 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{sec}^{-1}$), pak je index lomu definovaný jako poměr rychlosti světelného paprsku ve vakuu k rychlosti měřené v prostředí (B), nazývá se absolutní index lomu a značí se N.

Mezný úhel

Zvětšuje-li se úhel při postupu paprsku z hustšího do řidšího prostředí, potom při určité jeho velikosti dosáhne úhel v řidším prostředí právě 90° . Lomený paprsek pak postupuje rovnoběžně (klouže) po rozhraní. Překročíme-li mezný úhel, pak se paprsek nedostane vůbec do druhého prostředí, nýbrž se odrazí (totální reflexe). Pro mezný (extrémní) úhel platí vztahy:

$$\frac{\sin \varepsilon}{\sin 90^\circ} = \frac{C_B}{C_A}, \text{ kde } C_A > C_B,$$

tedy

$$\sin \varepsilon = \frac{C_B}{C_A} = \frac{1}{n}, \text{ kde } \varepsilon \text{ je mezný (extrémní úhel).}$$

Závislosti indexu lomu

Hodnota indexu lomu závisí na vlnové délce použitého světla, na teplotě a tlaku (tlak má význam jen u plynů). U každého indexu je nutné udávat, při které délce vlny byl změřen a při jaké teplotě.

V praxi je snaha používat pro jednoduchost bílé světlo. To se však lomem rozkládá, takže rozhraní v zorném poli se neobjevuje jako čára, nýbrž jako barevně rozptýlený pás. Tato vada se odstraní kompenzačním zařízením vloženým do dalekohledu přístroje. Zařízení má dva Amiciho hranoly složené ze tří částí v pořadí korunové, flintové a korunové sklo. První soustava hranolů je nehybná a druhá otáčivá kolem optické osy šroubem na dalekohledu. Vhodným otočením hranolu se odstraní barevný rozptyl světla.

Refrakce

Index lomu závisí především na vlnové délce použitého světla a dále na kvalitě látky. Funkci odvozenou z indexu lomu dané látky, která co nejméně mění své hodnoty se změnou stavu zkoumané látky (teplota, tlak) je tzv. specifická refrakce (r) vyjádřená podle R. Lorenze a H. A. Lorenze vztahem:

$$r = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \cdot \frac{1}{h} \quad \text{kde } n = \text{index lomu, } h = \text{hustota}$$

Vynásobení specifické refrakce atomovou hmotností dává atomovou refrakci (R_{atom}) a součin s molární hmotností je molární refrakce (R_{mol}). Jsou to veličiny charakteristické pro složení a strukturu dané látky. Molární refrakce je aditivní vlastností hmoty, je rovna součtu atomových refrakcí.

$$R_{AB} = R_A + R_B$$

Refrakce se používá v organické chemii při řešení strukturních otázek. Pro běžná praktická měření se pro jednoduchost a rychlost měření používá index lomu.

Refraktometrické přístroje

Refraktometry jsou přístroje na měření indexu lomu látek. Podstatou měření je určení mezního úhlu ε , z něhož se vypočítá relativní index lomu n_{AB} daného prostředí podle vztahu

$$\sin \varepsilon = \frac{N_A}{N_B} = \frac{1}{n_{AB}},$$

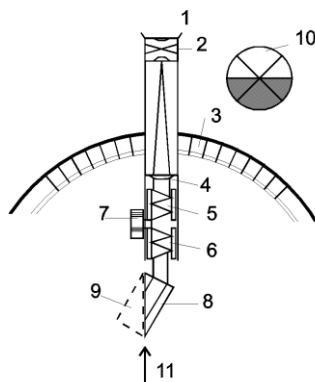
kde N_A , N_B jsou absolutní indexy lomu látek A a B.

Konstrukčně mají refraktometry společný princip s geodetickými přístroji, takže je můžeme rozdělit na dva typy:

- a) refraktometry, u kterých lomný hranol a dalekohled s nitkovým křížem jsou proti sobě pohyblivé.

- b) refraktometry, u kterých lomný hranol a dalekohled mají vzájemně neměnnou polohu a stupnice je v zorném poli dalekohledu.

Přístrojem první skupiny je Abbéův refraktometr. Je všestranně vybaven, má široký rozsah indexu lomu, má kompenzátor barevného rozptylu (dvě soupravy Amiciho hranolů), a proto je možno pracovat na denním světle. Je možno jím měřit jak tuhé, tak i kapalně látky a proto byl označen jako univerzální (obr. č. 12.18.).



Obr. č. 12.18.: Schéma Abbéova refraktometru. 1 - okulár, 2 - nitkový kříž, 3 - stupnice pevně spojená s hranolem, 4 - spojka, 5,6 - Amiciho hranoly, 7 - ovládací šroub, 8 - lámavý hranol, 9 - pomocný hranol, 10 - zorné pole refraktometru, 11 - svazek paprsků

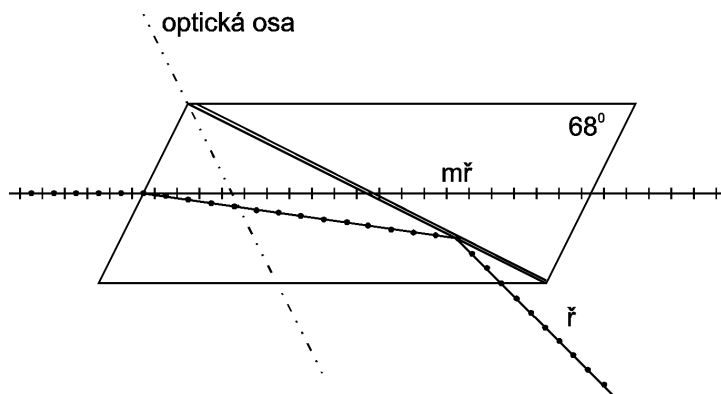
Zeissův ponorný refraktometr je zástupcem druhé skupiny, kde měrný hranol a dalekohled i stupnice jsou sestaveny v jedné ose. Do této skupiny přístrojů patří tzv. příruční refraktometry, používané k rychlému stanovení obsahu cukru ve šťávě cukrové řepy.

12.4.2. Polarimetrie

Polarimetrie v užším slova smyslu je optická metoda na stanovení látek na základě jejich schopností stáčet rovinu polarizovaného světla.

Optická aktivita

Projde-li paprsek obyčejného světla kmitajícího ve všech kolmých směrech na osu paprsku vhodně upraveným krystalem islandského vápence (Nicolovým hranolem - nikolem), stane se paprskem světla polarizovaného, tj. světla kmitajícího toliko v jedné rovině proložené směrem paprsku (obr. č. 12.19.).



Obr. č. 12.19.: Polarizace světla při průchodu hranolem
mř - paprsek mimořádný, ř - řádný paprsek

Na vstupu do hranolu se totiž světelný paprsek rozkládá na paprsky dva – řádný a mimořádný. Řádný paprsek se na vstupní hraně láme a odráží se na ploše spojující obě části hranolu. Polarizovaný paprsek mimořádný prochází hranolem beze změny a používá se k měření. Jestliže takto polarizované světlo projde některými látkami (křemenem, vápencem, roztokem glukózy, sacharózy aj.), stočí se rovina jeho kmitů o jistý úhel vlevo (-) nebo vpravo (+). Tato schopnost látek je optická aktivita. Opticky aktivními jsou krystaly všech soustav kromě krychlové a dále celá řada anorganických látek s asymetrickou molekulou. Pro využití v analytice je nejvýznamnější optická aktivita organických látek s asymetrickým uhlíkem. Optickou aktivitu mohou jevit látky ve skupenství tuhém (jsou-li v krystalech) v kapalném, plynném a látky v roztocích. Optická aktivita je vlastnost aditivní, tím je omezeno využití polarimetrie na stanovení jedné opticky aktivní složky, případně celkového množství aktivních látek vedle neaktivních.

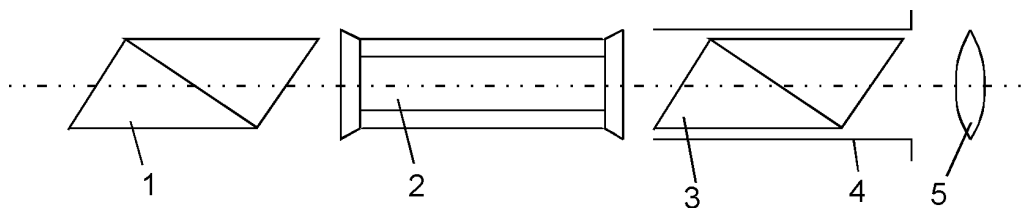
Specifická otáčivost

Úhel stočení roviny polarizovaného světla závisí na: charakteru látky, tloušťce vrstvy, vlnové délce použitého světla, teplotě a u roztoků na jejich koncentraci. Z praktických důvodů byl zaveden pro porovnání otáčivosti jednotlivých látek pojem specifické otáčivosti $[\alpha]_D^t$. U čistých pevných látek je $[\alpha]_D^t$ úhel otočení, které nastane při teplotě t °C průchodem monochromatického světla destičkou tloušťky 1 mm. U kapalných látek a roztoků se vztahuje na tloušťku vrstvy 1 dm.

Polarimetrické přístroje

Polarimetry jsou optické přístroje pro přesné měření úhlu otočení kmitové roviny lineárně polarizovaného monochromatického světla. V každém přístroji jsou dvě hlavní části: polarizátor (nikol), kde vzniká polarizované světlo a analyzátor, kde se měří úhel otočení. Mezi ně se vkládá opticky účinná látka nebo její roztok v trubici.

Takto jednoduše je zařízen Biotův polarimetr (obr. č. 12.20.).



Obr. č. 12.20.: Schéma Biotova polarimetru. 1 - polarizátor, 2 - polarizační trubice, 3 - analyzátor, 4 - stupnice, 5 - okulár

Jsou-li polarizátor a analyzátor u tohoto přístroje v rovnoběžné poloze, je zorné pole úplně světlé. Jsou-li ve zkřížené poloze, je zorné pole úplně tmavé. Vložíme-li mezi nikoly v poloze rovnoběžné opticky činnou látku, zorné pole se poněkud zatemní a je třeba otočit analyzátozem, na jehož objímce je kotouč úhlové stupnice o jistý úhel, abychom dosáhli původní světlosti zorného pole. Příslušný úhel je mírou optické otáčivosti aktivní látky. Světlost Biotova přístroje je malá a kromě toho zjišťování jen podle světlosti celého zorného pole je nepřesné.

Ke zvýšení přesnosti odečítání je monochromatické světlo vystupující z polarizátoru rozděleno (např. malým nikolem postaveným v polovině zorného pole) na dva svazky, jejichž kmitové roviny svírají tzv. polostínový úhel. Tak je rozděleno pole kruhového polarimetru s polostínovým zařízením na dvě poloviny různé světlosti. Z úhlu, o který je třeba otočit analyzátor, aby bylo dosaženo stejného zastínění obou polí, ze známé specifické otáčivosti opticky činné látky a délky trubice se vypočítá obsah opticky činné látky v roztoku.

Polarimetry, kde analyzátor je pevně spojen s noniem, jímž se odečítají úhly na kruhové stupnici dělené v kruhových stupních, jsou polarimetry kruhové. Aby se vyloučil vliv vlnové délky použitého světla (zdroje) na pozorování, který se projevuje při složeném (polychromatickém) světle při otáčení analyzátozem střídáním barev (rotační disperze), je nutno u kruhových polarimetrů používat monochromatické světlo (nejčastěji sodíkové výbojky). Pro pohodlnější práci při denním (složeném) světle byly pro rozbory sacharózy zkonstruovány polarimetrické přístroje zvané sacharimetry.

Hlavní rozdíl je ve způsobu kompenzace optické aktivity. Analyzátor není otočný a měření se provádí kompenzačním zařízením. Je to souprava levotočivých křemenných klínků a pravotočivé křemenné destičky v optické rovnováze, vložená mezi trubici a analyzátor. Měření se provádí vsouváním pohyblivého levotočivého klínku. Tím je kompenzována pravotočivost různě koncentrovaných roztoků sacharózy. Posun klínku je řízen mikrometrickým šroubem spojeným s lineární empirickou stupnicí 100 dílkovou ve stupních Ventzkeových ($^{\circ}\text{V}$). Při navážce "normálního množství" vzorku (26,02 g/100 ml) polarizovaného ve 2 dm trubici odpovídají $^{\circ}\text{V}$ přímo % sacharózy. Ventzkeho stupnici je možno nanést na kruh, při čemž $100^{\circ}\text{V} = 34,69^{\circ}$ kruhových při 20°C pro sodíkové světlo. Práci při bílém světle umožňuje ta okolnost, že rotační disperze křemene je téměř stejná jako u nepříliš koncentrovaných roztoků sacharózy. Proto křemenným kompenzátozem vyrovnáme jak optickou aktivitu, tak i složíme otáčením rozložené polarizované polychromatické světlo.

Využití polarimetrie v analytické chemii

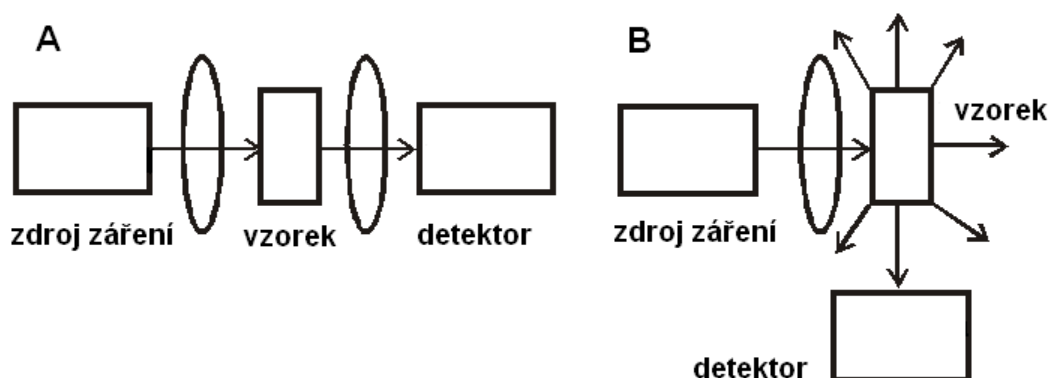
Polarimetrie je možno stanovit kteroukoliv opticky činnou látku. V praxi se nejvíce používá v analytice cukrů (cukrovarnictví, potravinářství, lékařství, zemědělství aj.). Výhodou je možnost přímého stanovení opticky aktivní látky ve směsi s neaktivními látkami. Nevýhodou je aditivnost optické aktivity při stanovení dvou nebo více opticky aktivních látek vedle sebe. Avšak i tu je možnost specifickými reakcemi zrušit nebo změnit aktivitu jedné složky (např. při stanovení glukózy a sacharózy vedle sebe se stanoví nejdříve celková optická aktivita a po hydrolýze sacharózy se změří aktivita změněná a z rozdílu se vypočtou složky).

12.4.3. Turbidimetrie a nefelometrie

Turbidimetrie a nefelometrie jsou analytické metody založené na měření rozptylu světla částicemi suspendovanými v kapalině (sraženiny nebo koloidní částice). Tyto metody využívají sledování Tyndallova jevu. Rozdíl je ve způsobu měření: v turbidimetrii se měří intenzita záření prošlého roztokem, tedy nerozptýleného. Detektor záření je umístěn ve směru procházejícího záření. V nefelometrii se sleduje intenzita záření rozptýleného částicemi, proto se měří ve směru kolmém na původní směr záření.

Obě metody slouží k určování koncentrace suspendované látky ve vzorku. Ke stanovení se využívá kalibrační křivky; při přípravě kalibračních standardů je nutné přesně dodržovat všechny požadované podmínky, aby vznikající suspendované částice měly vždy stejný tvar a velikost. Tyto vlastnosti totiž výrazně ovlivňují rozptyl světla. Postup měření je obdobný jako v případě absorpčních spektrometrických metod a fluorimetrie (obr. č. 12.21.).

Turbidimetrie je vhodná zejména pro měření vzorků s velkým obsahem suspendovaných částic, zatímco nefelometrie slouží ke stanovení látek přítomných v malé koncentraci. V praxi se obě metody používají k měření kapalných a plynných vzorků. Běžné je jejich využití například v klinických laboratořích, vhodné jsou též při sledování znečištění vzduchu a vod. Typickou aplikaci turbidimetrie (respektive nefelometrie) je stanovení síranů po jejich vysrážení ve formě obtížně rozpustného BaSO_4 .



Obr. č. 12.21.: Schéma turbidimetru (A) a nefelometru (B)

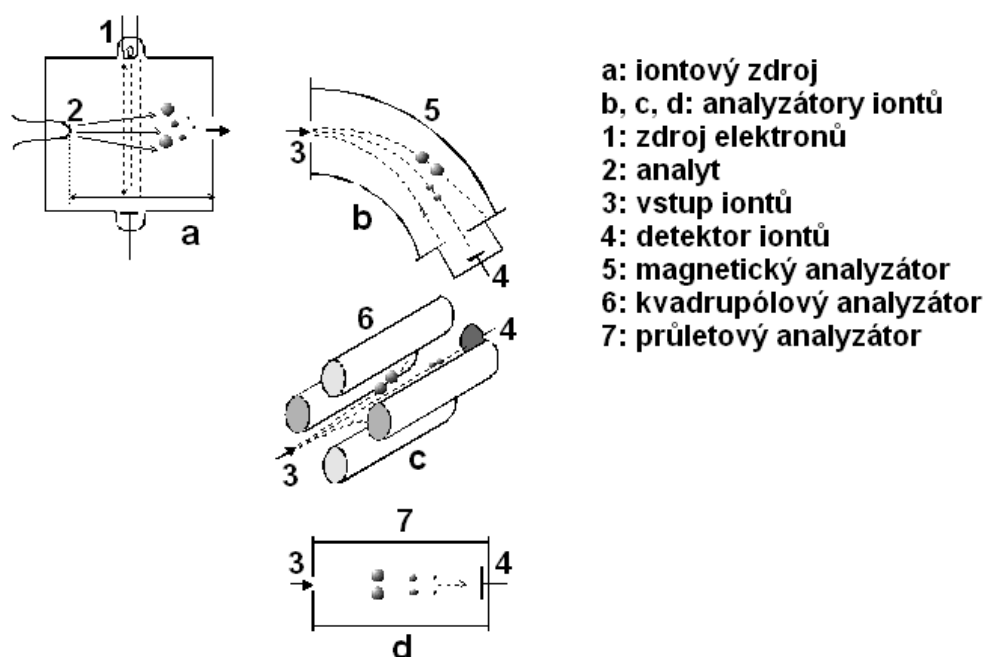
13. Hmotnostní spektrometrie

13.1. Princip

Hmotnostní spektrometrie je založena na ionizaci molekul nevratným odštěpením valenčních elektronů. Takto vzniklé tzv. molekulové ionty a jejich dalším štěpením vzniklé fragmenty, jsou separovány podle tzv. efektivní hmotnosti m/e (m je hmotnost iontu, e jeho náboj), a po dopadu na detektor je určeno jejich množství. Hmotnostní spektrum představuje závislost četnosti jednotlivých iontů na jejich efektivní hmotnosti.

13.2. Instrumentace

Hmotnostní spektrometr sestává ze tří hlavních částí: iontový zdroj (ionizační komora), disperzní prvek (separátor, analyzátor) a detektor. Dalšími součástmi hmotnostních spektrometrů jsou dávkovací zařízení, iontová optika, registrační zařízení, řídicí počítač nebo mikroprocesor a pumpy sloužící k evakuování aparatury. Obecné schéma hmotnostního spektrometru je uvedeno na obr. č. 13.1.



Obr. č. 13.1.: Obecné schéma hmotnostního spektrometru

13.2.1. Iontový zdroj

V iontovém zdroji dochází k tvorbě kladně nabitých molekulárních iontů a jejich fragmentů. K ionizaci může dojít nárazem elektronů, působením elektrostatického pole nebo chemickou ionizací. Podle množství dodané energie je obvyklé dělit ionizační techniky na tzv. měkké a tvrdé. Při měkkých technikách ionizace je energetický přebytek dodaný molekule malý a

pravděpodobnost fragmentace je nízká. Při tvrdých technikách naopak dodaná energie postačuje k rozsáhlejší fragmentaci primárně vzniklého iontu.

Nejčastějším způsobem ionizace je náraz pomalých elektronů. Iontový zdroj tvoří komůrka, ve které ve vakuu protéká proud elektronů mezi žhavenou katodou a anodou o energii 10–70 eV. Dopadem elektronu se vyrazí z molekuly látky obvykle jeden elektron a vznikne molekulový ion podle rovnice:



Jestliže má vzniklý molekulový ion nadbytek vnitřní energie, získané z ionizačního zdroje, rozpadne se za vzniku kladně nabitého ionizačního fragmentu a neutrální částice. Rozpad pokračuje tak dlouho, dokud vzniklý fragment obsahuje přebytek energie. V praxi obvykle dochází k jednoduché ionizaci, tedy ke vzniku iontů s jedním nábojem. Může však dojít i k dvojnásobné či vícenásobné ionizaci. Stupeň fragmentace závisí na hodnotě energie ionizujících elektronů. Ionizace nárazem elektronů se řadí mezi tvrdé ionizační techniky.

Příkladem běžně používané měkké ionizační techniky z plynné fáze je tzv. chemická ionizace. Primárním zdrojem energie je zde podobně jako v předchozím případě proud urychlených elektronů. Jejich energie však není přenášena na analyzovanou látku přímo, ale prostřednictvím reakčního media. Reakční medium (obvykle methan) je přítomno v ionizační komůrce pod relativně vysokým tlakem (50–150 Pa). Po zavedení vzorku do tohoto prostředí dojde k přenosu protonu z reakčních kationtů (vzniklých primární ionizací methanu - CH_5^+ , C_2H_5^+) na neutrální molekulu za vzniku kationtu MH^+ . Ion MH^+ s relativní hmotností o jednotku vyšší než hmotnost molekuly před ionizací bývá označován jako kvasi-molekulární ion.

Ionizace elektrickým polem je příkladem méně běžného způsobu měkké ionizace z plynné fáze, kdy k vytržení valenčního elektronu z ionizované molekuly dojde působením nehomogenního elektrického pole vytvořeného mezi ostrým hrotem pracovní elektrody a výstupní štěrbinou iontového zdroje. Podmínkou je zde vysoká intenzita pole v okolí pracovní elektrody (10^7 V.cm^{-1} a vyšší).

K ionizaci z kondenzované fáze lze použít elektromagnetické záření o dostatečné intenzitě a vhodné vlnové délce. Jako zdroje záření se běžně používají lasery pracující v infračervené, popřípadě viditelné části spektra (Nd-YAG laser, dusíkový laser). Technika se označuje jako desorpční fotoionizace (MALDI - matrix assisted laser desorption ionization). Ve spojení s průletovým hmotnostním analyzátozem se využívá pro analýzu biopolymerů.

Mezi měkké ionizační techniky z kondenzované fáze lze dále zařadit ionizaci ostřelováním vzorku rychlými atomy (Ar, Xe) a ionizaci rychlými ionty - tzv. hmotnostní spektrometrii sekundárních iontů. Obě techniky nacházejí uplatnění při analýzách teplotně nestálých makromolekulárních látek.

Mezi měkké ionizační techniky z kapalné fáze se řadí sprejové ionizace. Současné přístroje nejčastěji využívají termosprej (TS) a elektrosprej (ES). Uvedené přístupy se od sebe liší způsobem rozprašování kapalné fáze se vzorkem. Převodu iontů z kapalné fáze přímo do vakua hmotnostního spektrometru je dosaženo rychlým odsušením mikrokapiček spreje. Pokud je tento děj dostatečně rychlý, pak povrchový náboj kapiček stačí k převodu iontů

z roztoku do vakua bez nutnosti dodání další energie. Obě sprejové techniky vyžadují neustálý přívod kapalné fáze, velmi dobře se proto uplatňují při spojení MS s průtokovými analytickými metodami, zejména vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).

13.2.2. Separace iontů (disperzní prvek)

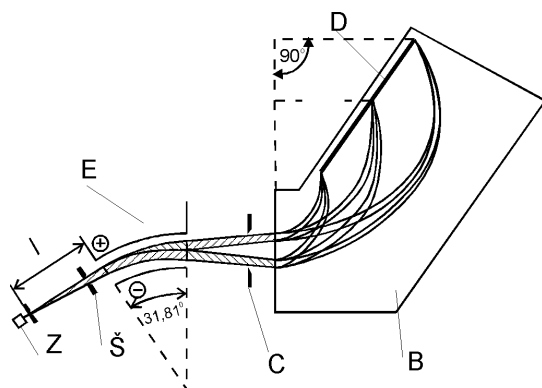
Z ionizační komory vstupují částice do elektrostatického urychlovače iontů a z něho do separátoru iontů, kde dochází k rozdělení iontů podle jejich efektivní hmotnosti. K tomuto účelu se využívají interakce iontů s magnetickým a elektrickým polem, případně různé rychlosti iontů různé hmotnosti.

a) Analyzátor magnetický

Rozdělení iontů v homogenním magnetickém poli je nejstarším postupem. Ionty z izolovaného zdroje jsou urychleny elektrickým polem a po průchodu štěrbinou prochází částice homogenním magnetickým polem. Na nabitou částici působí v magnetickém poli dostředivá síla úměrná intenzitě tohoto pole a tím dochází k zakřivení drah letících částic. Při určité konstantní hodnotě intenzity magnetického pole a urychlujícího napětí je poloměr zakřivení dráhy úměrný efektivní hmotnosti částice. Za těchto podmínek mohou projít výstupní štěrbinou analyzátoru pouze ionty s jedinou určitou hodnotou m/e . Ostatní ionty zůstávají odcloněny. Hmotnostní spektrum získáme postupným měřením v určitém rozsahu intenzit magnetického pole. Výše uvedené uspořádání se nazývá jednoduchou fokusací.

b) Analyzátor s dvojitou fokusací

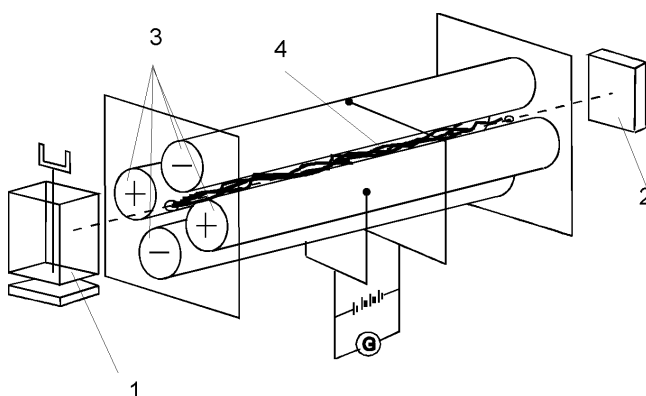
Snaha o zvýšení rozlišovací schopnosti spektrometrů vedla k vývoji přístrojů s dvojitou fokusací. Nevýhodou jednoduché fokusace je skutečnost, že ionty o stejné efektivní hmotnosti mohou mít různou energii, což neumožňuje dosažení vysoké rozlišovací schopnosti analyzátoru. Je proto žádoucí získat nejprve částice o stejné energii a ty pak separovat. K dosažení tohoto cíle se používá elektrostatický sektor, předřazený magnetickému separátoru. Elektrostatický sektor je tvořen dvěma zakřivenými kovovými deskami, na které je vložen elektrický potenciál a které fungují jako válcový kondenzátor s nehomogenním elektrickým polem. Na výstupní štěrbinu elektrostatického sektoru jsou fokusovány ionty s různými efektivními hmotnostmi, ale se stejnou kinetickou energií (ostatní ionty jsou zachyceny). Do magnetického sektoru vstupuje monoenergetický svazek iontů, což umožňuje podstatným způsobem zvýšit rozlišovací schopnost spektrometru. Zařízení využívající kombinace elektrického a magnetického sektoru jsou označovány jako přístroje s dvojitou fokusací (obr. č. 13.2.).



Obr. č. 13.2.: Schéma hmotnostního spektrometru s dvojí fokusací podle Mattaucha a Herzoga
 Z - iontový zdroj, Š - štěrbina, E - pole elektrostatického analyzátoru energie,
 C - energetická clona, B - pole magnetického analyzátoru impulzů, D - detektor

c) Analyzátor kvadrupólový

Jedná se o nemagnetický analyzátor, kde dochází k separaci iontů ve vysokofrekvenčním elektrickém poli. Je sestaven ze čtyř tyčí kruhového průřezu, které jsou symetricky rozloženy kolem společné podélné osy (obr. č. 13.3.).



Obr. č. 13.3.: Kvadrupólový analyzátor

1 - iontový zdroj, 2 - detektor, 3 - elektrody, 4 - pohyb iontů

Na tyče je vloženo stejnosměrné napětí se superponovanou vysokofrekvenční složkou tak, že vždy dvě protilehlé tyče jsou na společném potenciálu. Ionty se pohybují v dlouhém poli, které má dvě složky, statickou a vysokofrekvenční. Za určitých podmínek se v poli separátoru pohybují po stabilní dráze pouze ionty s určitou hodnotou m/e , zatímco ostatní vykonávají oscilace, až dopadnou na některou z elektrod nebo na clonku na konci analyzátoru.

Kvadrupólové analyzátory jsou v současné době široce užívány jako detektory při spojení hmotnostní spektrometrie s plynovou (GC-MS) nebo vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC-MS).

d) Průletový analyzátor (TOF - time of flight)

Tento typ analyzátoru je nejjednodušším hmotnostním analyzátozem, v principu je tvořen pouhou evakuovanou trubicí. K časovému rozdělení iontů s různým poměrem m/z dochází na základě jejich odlišné doby letu z iontového zdroje do detektoru. Ionty s odlišným m/z vystupující z iontového zdroje mají při stejné kinetické energii rozdílnou rychlost. Hmotnější ion se pohybuje nižší rychlostí a dorazí do detektoru později. Průletový analyzátor vyžaduje použití iontového zdroje pracujícího v pulsním režimu.

13.2.3. Detektory

K detekci iontového proudu se obvykle používá elektronový násobič. Jiným typem detektoru je scintilační krystal. Hmotnostní spektrometry jsou obvykle vybaveny systémem pro vyhodnocování a zpracování dat.

13.3. Analytické využití

Hmotnostní spektrometrie se nejvíce využívá ve strukturní analýze a k identifikaci chemických individuů. Rozborem hmotnostního spektra získáme informace o funkčních skupinách v molekule analyzované látky. V hmotnostním spektru jsou linie o určité efektivní hmotnosti, které jsou charakteristické pro jednotlivé skupiny v důsledku jejich specifické fragmentace.

Hmotnostní spektrometrie má velký význam i v kvantitativní analýze, zejména organických látek. Aplikace hmotnostní spektrometrie v kvantitativní analýze je založena na skutečnosti, že existuje lineární vztah mezi iontovým proudem (relativní intenzitou linie příslušného iontového fragmentu) a koncentrací látky, při čemž iontové proudy jednotlivých složek se vzájemně neovlivňují. Významnou aplikací je spojení hmotnostní spektroskopie s plynovou nebo kapalinovou chromatografií, kde se hmotnostní spektrometr používá jako detektor pro stanovení látek, rozdělených chromatografií. Složka, oddělená ze směsi v chromatografu, vstupuje do iontového zdroje hmotnostního spektrometru. Identifikace sloučenin pomocí hmotnostního spektra je poměrně snadná. Kritériem bývají hmotnosti nejčastějších iontových druhů v pořadí podle četnosti. Jde-li o sloučeniny, jejichž spektra jsou obsažena v některém katalogu (je to asi 20 000 sloučenin) je předběžné přiřazení struktury i u složitých molekul poměrně snadné.

Významné je rovněž spojení ICP spektrometru s hmotnostním spektrometrem (ICP-MS). V tomto spojení slouží plazmový hořák jako zdroj iontů, které jsou separovány a detekovány v hmotnostním spektrometru. Tato kombinace dnes představuje jednu z nejcitlivějších metod k analýze prvků.

14. Metody průtokové analýzy

Metody průtokové analýzy lze rozdělit podle následujícího přehledu:

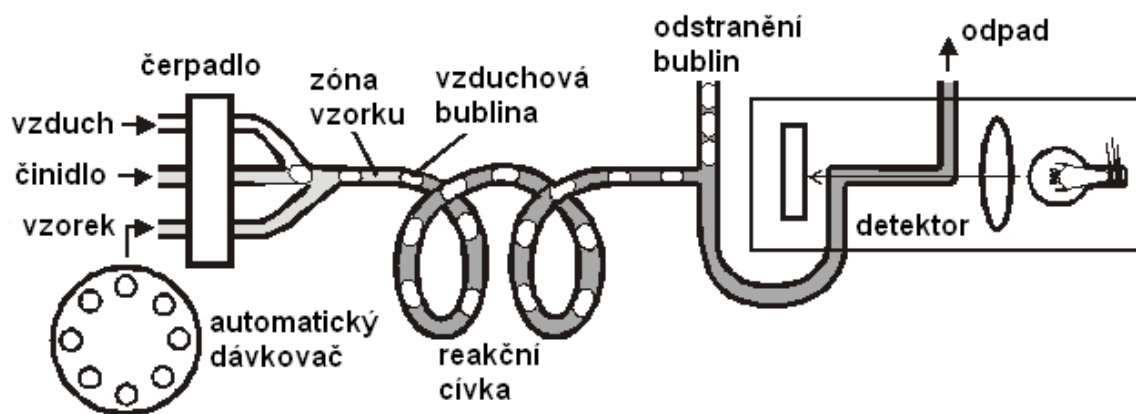
- přímé měření - analyzovaný roztok je odvětven z proudu vzorku
- metody kapalinové chromatografie - stanovení po předchozí separaci
- kontinuální průtoková analýza (CFA)
- segmentovaná průtoková analýza (SFA)
- průtoková injekční analýza (FIA)
- sekvenční injekční analýza (SIA)

Tyto metody obecně odstraňují fázi odměřování objemu vzorku (pipetování). Charakteristická je pro ně rychlost analytického procesu a možnost automatizace (sériové analýzy). Obvykle lze dosáhnout miniaturizace aparatury, z čehož vyplývá hospodárnost stanovení, možnost omezení kontaktu pracovníků s toxickými látkami a rozpouštědly, rovněž nižší riziko kontaminace životního prostředí zmíněnými látkami. Jistou nevýhodou běžných průtokových metod je jejich relativně malá flexibilita.

Detektory používané v metodách průtokové analýzy jsou podobné jako detektory používané v metodě vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Velmi oblíbené jsou detektory optické: UV/VIS spektrometrické, fluorimetrické nebo refraktometrické. U spektrometrických detektorů je požadována optická délka vyhovující s ohledem na citlivost stanovení, měření se provádí v průtokových kyvetách. Jako detektor lze s úspěchem použít atomový absorpční spektrometr, plamenový fotometr či ICP-AES. Mezi používané elektrochemické detektory patří zejména amperometrický detektor, rovněž detektory coulometrické a konduktometrické. Optické detektory poskytují signál zprůměrovaný přes celou optickou dráhu. Elektrochemické detektory naopak obvykle poskytují informace o nejbližším okolí elektrody.

14.1. Kontinuální průtoková analýza (CFA)

V metodě kontinuální průtokové analýzy je vzorek kontinuálně přiváděn do proudu reagentu a analytický signál se odečítá v ustáleném stavu. Roztoky (vzorku i činidel) se čerpají pomocí peristaltické pumpy. K zavádění vzorků do aparatury může sloužit automatický dávkovač, nebo mohou být vzorky zaváděny manuálně ponořením přívodní trubičky do roztoku. Současně je vždy možné čerpat větší množství roztoků činidel, aparatura pro průtokové uspořádání experimentu může být zkonstruována podle potřeby daného stanovení. Promíchávání roztoků vzorku a reagentů bývá dosaženo pomocí vhodné konstrukce průtokového reaktoru (reakční cívky) na základě turbulentního proudění kapaliny. Nevýhodou CFA uspořádání bývá pulzování toku a obtížnější dosažení reprodukovatelného zavádění vzorků (ve srovnání s průtokovou injekční analýzou). Schéma aparatury pro kontinuální průtokovou analýzu je uvedeno na obr. č. 14.1.



Obr. č. 14.1.: Schéma aparatury pro kontinuální průtokovou analýzu

14.2. Průtoková injekční analýza (FIA)

V průběhu analýzy jsou malé objemy vzorků postupně injektovány pomocí dávkovacího ventilu s vyměnitelnou smyčkou do proudu činidla. Získaný signál má tvar nesymetrického píku. Při měření v režimu FIA není dosaženo ustáleného (rovnovážného) stavu, využívá se zde disperze vzorku za kontrolovaných podmínek. Vyhodnocovat lze obecně výšku píku, plochu píku nebo šířku píku ve zvolené výšce. Měření se provádí po předchozím uskutečnění chemické reakce v průtokovém reaktoru. Homogenní míchání činidel a dosažení chemické rovnováhy zde není nezbytné, avšak vlastní měření musí být vždy provedeno za stejných experimentálních podmínek. Do FIA aparatury může být zařazena kolonka s iontoměničem, extrakční, dialyzační nebo prekoncentrační jednotka. Měření v režimu FIA může být zcela automatizováno, náklady na provedení analýzy bývají nízké. Schéma aparatury pro průtokovou injekční analýzu je uvedeno na obr. č. 14.2.



Obr. č. 14.2.: Schéma aparatury pro průtokovou injekční analýzu

Tabulka 14.1.: Srovnání metod CFA a FIA

Sledovaný parametr	CFA	FIA
Dávkování vzorku	nasávání	nástřík
Objem vzorku	0,2–2,0 ml	10–100 µl
Doba odečtu signálu	řádově minuty	řádově sekundy
Preciznost měření	1–2 %	1–2 %
Počet analýz za čas	≤ 80 vzorků / hodina	≤ 300 vzorků / hodina
Spotřeba činidel	vysoká	nízká
Promývání aparatury	je nutné	není nutné
Detekce	v rovnovážném stavu	v konstantním čase
Vyhodnocení	výška	výška, plocha, šířka
Citlivost	vyšší oproti FIA	nižší oproti CFA

14.3. Segmentovaná průtoková analýza (SFA)

Metoda segmentované analýzy je zdokonalenou, pokročilou modifikací metody CFA. Do proudu nosného roztoku jsou mezi vzorky zpracovávanými v režimu kontinuální průtokové analýzy zaváděny vzduchové bublinky, které omezují kontaminaci vzorku předchozími vzorky a mají za následek eliminaci překryvu signálů po sobě následujících vzorků.

14.4. Sekvenční injekční analýza (SIA)

SIA představuje automatizovaný přístup ke zpracování vzorků umožňující plně nahradit manuální procesy zahrnuté v tradičních analytických postupech rychlým, přesným a účinným způsobem. Automatizované zpracování vzorků je řízeno počítačem, pracuje se s úzkými zónami vzorků za podmínek kontrolované disperze v úzkých trubičkách. Metoda SIA byla odvozena od FIA, obě metody jsou si podobné, avšak SIA evidentně představuje samostatný přístup k analýze v průtokovém uspořádání. Dávkovací ventil s vyměnitelnou smyčkou je zde nahrazen selekčním ventilem umožňujícím dle počítačového programu zavádět do aparatury velké množství různých roztoků činidel a vzorků. Jako čerpadlo se zde nejčastěji používá mikropístová pumpa poháněná přesným krokovým motorem. Aparatura je doplněna vedle reakční cívky o cívku sloužící v součinnosti se selekčním ventilem k zavedení zóny vzorku do aparatury. Již při nasávání vzorku do této cívky dochází k disperzi vzorku. Obrácení toku kapaliny, ke kterému dochází v okamžiku čerpání vzorku směrem k detektoru, výrazně přispívá k promíchávání vzorku s nosným roztokem a roztoky činidel. Při změně schématu dávkovaných chemikálií (jiné analytické stanovení) není nutný zásah do konstrukce aparatury jako v režimu FIA, ale stačí pouze změnit počítačový program ovládající SIA aparaturu.

15. Metody laserové spektroskopie

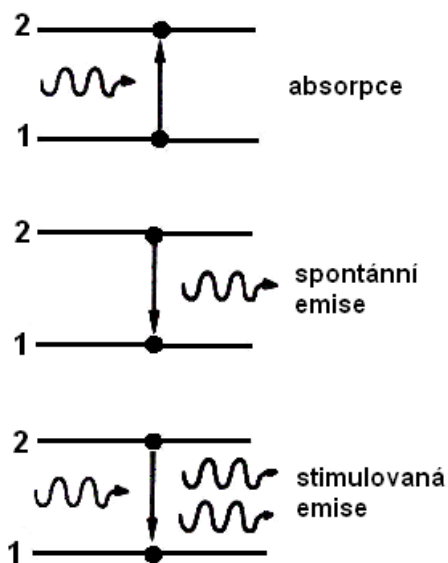
Laser je zkratkou „Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“ (zesilování světla stimulovanou emisí záření). První laser (rubínový) byl zkonstruován v roce 1960 (T. Maiman), pojem stimulované emise však byl definován mnohem dříve (1917). Ke stimulované emisi dochází, jestliže s excitovaným systémem interaguje foton o energii rovné rozdílu vhodných energetických hladin. Systém následně opouští dva fotony; jeden je původní, druhý je vyzářen díky interakci systému s prvním fotonem (dochází k zesílení). Energetické přechody v dvouhladinovém systému jsou znázorněny na obr. č. 15.1. Po opuštění systému jsou oba fotony nerozlišitelné - mají stejný směr, energii, fázi a polarizaci. Pravděpodobnost procesu stimulované emise může být vyjádřena vztahem:

$$P = N_2 \cdot B_{21} \cdot \sigma_v$$

N_2 ... hustota částic na energetické hladině 2

B_{21} ... koeficient stimulované (vynucené) emise

σ_v ... spektrální hustota fotonů (spektrální intenzita záření o frekvenci ν)



Obr. č. 15.1.: Energetické přechody v dvouhladinovém systému

Má-li být zesilováno záření v optické části spektra, musí být porušena termodynamická rovnováha, je nutné zasáhnout do distribuce energetických hladin. Prostředí schopné zesilovat záření v optické části spektra se nazývá aktivní prostředí - prostředí s inverzní populací (vyšší hladina je více populována než hladina nižší). Pro dosažení dostatečného zesílení se využívá mnohonásobného průchodu záření aktivním prostředím v dutině rezonátoru (pomocí zrcadel). Jedno zrcadlo bývá polopropustné a umožňuje vyvážení části energie mimo rezonátor v podobě vysoce koherentního svazku elektromagnetického záření. Inverzní populace se dosahuje optickým buzením, pomocí elektrického výboje v plynech, pomocí exotermické chemické reakce nebo injektováním elektrického proudu na p-n přechod polovodiče.

15.1. Základní vlastnosti laserového záření

Základní vlastností laserového záření je jeho mimořádná monochromatická. Toto záření je dále vysoce koherentní (schopné interferovat při vzájemných časových posunech emitovaného záření), jednotlivé fotony jsou stejně polarizované. V neposlední řadě je nutné zmínit vysokou intenzitu laserového záření. Podle časového průběhu záření se lasery dělí na kontinuální a pulsní. Podle materiálu aktivního prostředí lze lasery rozdělit do následujících skupin:

1. Pevnolátkové lasery - nosný skelet s ionty příměsí (rubínový laser, neodymový laser)
2. Plynové lasery (He-Ne laser, CO₂ laser, argon-iontový laser, excimerové lasery)
3. Polovodičové lasery - laserové diody (galium arsenidový laser)
4. Kapalinové lasery (barvivové lasery - rhodamin, stilben, kumarin)
5. Laser s volnými elektrony (svazek elektronů procházející mezi sadou magnetů)

15.2. Příklady běžně využívaných laserů

Jedním z nejstarších, avšak doposud hojně užívaných laserů, je rubínový laser. Jde o pevnolátkový laser tvořený krystalem Al₂O₃ s příměsí iontů Cr³⁺. Množství iontů Cr³⁺ se pohybuje v setinách procent. Hlavní vlnové délky emitovaného záření leží při 694,3 a 692,9 nm. Rubínový laser se často používá k lékařským účelům. Využívá se rovněž ke generaci mikroplazmatu pro účely mikroanalýzy.

Dalším významným pevnolátkovým laserem je laser neodymový (Nd:YAG laser). Jak název napovídá, součástí aktivního prostředí tohoto laseru jsou ionty Nd³⁺. Jako nosné medium slouží yttrium aluminiový granát (Y₃Al₅O₁₂). Základem laseru jsou zde energetické přechody v neodymu. Generované záření má nejčastěji vlnovou délku 1064 nm (infračervená oblast). Neodymový laser je možné provozovat v kontinuálním i pulsním režimu.

Nejnámějším plynovým laserem je helium-neonový laser využívající energetických přechodů v neonu. Helium zde slouží jako příměs budící při srážce horní laserovou hladinu neonu. Základní laserový přechod je zde jasně červený (632,8 nm). Největší zesílení má infračervený přechod (3,39 μm). He-Ne laser pracuje s výbojovou trubicí i bez chlazení jako kontinuální laser. Rozměry celého zařízení lze vhodně miniaturizovat. Tento laser může sloužit jako zdroj záření pro spektrometrické aplikace.

Dalším příkladem plynového laseru je argon-iontový laser. Laserové přechody zde leží na vysoce excitovaných hladinách iontů plynu. Pracovní plyn je nejprve nutné ionizovat, poté se vybudí horní laserová hladina. Argon-iontový laser vyžaduje velmi intenzivní chlazení. Nejintenzivnější linie laseru leží při 514,5 nm a 488,0 nm. Argonový laser patří i přes svoji technologickou náročnost k základním laserům. Jde o nejvýkonnější laser ve viditelné a UV spektrální oblasti. Lze jej použít k buzení dalších laserů. Významnou aplikací je použití k přímé excitaci pro fluorescenční účely. Podobně jako argon-iontový laser lze provozovat i kryptonový laser.

Samostatnou skupinu plynových laserů využívajících tzv. excitovaných dimerů tvoří lasery excimerové. Excitovaným dimerem je například Xe₂^{*}, XeF^{*}, XeCl^{*}, KrF^{*} nebo ArF^{*}. Aktivní prostředí je charakterizováno přechodem mezi vazebným a repulzním stavem. Excimerový laser může pracovat pouze v pulsním režimu. Buzení tohoto laseru se provádí

elektrickým výbojem. Běžné excimerové lasery generují záření výhradně v UV oblasti. Tyto lasery se často používají pro buzení laditelných laserů. Jejich významnou analytickou aplikací je použití v Ramanově nebo fluorescenční analýze. Excimerové lasery nalézají uplatnění rovněž v medicíně.

CO₂ laser je nejznámějším molekulárním laserem. Jde o typický infračervený laser. Proces buzení zde probíhá pomocí doutnavého výboje. CO₂ laser je schopen kontinuální generace záření s vysokou účinností. Laser je laditelný přes jednotlivé rotačně vibrační přechody od 8 do 10 μm . Ladění laseru umožňuje jeho využití pro analytické účely.

Zástupcem pevnolátkových laserů pracujících v pulsním režimu je Ti-safírový laser. Využívá ionty Ti³⁺ v koncentraci kolem 0,1 % zabudované v safíru (Al₂O₃). Ti-safírový laser patří mezi nejvýznamnější typy laserů vhodné pro spektroskopické účely. Laser je laditelný v širokém rozsahu vlnových délek ve viditelné oblasti. Laditelnost laseru je umožněna interakcí energetických hladin Ti s vibronickými hladinami krystalové mříže.

Speciálním druhem laserů jsou lasery barvivové. Jde o laditelné zdroje koherentního záření pro viditelnou oblast. Aktivní prostředí je zde realizováno roztokem organického barviva (např. rhodamin G). Barvivové lasery jsou vhodné pro kontinuální i pulsní provoz. Využívaná organická barviva mají pásový charakter spektra umožňující laditelnost, šířka pásma barvivového laseru je 50 až 100 nm.

15.3. Nespektroskopické interakce laserového záření s hmotou

Laserový svazek zde slouží pouze jako iniciační zdroj pro další analytické zpracování. Působení laseru při přípravě vzorku je dáno jeho tepelným působením na analyt. Požadované hustoty výkonu laseru je možné dosáhnout volbou délky pulsu laserového záření a stupněm fokusace laserového svazku.

15.3.1. Částečné odpaření sorbovaných molekul bez tepelné fragmentace

Působení laseru v tomto případě vede ke vzniku plynného sekundárního vzorku. Ke zpracování sekundárního vzorku slouží jiná vhodná analytická metoda. Laserový svazek plní pouze funkci dávkovače.

15.3.2. Silné odpařování doprovázené chemickou ionizací v plynu

Odpařování vzorku doprovázené chemickou ionizací se využívá pro hmotnostní analýzu biologických vzorků. Laserovým svazkem je odpařena část vzorku, dochází k fragmentaci a ionizaci. Vytvořené ionty se separují v průletovém hmotnostním analyzátoru. Změnou energie budícího pulsu je možné měnit stupeň fragmentace vzorku.

15.3.3. Silný ohřev povrchu vzorku, termická ionizace, vznik plazmatu

Tento přístup se používá při analýzách povrchů tuhých látek. Optický svazek laseru se snadno fokusuje a nevyžaduje vakuum. Emisní spektrum plazmatu utvořeného laserem poskytuje informace o povrchu vzorku.

15.4. Laserová spektroskopie

Při spektroskopických analýzách dochází k přímé interakci laserového záření s kvantovými stavy částic. Základní vlastnost laseru významná pro spektrometrii je jeho mimořádná monochromaticnost. Pro spektrometrické účely je rovněž významný vysoký výstupní výkon některých kontinuálních laserů a velký špičkový výkon pulsních laserů. Mimořádně krátké délky laserových pulsů umožňují získat časově rozlišené údaje (např. postupné sledování fluorescenčního dohasínání). Mimořádná spektrální intenzita laserů umožňuje provádět analýzu na vzdálenost několika kilometrů při metodách dálkové detekce. Metody laserové spektrometrie se obvykle dělí na metody lineární a nelineární. Jestliže lze výsledek interakce vztáhnout na jeden foton, jedná se o lineární interakci a příslušná metoda je řazena mezi lineární spektroskopické metody. Jestliže dochází k současné účinné interakci více fotonů se vzorkem, jde o nelineární spektroskopickou metodu.

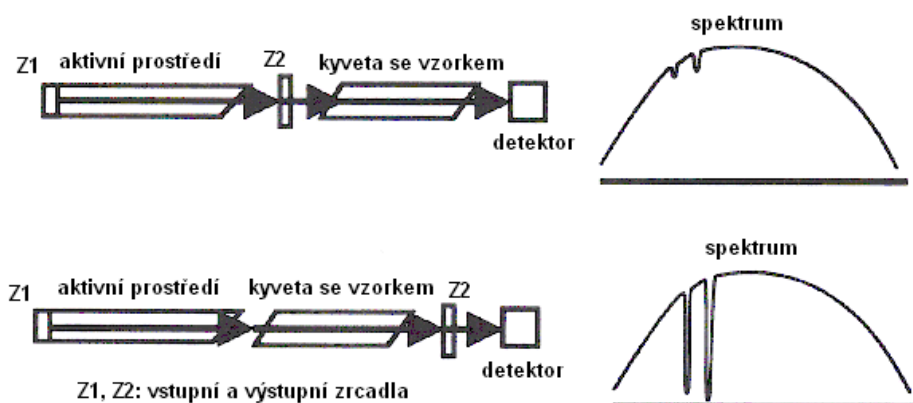
15.4.1. Lineární spektroskopické metody

15.4.1.1. Absorpční spektroskopie

Laserová absorpční spektroskopie je analogií tradičních absorpčních spektrometrických metod. Identifikace složení vzorku je založena na sledování úbytku záření po průchodu vzorkem, který je popsán Lambertovým-Beerovým zákonem. Laser vyniká mimořádnou monochromaticností emitovaného záření, selekce vlnových délek je tak zajištěna přímo u zdroje záření. Laserové záření je mimořádně intenzivní, poměr signálu k šumu je zde značně příznivý. Při použití multireflexní kyvety lze dosáhnout extrémně nízkých mezí detekce. Rychlost měření za použití laseru je větší než u klasických spektrometrů. Neuplatňuje se zde parazitní infračervené záření tepelného zdroje. Zdroj záření je možné oddálit od měrné kyvety (použití světlovodných vláken). Značná pozornost je věnována laserové spektroskopii v IR oblasti. Laserový spektrometr pracující v IR oblasti (polovodičový laditelný laser) umožňuje velmi přesně identifikovat spektrální čáry v IR oblasti (strukturní analýza).

15.4.1.2. Absorpční spektroskopie v dutině rezonátoru

Mezi zrcadlem rezonátoru a aktivním prostředím laseru je prostor využitelný pro spektroskopické účely, do něhož se vkládá kyveta se vzorkem. Jde o zvláštní způsob detekce, který vyniká mimořádnou citlivostí. Laserové záření prochází skrz kyvetu umístěnou uvnitř rezonátoru opakovaně. Výstupní parametry laseru jsou výrazně ovlivněny vnitřní absorpcí. Pro svoji citlivost je metoda absorpce uvnitř rezonátoru nejlépe využitelná k detekci nízkých koncentrací látek, zejména plynů. Spektroskopie uvnitř rezonátoru je vhodná především pro kvalitativní analýzu. Experimentální uspořádání a porovnání citlivostí klasické absorpční spektroskopie a spektroskopie s kyvetou umístěnou uvnitř rezonátoru znázorňuje obr. č. 15.2.



Obr. č. 15.2.: Uspořádání experimentu a porovnání citlivosti klasické absorpční spektroskopie a spektroskopie uvnitř rezonátoru

15.4.1.3. Laserem indukovaná fluorescence

Extrémně monochromatické laserové záření je schopné vstupovat do interakce s jediným absorpčním přechodem a excitovat tak jedinou energetickou hladinu. Výsledkem excitace jsou jednoduchá a přehledná spektra (ve srovnání s buzením fluorescence pomocí výbojky). Proces excitace je zde mimořádně účinný. Budící laserové záření bývá obvykle ultrafialové. Laserem indukovanou fluorescenci lze využít k detekci atomů i molekul. Obecně lze pomocí fluorescence detekovat plyny, páry, látky kapalně i pevně. Při účinném laserovém buzení lze dosáhnout mezní detekce jediného atomu. Použití laserem indukované fluorescence může sloužit jako velice citlivý HPLC detektor. Laserem indukovaná fluorescence patří mezi nejcitlivější analytické metody.

15.4.2. Nelineární spektroskopické metody

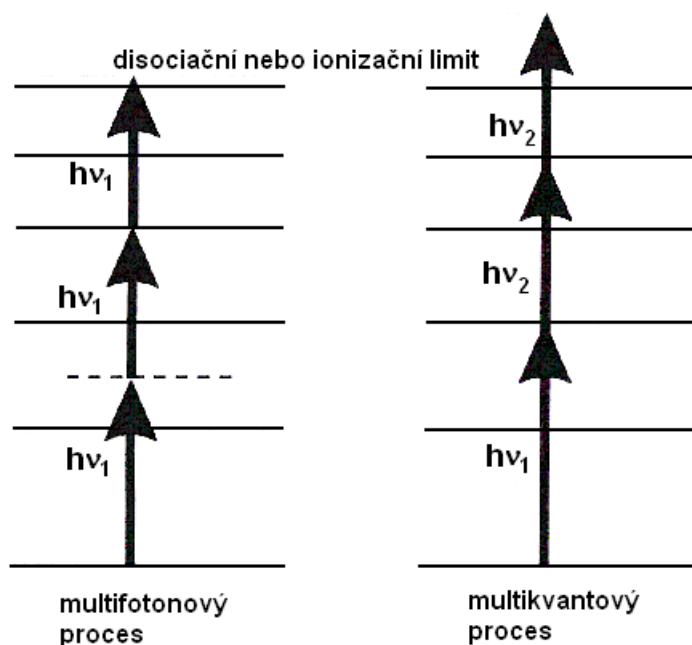
Nelineární spektroskopické metody jsou založené na současné absorpci více fotonů částicí vzorku. Při současné absorpci více fotonů se mění hodnota absorpčního koeficientu. Při interakci vzorku s velkým množstvím fotonů dojde ke zvýšení obsazení horní energetické hladiny a sníží se tím absorpce vzorku díky nasycení absorpčního přechodu. Dochází-li k nelineárním efektům, nelze použít Lambertův-Beerův zákon.

15.4.2.1. Dvoufotonová spektroskopie

Při zvýšení intenzity laserového záření (například použitím pulsního laseru) roste pravděpodobnost současné absorpce dvou fotonů. K dvoufotonové absorpci dojde tehdy, jestliže je částice atakována druhým fotonem ve chvíli, kdy se ocitla ve virtuálním stavu po interakci s prvním fotonem. Po interakci dvou fotonů s částicí je velká pravděpodobnost vybuzení hladiny, jejíž energie odpovídá součtu energií absorbovaných fotonů. Do vzorku se přivádějí dva laserové paprsky směřující proti sobě. Detekce se provádí pomocí fluorescence, fluorescenční signál je velmi intenzivní.

15.4.2.2. Vícefotonové a vícekvantové procesy

Multifotonový proces je takový proces, při němž dojde k pohlcení většího množství stejných fotonů (z jednoho zdroje). Při multikvantovém procesu dochází k excitaci pomocí fotonů s různou energií. Při současné absorpci více energetických kvant (fotonů) dochází k postupné excitaci vyšších a vyšších energetických hladin až k disociačnímu nebo ionizačnímu limitu. Ionizační proces je pro analytické účely mnohem výhodnější, neboť pro detekci zde může sloužit měření zvýšení vodivosti vzorku. Vybuzení molekul do ionizačního kontinua vyžaduje velkou hustotu fotonů laserového záření (používají se pulsní lasery). Multikvantové procesy nabízejí výhodnější využití laserového záření ve srovnání s procesy multifotonovými. Založeny jsou na postupné rezonanční excitaci jednotlivých hladin. Při vícekvantové fotoionizaci atomů je možné díky mimořádné ionizační účinnosti procesu a délce doby života iontů dosáhnout extrémní analytické citlivosti. V případě detekce molekul je možné použít kombinaci metod vícefotonové excitace (ionizace) a hmotnostní spektrometrie. Multifotonové a multikvantové metody jsou dosud předmětem výzkumu, každý experiment je budován podle představ a možností experimentátorů. Schémata multifotonového a multikvantového procesu jsou uvedena na obr. č. 15.3.



Obr. č. 15.3.: Multifotonové a multikvantové procesy

15.4.3. Lidarová dálková detekce (LIDAR - Light Detection and Ranging)

Jde o analyticky významnou metodu využívanou pro citlivou analýzu ovzduší pomocí laserového záření v otevřené atmosféře, která vlastně představuje kyvetu s velmi dlouhou optickou dráhou. Pro měření v otevřené atmosféře může být využito několika základních uspořádání experimentu.

15.4.3.1. Využití odrazu záření od instalovaného odražeče

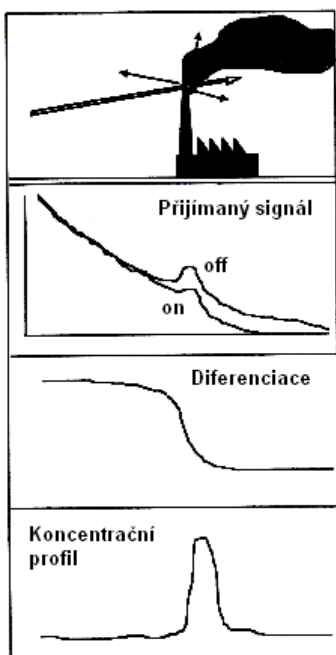
Paprsek je nasměrován do atmosféry, záření se vrací zpět po odrazu od odražeče (zrcadla). Tento odražeč bývá instalován několik set metrů až několik kilometrů od zdroje záření. Pro detekci se volí vlnové délky, kde neabsorbují základní atmosferické komponenty. Nejčastěji se měření provádí v infračervené spektrální oblasti 9–13 μm . Existují i proměřované oblasti v UV/VIS části spektra. V infračervené oblasti se detekují zejména vibrační hladiny molekulárních polutantů. V UV oblasti se využívá elektronových absorpčních přechodů atomů a molekul. Pro detekci záření není potřeba zvláštní detekční techniky. Jako laser lze používat i málo intenzivní polovodičové diody. Mez detekce se pohybuje v řádu ppb v závislosti na absorpčním koeficientu. Metoda je velmi jednoduchá a experimentálně nenáročná. Přijímaný signál zde přináší informaci o dění na celé optické dráze. Prostorové rozložení koncentrací polutantu nelze touto metodou určit.

15.4.3.2. Využití zpětného rozptylu na topografických překážkách

Vzhledem k tomu, že rozptyl na topografické překážce je všesměrový, lze pro detekci analytu využít část záření vracející se po odrazu od této překážky zpět ke zdroji záření. Nároky na přijímací optiku a elektroniku jsou zde však velmi vysoké. Pro měření se používají výkonné pulsní lasery. Přijímaný signál opět přináší informaci o dění na celé optické dráze. Výsledkem měření je střední koncentrace sledované látky na dráze laserového svazku. Metoda neumožňuje určit koncentrační shluky převyšující hodnotu střední koncentrace. Prostorové rozložení koncentrací polutantu touto metodou rovněž nelze určit.

15.4.3.3. Využití zpětného rozptylu na částicích aerosolů a atmosferických plynů

Metoda umožňuje vrátit laserový svazek zpět z atmosféry bez instalace pevných odražečů. Využívá se zde skutečnosti, že rozptyl záření na částicích aerosolů a atmosferických plynů je všesměrový. Část záření se tedy odráží zpět a simuluje zpětný odražeč rozložený po celé dráze. Po vyslání nanosekundového pulsu do atmosféry se část záření postupně vrací zpět. Časové zpoždění přijímaného záření je dáno dobou průletu světla k místu rozptylu. V místech koncentračních shluků vykazuje rezonanční (měrná) vlnová délka pokles intenzity ve srovnání s referenční vlnovou délkou. Metoda sledující koncentrační profil polutantu na dráze laserového svazku se obvykle označuje zkratkou DIAL - diferenční absorpční lidar. Laser používaný v metodě DIAL musí být schopen rychlého přeladění mezi rezonanční a referenční vlnovou délkou. Metoda lidarové dálkové detekce může být použita pro stanovení oxidů dusíku a síry. Kromě absorpce lze pro dálkovou detekci použít též laserem indukovanou fluorescenci. Pouze vysoká cena lidarů brání většímu rozšíření těchto výjimečných přístrojů. Princip metody diferenčního absorpčního lidarů je znázorněn na obr. č. 15.4.



Obr. č. 15.4.: Princip metody diferenciálního absorpčního lidarů. Sledují se časové průběhy přijímaných signálů od absorbované (on) a referenční (off) vlnové délky

16. Radioanalytické metody

16.1. Princip a rozdělení radioanalytických metod

Principem všech radioanalytických metod je stanovení látek na základě měření radioaktivního (ionizujícího) záření. Přitom může jít o měření interního záření, které vysílá stanovovaná složka, případně její radioaktivní izotopy, nebo o měření změn externího záření po dopadu na stanovovanou složku.

Radioaktivita je obecně schopnost atomového jádra měnit se v jádro jiného nuklidu odlišných vlastností a vysílat při této přeměně charakteristické záření. Proces přeměny jádra je samovolný a je doprovázen uvolněním energie. Hodnoty desintegračních energií se pohybují v řádu 0,1 až 10 MeV. Radioaktivní procesy se vyznačují specifickou energií, která je o 5 až 7 řádů větší než energie chemických a fyzikálních procesů nejaderné povahy. Radioanalytické metody jsou neobvykle citlivé, v extrémních případech umožňují detekci pouhých několika atomů stanovované látky. Radioaktivní proces není projevem určitého chemického prvku, nýbrž daného jaderného individua (nuklidu, izotopu).

Radioaktivní přeměna jednotlivého atomu nastává v určitém okamžiku spontánně jako náhodný jev. Při velkém počtu atomů lze odvodit pro počet atomů N v čase t vztah:

$$N = N_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

N_0 ... počet atomů v čase $t = 0$

λ ... radioaktivní (přeměnová) konstanta [s^{-1}]

K charakterizování radioaktivního procesu se často používá poločas rozpadu T . Pro poločas rozpadu lze napsat vztah: $T = \ln 2 / \lambda = 0,693 / \lambda$.

Počet atomů radioaktivní látky není obvykle přímo měřitelný. V praxi se využívá veličina aktivita. Absolutní aktivita vyjadřuje počet atomů přeměněných v jednotce času:

$$A = -dN / dt \quad (A = \Delta N / \Delta t)$$

Absolutní aktivita se vyjadřuje jako počet desintegrací za sekundu [s^{-1} , Bq].

Nejčastěji používané radioanalytické metody lze rozdělit do čtyř hlavních skupin:

- metody založené na přirozené radioaktivitě stanovované složky (stanovení draslíku, uranu, thoria atd.),
- indikátorové metody izotopového zředování, při nichž se k analyzovanému vzorku přidává umělý radionuklid stanovovaného prvku,
- metody aktivační analýzy, při nichž se indikuje radionuklid stanovovaného prvku, který vznikl jadernou přeměnou neaktivního nuklidu,
- metody založené na absorpci a rozptylu jaderného záření neaktivním materiálem.

16.2. Charakteristika radioaktivního záření a jeho měření

Záření α je proud heliových jader (He^{2+}), má vysokou energii, velkou ionizační schopnost, ale vzhledem k velké hmotnosti částic malou rychlost. Je silně absorbováno látkami, jeho dosah ve vzduchu je jen několik málo cm. Dosah záření α je pro daný zářič charakteristický. Záření β může být proud elektronů (β^-) nebo pozitronů (β^+) a nemá ani u téhož nuklidu jednotnou energii. Vykazuje spojité spektrum, v němž jsou zastoupeny všechny hodnoty energie od nulových hodnot až po hodnoty maximální. Ionizační schopnost částic β je podstatně menší než částic α (asi 4 %), jejich dosah několik metrů. Záření γ je elektromagnetické vlnění, které vzniká při přechodu excitovaných jader do normálního stavu. Šíří se rychlostí světla, je málo absorbováno látkami, také jeho ionizační schopnosti jsou malé (asi 1 % záření β).

S výjimkou scintilačních detektorů je většina detekčních a měřících postupů pro měření radioaktivního záření založena na primárních nebo sekundárních účincích ionizace, kterou záření vyvolává při svém průchodu hmotným prostředím.

Ionizační detektory jsou v podstatě kondenzátory s plynou náplní mezi elektrodami, na něž je vloženo napětí několik set voltů. Jakmile vnikne do prostoru mezi elektrodami radioaktivní záření, dojde k ionizaci plynu v tomto prostoru a vzniklé ionty putují v elektrickém poli kondenzátoru k elektrodám. Tím vznikne ionizační proud, jehož velikost je závislá na intenzitě a druhu radioaktivního záření. Pro měření se využívá oblasti tzv. nasyceného proudu, kdy ionizační proud není závislý na napětí vloženém na elektrody, ale je přímo úměrný množství iontů, vytvořených ionizujícím zářením. Ionizační proud vyvolává na velkém odporu potenciálový spád, který se měří.

Mezi ionizační detektory patří i Geiger-Müllerovy detektory, které se však v radiometrické analýze málo používají. U scintilačních detektorů dopad ionizujících částic nebo fotonů záření vyvolává záblesk viditelného záření. Takto vznikající záření dopadá na fotokatodu fotonásobiče, na němž vzniká impuls elektrického proudu, který je mnohonásobně zesílen a registrován počítačem pulsů. Intenzita záblesku je úměrná energii absorbované částice a je závislá rovněž na druhu scintilátoru. K detekci záření α se používá ZnS, pro záření β se používají organické polymery, které obsahují luminiscentní příměs. Pro detekci nízkoenergetického záření β se používají kapalně scintilátory. Záření γ je detekováno scintilačním počítačem, vybaveným jodidem sodným, aktivovaným thaliem.

Zvláštním typem scintilačního detektoru je spektrometr, ze kterého získáme spektrum záření, to znamená závislost četnosti impulsů na energii záření. Záznam tohoto spektra obsahuje píky, z jejichž polohy je možno posoudit druh jaderné reakce a z plochy píku obsah příslušného nuklidu.

Dalším typem detektorů jsou detektory polovodičové. Polovodičový materiál reaguje na dopad radioaktivního záření přechodem elektronu z valenčního pásma přes zakázaný pás do vodivého pásma, čímž se zvýší vodivost detektoru. Vzrůst vodivosti polovodiče se projeví v měřícím obvodu proudem, který je úměrný toku záření. Polovodičový detektor umožňuje energetické rozlišení pulsů, použije-li se mnohokanálový amplitudový analyzátor.

Detekce neutronového záření je založena na sledování sekundárních jevů, které provázejí interakci neutronů s nuklidy vhodné detekční látky.

16.3.3. Radiografické metody

Autoradiografie je založena na působení ionizujícího záření na fotografickou emulzi. Makroautoradiografie zkoumá kolektivní účinek záření na emulzi (kontrastní radiografie). Mikroautoradiografie studuje vliv jedné částice, případně několika částic vzniklých rozpadem radioaktivních atomů na emulzi (radiografie dráhy částice). Při autoradiografii je vzorek v temnu uveden do těsného kontaktu s fotografickou emulzí. Expozice může trvat několik hodin i několik dnů. Po ukončení expozice je fotografický materiál za kontrolovaných podmínek vyvolán. Makroautoradiograficky se obvykle studují výbrusy hornin a slitin, biologické a lékařské objekty, do kterých byla radioaktivní látka zavedena. Intenzitu zčernání emulze lze denzitometricky vyhodnotit a získat údaj o kvantitativním zastoupení testovaného radioizotopu ve vzorku. Mikroautoradiografie se používá ke kvalitativnímu důkazu a stanovení obsahu malých množství zářičů α v roztocích. Radiografie slouží k detekci záření při analytických a kontrolních metodách založených na zeslabení paprsků β nebo γ zkoumaným materiálem. Metoda radiografie nachází největší uplatnění v lékařství a v průmyslové gamadefektoskopii.

16.3.4. Metoda izotopového zřed'ování

Při této metodě, stejně jako při ostatních indikátorových metodách, se využívá faktu, že radioaktivní nuklidy mají stejné chemické vlastnosti jako jejich stabilní izotopy. Radioaktivního záření, které vysílají, se využívá k jejich detekci a identifikaci. Jako indikátorové metody se obecně označují metody, při kterých se do analyzovaného materiálu vnáší radioaktivní nuklid stanovovaného prvku (nebo jeho sloučenina) ve známém množství a známé aktivitě. Absolutní aktivita nuklidu je definována jako počet radioaktivních přeměn za jednotku času, vyjadřuje se v becquerelech (Bq):

$$A = \frac{dN}{dt}$$

V praxi se měří efektivní aktivita za definovaných podmínek:

$$A_{ef} = k \cdot A.$$

Pro metodu izotopového zřed'ování je důležitý pojem "měrná aktivita" (a), která vyjadřuje aktivitu na jednotku hmotnosti a má rozměr $s^{-1} \cdot kg^{-1}$.

Postup při práci metodou izotopového zřed'ování je následující. K analyzovanému vzorku, obsahujícímu stanovovanou složku (neradioaktivní) o neznámé hmotnosti m_x , se přidá známé hmotnostní množství m_s radionuklidu téže složky s měrnou aktivitou:

$$a_s = \frac{A_s}{m_s}.$$

Po dokonalém promíchání se část stanovované složky izoluje a změří se aktivita A_1 , ze které se vypočte měrná aktivita:

$$a_1 = \frac{A_1}{m_1},$$

kde m_1 je hmotnost izolovaného podílu složky $m_1 = m_X + m_S$.

Protože celková aktivita systému zůstává stejná, platí, že

$$m_S a_S = (m_S + m_X) a_1$$

$$m_X = m_S \cdot \left(\frac{a_S}{a_1} - 1 \right)$$

Velkou výhodou metody izotopového zředování proti ostatním analytickým metodám je to, že lze dosáhnout přesného výsledku, aniž by bylo nutno izolovat ze směsi veškerou stanovovanou složku, což může být v některých případech velmi složité.

16.3.5. Metoda substechiometrického izotopového zředování

Substechiometrická metoda je založena na porovnání aktivity neznámého vzorku a standardu, ke kterým bylo přidáno stejné množství radioaktivního nuklidu stanovované složky (m_S). Ze standardního roztoku i z roztoku vzorku se pak izolují libovolná, ale přesně stejná množství stanovované složky a v obou těchto podílech se změří aktivity A_S a A_1 . Vzhledem k tomu, že hmotnosti stanovovaného prvku jsou v obou podílech stejné, je možno místo měrných aktivit počítat s aktivitami naměřenými a pak množství stanovovaného prvku ve vzorku se vypočte podle rovnice:

$$m_X = m_S \cdot \left(\frac{A_S}{A_1} - 1 \right)$$

Substechiometrická metoda se velmi často používá v kombinaci s extrakcí, která umožňuje izolování přesně stejných množství stanovované složky následujícím postupem: k roztoku vzorku i k roztoku standardu se přidá přesně stejné množství extrakčního činidla, ovšem vždy menší množství, než odpovídá stechiometrickému poměru ve vztahu ke stanovované složce. Tímto způsobem se ani z jednoho roztoku nevyextrahuje veškerá stanovovaná složka, avšak je zaručeno, že v obou extraktech je přítomno stejné množství složky, bez ohledu na její koncentraci v původních roztocích.

Metody izotopového zředování patří mezi velmi rozšířené metody ve stopové analýze, je možno jimi stanovit prvky v množství 10^{-6} – 10^{-10} g.

16.3.6. Radiometrické titrace

Radiometrické titrace patří svou podstatou mezi radioreagenční metody, metodicky jsou ale zcela odlišné. Radionuklidů se zde využívá pouze k indikaci bodu ekvivalence při odměrných stanoveních. Titrační křivky vyjadřují závislost aktivity měřených roztoků na množství přidaného odměrného roztoku. Radiometrická indikace bodu ekvivalence se často používá u titrací srážecích. Při titraci neaktivní látky indikovaným činidlem (za předpokladu srážecí titrace) se nejprve zvyšuje aktivita roztoku nepatrně (rozpuštěnost sraženiny), za bodem ekvivalence aktivita roztoku náhle prudce vzroste. Je-li naopak aktivní titrovaný roztok, klesá aktivita roztoku až k bodu ekvivalence, kde dosáhne téměř konstantní malé hodnoty dané součinem rozpustnosti produktu. Jsou-li radioaktivně indikovány oba roztoky (vzorek i činidlo), klesá aktivita roztoku postupně do bodu ekvivalence, kde dosáhne minimální hodnoty a následně opět vzrůstá. V praxi se vždy po přidání části odměrného roztoku roztok dokonale promísí, část se zfiltruje a proměří se radioaktivita. Po změření aktivity se proměřovaná frakce roztoku vrátí do titrační nádoby a pokračuje se v titraci. Srážecí radiometrické titrace umožňují velký výběr vhodných činidel. Vedle srážecích radiometrických titrací byly popsány rovněž radiokomplexometrické titrace či radiometrické oxidačně redukční titrace.

16.3.7. Aktivační analýza (NAA)

Aktivační analýzou jsou nazývány metody založené na jaderné aktivaci prvků přítomných ve vzorku bombardováním neutrony, případně protony či fotony γ -záření. Po aktivaci je následně detekováno a identifikováno záření emitované ze vzorku. Jestliže je vzorek ostřelován neutrony, jedná se o metodu neutronové aktivační analýzy. Neutron může interagovat s jádrem atomu pružným rozptylem, nepružným rozptylem nebo záchytovou reakcí. V případě pružného rozptylu dochází při kolizi neutronu s jádrem atomu vzorku pouze k předání části kinetické energie neutronu atomovému jádru vzorku. V případě nepružného rozptylu dochází navíc k excitaci jádra atomu do vyššího energetického stavu. V případě záchytové reakce je kolizní neutron jádrem absorbován za vzniku nového nuklidu s vyšší atomovou hmotností, současně dochází k excitaci vzniklého nuklidu. Aktivovaný nuklid se může zbavit přebytečné energie emisí kvanta γ -záření nebo jadernou reakcí vedoucí k emisi jaderných částic (α -částice, protony, neutrony). Princip kvantitativní analýzy metodou NAA je založen na přímé úměrnosti mezi naměřenou aktivitou a hmotností stanovovaného prvku ve vzorku. Velikost naměřené aktivity (citlivost metody) je úměrná hustotě neutronového toku a účinnému aktivačnímu průřezu pro danou reakci. Pro tepelné neutrony (energie od 0,001 eV do 0,55 eV; nejpravděpodobnější energie 0,025 eV) jsou typické mnohem větší účinné aktivační průřezy než pro neutrony vyšších energií. Mohutné toky tepelných neutronů poskytuje jaderný reaktor. Princip metody NAA vyplývá z následující rovnice, která vyjadřuje vztah mezi aktivitou A (Bq) a hmotností m (g) stanovovaného prvku ve vzorku:

$$A = m \cdot N_A \cdot \varphi \cdot \sigma \cdot \Theta \cdot S \cdot D \cdot C \cdot P_\gamma \cdot \varepsilon / M$$

A ... aktivita (Bq)

m ... hmotnost stanovovaného prvku ve vzorku (g)

N_A ... Avogadrova konstanta (mol^{-1})

φ ... hustota neutronového toku ($\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

σ ... účinný aktivační průřez pro danou reakci (m^2)

Θ ... relativní zastoupení aktivovaného izotopu v přirozené směsi

S ... saturační faktor

D ... rozpadový faktor (korekce na rozpad nuklidu za dobu vymírání)

C ... korekční faktor (korekce na rozpad nuklidu za dobu měření)

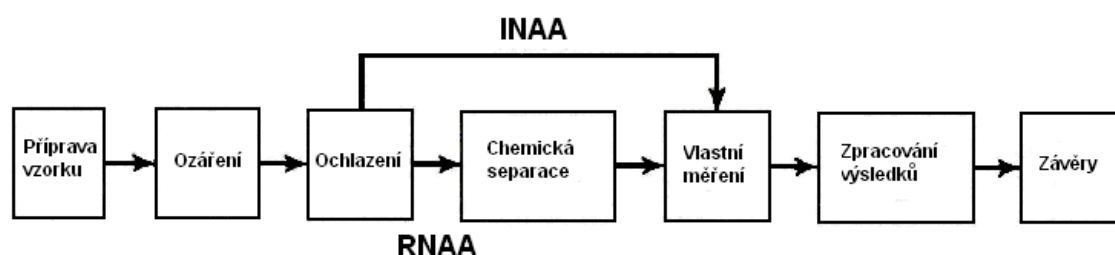
P_γ ... pravděpodobnost emise fotonu o energii E_γ

ε ... absolutní účinnost detekce pro měřenou energii záření

Pro analýzu vzorků metodou NAA je potřebný zejména dostatečně intenzivní zdroj neutronů (jaderný reaktor) a zařízení pro měření indukované aktivity radionuklidů (γ -spektrometr). Schéma stanovení v neutronové aktivační analýze je zřejmé z obr. č. 16.2.

Stanovení analytu metodou neutronové aktivační analýzy se skládá z následujících kroků:

1. Aktivace vzorku proudem neutronů
2. Transport vzorku do měřicí laboratoře a jeho ochlazení
3. Vymírání aktivovaného vzorku
4. Měření γ -spektra vzorku
5. Kvantitativní vyhodnocení získaného spektra



Obr. č. 16.2.: Schéma analytického procesu v metodě NAA

Varianty NAA se navzájem liší způsobem použití standardů, zařazením radiochemické separace či využitím zakoncentrování analytu.

Srovnávací metoda představuje nejběžnější způsob měření v neutronové aktivační analýze. Využívá standardů obsahujících známá množství stanovovaných prvků. Standardy jsou zpracovávány a proměřovány stejnými postupy jako vzorky. Výhodné je použití víceprvkových standardů. Namísto uměle vytvořených standardů je možné využít referenčních materiálů.

Komparátorová metoda je dalším způsobem měření v NAA. Při stanovení se ozáří a proměří vždy pouze jeden standard (komparátor). Komparátorem bývá malý terčik z tenké

kovové folie nebo kus kovového drátku. Měrné aktivity (a) ostatních stanovovaných prvků se vypočítávají vynásobením stanovené měrné aktivity komparátoru (a^*) experimentálně určenými faktory (k) ($k = a / a^*$). Hodnoty faktorů (k) se stanovují pouze jednou, kdy se komparátor ozáří společně se standardy všech očekávaných prvků. Dodržuje-li se stejná ozařovací poloha v reaktoru a stejné měřicí podmínky, poskytuje komparátorová metoda spolehlivé výsledky.

Při absolutní metodě vyhodnocení se do rovnice udávající vztah mezi aktivitou (A) a hmotností stanovovaného prvku přímo dosadí hodnoty M , Θ , S , D , C , P_γ , σ a změří se hustota neutronového toku (ϕ). Absolutní metoda klade velké nároky na spolehlivost jaderných dat a na měření neutronového toku. Předpokladem úspěšné aplikace absolutní metody je použití jaderných reaktorů s konstantními parametry.

16.3.7.1. Varianty neutronové aktivační analýzy

16.3.7.1.1. Instrumentální neutronová aktivační analýza (INAA)

INAA nevyžaduje destrukci vzorku a radiochemickou separaci. Jde tudíž o metodu, která je velmi jednoduchá a snadno automatizovatelná. Předpokladem INAA je vhodná korekce nebo úplná eliminace interferencí. Pomocí této metody lze analyzovat aerosoly, popílký, horniny, uhlí, minerály, rudy či kovové materiály. Pro analýzu biologických vzorků má metoda omezené použití (uplatňuje se zde rušivý vliv silně aktivní matrice ^{24}Na , ^{42}K , ^{82}Br , ^{32}P). Vzorky pro INAA se obvykle umísťují do polyethylenových pouzder, v nichž se proměřují (slepý pokus samotného obalu bývá zanedbatelný).

16.3.7.1.2. Neutronová aktivační analýza s radiochemickou separací (RNAA)

Metoda NAA v praxi často vyžaduje destrukci vzorku s následnou separací stanovovaných radionuklidů. Při stopové prvkové analýze v oblasti koncentrací 1 ng.g^{-1} a nižších bývá použití RNAA obvykle nutností. Postupy RNAA umožňují dosáhnout nejnižších mezí stanovitelnosti prakticky pro jakýkoliv druh analyzovaného materiálu. Práce se silně radioaktivním materiálem však klade značné nároky na pracovníky. V metodě RNAA se uplatňují rychlé a selektivní separační postupy - iontově výměnná chromatografie, selektivní sorpce, destilace, srážení, extrakce. Cílem separace je obvykle oddělení větší skupiny radionuklidů, které jsou dobře měřitelné spektrometrem γ . Obecně je možné oddělit rušivou makroaktivitu od stanovovaných radionuklidů, nebo lze separovat stanovované radionuklidy po vhodně volených skupinách. Příkladem odstranění rušivé makrokomponenty je selektivní sorpce makroaktivity ^{24}Na z ozářeného biologického materiálu. Skupinové separace prvků nacházejí v RNAA široké uplatnění (například oddělení skupiny drahých kovů Ru , Rh , Pd , Ag , Os , Ir , Pt a Au). Destrukční postupy RNAA se používají zejména pro tři základní typy analyzovaných materiálů - biologické vzorky, geologické vzorky a vysoce čisté kovy. Nevýhodou RNAA je práce s vysoce radioaktivními vzorky, rovněž pracnost a zdlohavost analytických postupů.

16.3.7.1.3. Neutronová aktivační analýza s prekoncentrací

Před ozáření vzorku se provádí zakoncentrování a separace stanovovaných prvků (analýza mořské vody, biologických materiálů). Pro zakoncentrování analytu lze použít odpaření nebo vysušení rozpouštědla, ale též iontově výměnnou chromatografii, extrakci či srážení. Separace musí být provedena kvantitativně, je nutné zabránit kontaminaci vzorků a ztrátám analytu.

16.3.7.2. Analytické aplikace NAA a zhodnocení metody

Velkou předností aktivační analýzy je značná citlivost metody (stopová analýza). Metoda se uplatňuje při stanovení stopových koncentrací příměsí. Příkladem využití je analýza biologických a geologických materiálů, popílků, uhlí, rud, minerálů, hornin, čistých kovů. Metoda byla použita pro analýzu velmi malých množství vzorků měsíčních minerálů. NAA umožňuje stanovit mnoho prvků v průběhu jednoho experimentu. Meze detekce jsou srovnatelné s metodami ETAAS a ICP-AES; lze je mnohonásobně zmenšit prodloužením ozařovací a měřicí doby vzorku a zejména aplikací NAA s radiochemickou separací. Při NAA se neuplatňují interference chemického charakteru. Nevýhodou metody je náročnost na experimentální zařízení (jaderný reaktor). S rozvojem moderní a dostupné instrumentace pro ICP-MS dnes význam neutronové aktivační analýzy postupně klesá.

16.3.8. Mössbauerova spektroskopie

Metoda využívá jevu rezonanční absorpce elektromagnetického záření jádry atomů. Při působení záření γ o vhodné vlnové délce mohou jádra pohltit foton a přejít ze základního stavu do stavu excitovaného (energie nukleonů je kvantována podobně jako energie elektronů). Přejitím mezi jednotlivými energetickými hladinami atomových jader přísluší energie řádově 10–100 keV. Jako zdroje primárního záření se v Mössbauerově spektroskopii používají excitovaná jádra stejného prvku, jehož absorpce je sledována. Excitovaná jádra se připravují vhodnou jadernou reakcí. Rozdělení energie fotonů emitovaných nebo absorbovaných volnými jádry atomů charakterizuje rezonanční křivka s maximem při určité energii E_m . S ohledem na vysokou energii a hybnost γ fotonů dochází při jejich absorpci nebo emisi ke zpětnému rázu jader a hodnota E_m není shodná s rozdílem energií excitovaného a základního stavu jádra. Do celkové energetické bilance se musí započítat energie zpětného rázu E_r : $E_m = \Delta E \pm E_r$. Hodnota E_r je u jaderných přechodů značně vyšší než přirozená šířka spektrální čáry, pravděpodobnost, že foton emitovaný jádrem bude jiným jádrem absorbován, je proto malá. U pevných látek s jádry uspořádanými do krystalové mřížky přijímá energii zpětného rázu celý krystal, posun energií daný energií zpětného rázu se zde neuplatňuje. Dochází zde k tzv. bezodrazové jaderné rezonanci γ záření - Mössbauerovu jevu. Pomocí Mössbauerovy spektroskopie lze studovat hyperjemné interakce rezonujícího jádra s elektronovým obalem, který je ovlivněn vznikem chemické vazby.

16.3.8.1. Informace obsažené v Mössbauerově spektru

16.3.8.1.1. Izomerní posun

Elektronová hustota v okolí emitujících a absorbujících jader je rozdílná - při rezonanci se projevívá vzájemný posun energií. Uvedený posun reflektuje chemické stavy (oxidační, spinové,

typy chemických vazeb) rezonujících atomů a označuje se proto jako chemický posun (δ). Chemický posun se vyjadřuje relativně vzhledem ke zvolenému standardu s $\delta = 0$. Pomocí δ lze studovat změny elektronové hustoty v okolí jader atomů a změny chemických vazeb.

16.3.8.1.2. Kvadrupólové štěpení

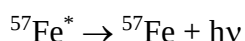
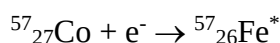
Izolované jádro s kulově symetrickým rozložením náboje poskytuje v Mössbauerově spektru jeden absorpční pík. Interakcí kulově nesymetrických jader (většina měřených jader) s nehomogenním vnitřním elektrickým polem dochází k posunu jaderných hladin. Posun jaderných hladin se projeví kvadrupólovým štěpením signálu (dublet). Kvadrupólové štěpení je charakteristikou elektronové struktury rezonujícího atomu a struktury jeho okolí (změny elektrického pole na jádře). Kvadrupólové štěpení může sloužit ke klasifikaci valencí a vazeb.

16.3.8.1.3. Magnetické štěpení

Při působení vnitřního magnetického pole na jádro dochází k magnetickému štěpení jaderných hladin (Zeemanovo štěpení). Kvadrupólově rozštěpené hladiny se takto dále štěpí na další podhladiny. Velikost magnetického štěpení a distribuce intenzit přechodů odráží magnetický stav atomu v látce - využívá se při studiu magnetických systémů (oxidy a slitiny železa).

16.3.8.2. Experimentální uspořádání v Mössbauerově spektroskopii

Zdrojem γ záření v Mössbauerově spektroskopii jsou excitovaná jádra atomů prvku, který se stanovuje. Excitovaná jádra se získávají rozpadem umělých radioizotopů vzniklých ostřelováním vhodného terčového nuklidu neutrony nebo elektrony.

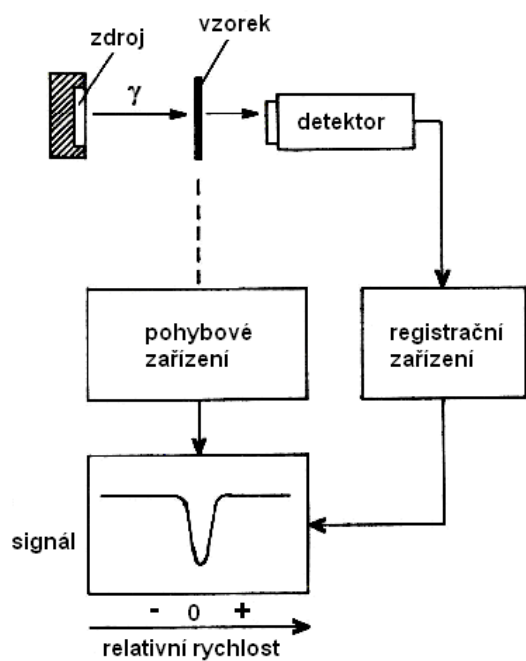


V praxi se nejčastěji pracuje s izotopy ^{57}Fe a ^{119}Sn . K rezonanční absorpci jader může dojít pouze tehdy, je-li frekvence γ záření zdroje změněna tak, aby korigovala posuny energetických hladin (kvadrupólové a magnetické štěpení, izomerní posun). Ke změně frekvence γ záření zdroje se využívá Dopplerova jevu (pohyb zdroje γ záření). Pro studovaná jádra vázaná v krystalové mřížce jsou rychlosti vzájemného posunu zdroje a absorbující látky malé (mm/s), neboť rozdíly energií ΔE mezi jádry zdroje a vzorku jsou nepatrné. Experimentální uspořádání využívané v Mössbauerově spektroskopii je znázorněno na obr. č. 16.3.

16.3.8.3. Analytické aplikace Mössbauerovy spektroskopie

Kvalitativní analýza je založena na vyhodnocování hyperjemné struktury spekter. Signály pozorované ve spektrech lze na základě znalostí o jejich vzniku přiřazovat jednotlivým analytům nebo lze změřená spektra porovnávat se spektry známých látek. Kvantitativní

analýza spočívá ve vyhodnocování ploch jednotlivých křivek. Mössbauerova spektroskopie se nejčastěji používá pro analýzy hornin, minerálů, kovů, slitin, korozních produktů. Metoda je nedestruktivní, nemění se chemický ani fyzikální stav analyzovaných vzorků. Je možné provádět transmisní měření tenkých vrstev vzorků a folií nebo odrazová měření pevných kompaktních vzorků.



Obr. č. 16.3.: Experimentální uspořádání v Mössbauerově spektroskopii

17. Dělicí metody

17.1. Principy dělicích metod

Při analytickém důkazu nebo stanovení složky ve směsi se často setkáváme s okolností, že tento důkaz nebo stanovení je rušeno přítomností dalších složek a v této směsi není možné důkaz nebo stanovení spolehlivě provést. To se týká zejména stanovení stopových množství látek za přítomnosti většího množství jiných složek a platí to jak pro metody založené na průběhu chemických reakcí, tak pro metody založené na měření fyzikálních veličin.

Chceme-li tedy důkaz nebo stanovení v takovém případě spolehlivě provést, je nezbytné předtím ze směsi odstranit rušící složky nebo naopak stanovovanou složku ze směsi oddělit. K tomuto účelu se používají dělicí (separační) metody, z nichž většina je založena na dvou principech:

- a) různé distribuci (rozdělení) složek mezi dvě fáze
- b) různé rychlosti pohybu jednotlivých složek v téže fázi.

Do první skupiny patří například extrakční metody, chromatografie, dělení na měničích iontů, srážení, sublimace, destilace. Do druhé skupiny patří především elektroforéza, izotachoforéza, difuze, dialýza.

V analytické chemii se nejčastěji využívají metody založené na prvním principu. Příčina toho, že se určitá složka distribuuje mezi dvě fáze, je různá podle povahy sil, které distribuci působí. Vždy se však ustaví rovnováha mezi oběma fázemi, která může být vhodnými podmínkami posunuta tak, že se oddělovaná složka vyskytuje prakticky výhradně v jedné fázi a je možno ji tedy od ostatních složek směsi oddělit. Poměr celkových koncentrací dělené složky (A) v obou fázích po dosažení rovnováhy se nazývá distribuční poměr koncentrační D_c :

$$D_c = c_{(A)II} / c_{(A)I} \quad (1)$$

kde $c_{(A)}$ jsou látkové koncentrace složky A, indexem I se obvykle označuje fáze, ze které složku převádíme, indexem II fáze, do které složku převádíme. Někdy se rozdělení charakterizuje rozdělovacím poměrem hmotnostním, D_m :

$$D_m = m_{(A)II} / m_{(A)I} \quad (2)$$

kde $m_{(A)}$ jsou hmotnosti látky v jednotlivých fázích. Známe-li objemy obou fází, můžeme D_m vypočítat z D_c :

$$D_m = D_c (V_{II} / V_I) \quad (3)$$

Nelze-li obsah složky v obou fázích vyjádřit stejným způsobem, nebude poměr obsahů bezrozměrný a nazývá se distribuční koeficient D_g . Například při adsorpci se obsah složky v tuhé fázi vyjadřuje jako látkové množství složky vztažené na jednotku hmotnosti adsorbentu a obsah složky v roztoku látkovou koncentrací. Distribuční koeficient se pak rovná:

$$D_g = (n_{II} / m_{II}) / (n_I / V_I) \quad (4)$$

a má rozměr objemu, děleného hmotností. Distribuční poměr a koeficient je třeba odlišit od rozdělovací konstanty (K_D), definované vztahem:

$$K_D = a_{(A)II} / a_{(A)I} \quad (5)$$

kde $a_{(A)}$ jsou aktivity složky A v jednotlivých fázích. Za nízkých koncentrací je možno aktivity nahradit koncentracemi a rovnice bude mít tvar:

$$K_D = [A]_{II} / [A]_I \quad (6)$$

kde $[A]$ označuje rovnovážné látkové koncentrace.

Rozdělovací konstanta vyjadřuje poměr koncentrací určité konkrétní chemické formy složky A, zatímco rozdělovací poměr je poměr koncentrací složky A bez ohledu na to, v jakých chemických formách je složka v obou fázích přítomna. Tento rozdíl lze ukázat na extrakci sloučeniny HA, která je ve vodné fázi částečně disociována a ve vodné i organické fázi částečně polymerována za tvorby částic $(HA)_n$ ve fázi vodné a částic $(HA)_m$ v organické fázi. Rozdělovací konstanta pro rozdělení složky HA se rovná:

$$K_{D(HA)} = [HA]_{org} / [HA]_{aq} \quad (7)$$

a distribuční poměr složky HA je roven:

$$D_{c(HA)} = c(HA)_{org} / c(HA)_{aq} = ([HA]_{org} + [HA]_{m\ org}) / ([HA]_{aq} + [A]_{aq} + [HA]_{n\ aq}) \quad (8)$$

kde org a aq označují organickou a vodnou fázi.

Pro hodnocení dělicího postupu je třeba znát výtěžek dělení R, tj. podíl původně přítomné složky, který přešel z fáze I do fáze II. Původně přítomné látkové množství n_A se rozdělí tak, že ve fázi I zůstane $n(A)_I$ a do fáze II přejde $n(A)_{II}$ molů látky A. Pak platí:

$$= n_{(A)II} / n_{(A)I} = n_{(A)II} / (n_{(A)I} + n_{(A)II}) = D_m / (1 + D_m) = D_c (V_{II} / V_I) / (1 + D_c (V_{II} / V_I)) \quad (9)$$

kde V jsou objemy jednotlivých fází.

Při extrakci se někdy též používá tzv. procentový výtěžek extrakce:

$$E = 100 \cdot R \quad (10)$$

Chceme-li oddělit dvě nebo více složek, zajímá nás účinnost dělicího postupu, kterou vyjadřujeme separačním faktorem $\alpha_{A/B}$, definovaným pro dělení složek A a B rovnicí:

$$\alpha_{A/B} = D_A / D_B = \{(c(A) / c(B))\}_{II} / \{(c(A) / c(B))\}_I \quad (11)$$

Tento faktor udává poměr koncentrací obou složek v jednotlivých fázích. Základní principy dělení na základě migrace částic jsou uvedeny u jednotlivých metod.

17.2. Extrakce z kapaliny do kapaliny

Extrakce z kapaliny do kapaliny patří mezi často užívané dělicí a koncentrační metody v analytické chemii. Při této metodě se určitá složka rozděluje mezi dvě prakticky nemísitelné kapalně fáze. Jednou z nich bývá vodný roztok, druhou bývá organické rozpouštědlo, nemísitelné nebo omezeně mísitelné s vodou či roztok určité sloučeniny v tomto rozpouštědle. Extrakce se řídí Nernstovým rozdělovacím zákonem, který říká, že poměr aktivit (nebo koncentrací) extrahované složky v obou fázích je v rovnováze konstantní. Tento poměr se nazývá rozdělovací konstanta. Pro hodnocení extrakčního postupu se často používá distribuční poměr D_c nebo výtěžek dělení R , případně procentický výtěžek extrakce. Protože obvykle při extrakci přechází extrahovaná složka z vodné fáze do fáze organické, je nezbytné, aby se v organické fázi rozpouštěla lépe než ve fázi vodné. Toto je splněno u většiny organických sloučenin, kdy se použitím vhodného rozpouštědla dosáhne velkých výtěžků extrakce. Jestliže však organická sloučenina podléhá ve vodě protolytickým reakcím, rozpouští se ve vodě a výtěžek extrakce je malý.

Anorganické sloučeniny, pokud nemají kovalentní charakter, jsou ve vodě disociovány na ionty, které do organické fáze nepřecházejí. Chceme-li tedy extrahovat ion, musíme jej nejprve přeměnit na elektroneutrální částici buď tvorbou chelátu, nebo iontového asociátu, které jsou dobře extrahovatelné.

17.2.1. Extrakce chelátů

Při extrakci chelátů se přidává komplexotvorné činidlo buď do vodného roztoku k extrahovanému iontu, nebo je rozpuštěno v organické fázi. Tento způsob extrakce se provádí obvykle v dělicích nálevkách. V nálevce je vodný roztok obsahující kovové ionty. Jelikož je průběh extrakce ve většině případů závislý na pH roztoku, přidává se ke vzorku tlumivý roztok, který zajistí během extrakce stálé, optimální pH. Do dělicí nálevky se dále dává organické, s vodou nemísitelné rozpouštědlo, zpravidla s rozpuštěným komplexotvorným činidlem. Následuje několikaminutové mírné protřepání dělicí nálevky. Po ustavení rovnováhy se nálevka ponechá v klidu do rozdělení obou fází. Organická fáze se odebere a extrakce se zpravidla ještě 1–2x opakuje. Spojené výtřepky organické fáze pak obsahují (obvykle též zakoncentrovaný) sledovaný ion.

Pro odvození zákonitosti, kterou se řídí extrakce kovových chelátů, je nutno vyjít z rovnováh, které se v dané soustavě uplatňují. Při extrakci kovového iontu M^{n+} použijeme chelatotvorné činidlo (většinou slabý organický protolyt) HL.

Chelatotvorné činidlo se mezi organickou a vodnou fází rozdělí podle své rozdělovací konstanty K_{D1} .

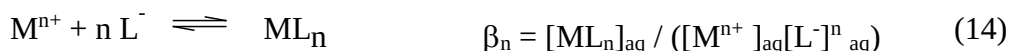


Ve vodné fázi bude činidlo v souvislosti s pH roztoku disociovat podle rovnice:



kde K je disociační konstanta činidla.

Sledovaný ion M^{n+} bude ve vodné fázi reagovat s deprotonizovaným ligandem chelatotvorného činidla podle rovnice:



kde β_n je celková konstanta stability komplexu ML_n .

Komplex kovu s chelatotvorným činidlem - ML_n představuje nenabitou formu kovu M^{n+} . Pouze ve formě nenabitě částice může ion přejít přes fázové rozhraní mezi vodnou a organickou fází.

Extrakce chelátu proběhne podle rovnice



Předpokládáme-li, že rozpustnost chelátu je ve vodě zanedbatelná, pak distribuční poměr uvažovaného kovu mezi organickou a vodnou fází bude

$$D_c = C_{(M)org} / C_{(M)aq} = [ML_n]_{org} / [M^{n+}]_{aq} \quad (16)$$

Vyjádríme-li $[ML_n]_{org}$ z rovnice (15) a $[M^{n+}]_{aq}$ z rovnice (14), dostáváme pro D_c vztah

$$D_c = K_{D2} [ML_n]_{aq} / ([ML_n]_{aq} / (\beta_n [L^-]_{aq}^n)) = K_{D2} \beta_n [L^-]_{aq}^n \quad (17)$$

Vyjádríme-li dále $[L^-]_{aq}^n$ v rovnici (17) pomocí rovnice (13), dostáváme:

$$D_c = K_{D2} \beta_n K^n [HL]_{aq}^n / [H^+]_{aq}^n \quad (18)$$

Koncentraci $[HL]_{aq}$ vyjádříme z rovnice (12), pak

$$D_c = K_{D2} \beta_n (K / K_{D1})^n ([HL]_{org} / [H^+]_{aq})^n \quad (19)$$

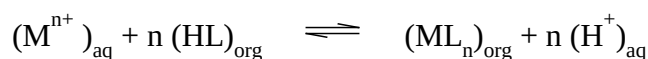
Součin konstant před závorkou můžeme shrnout do konstanty jediné - extrakční konstanty:

$$K_{ex} = K_{D2} \beta_n K^n / K_{D1}^n \quad (20)$$

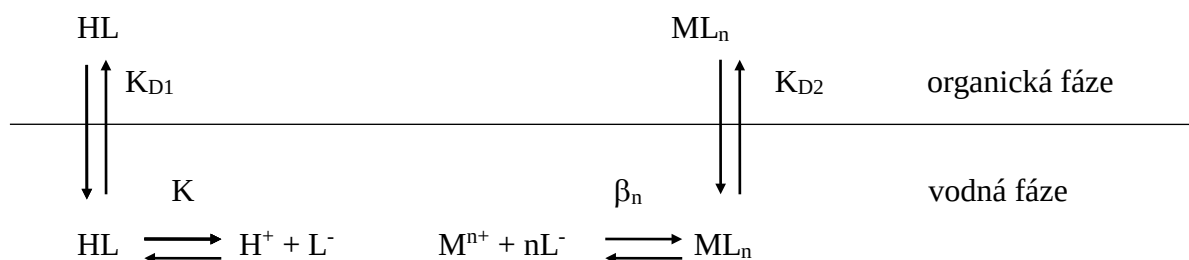
potom:

$$D_c = K_{ex} ([HL]_{org} / [H^+]_{aq})^n \quad (21)$$

Tato konstanta je vlastně konstantou úhrnné reakce vystihující průběh extrakce:



Celý extrakční proces můžeme schematicky vyjádřit následovně:



Jelikož platí, že

$$R = D_c (V_{II} / V_I) / (1 + D_c (V_{II} / V_I))$$

(viz kapitola 17.1., rovnice (9)), můžeme ve zjednodušeném případě, když $V_I = V_{II}$ uvažovat, že

$$R = D_c / (1 + D_c) \quad (22)$$

pak procentový výtěžek extrakce bude:

$$E = 100 R = 100 D_c / (1 + D_c) \quad (23)$$

Extrakční proces můžeme charakterizovat hodnotou pH, při níž bude procentový výtěžek extrakce právě 50%. Hodnotu pH pro $E = 50\%$ označíme $pH_{1/2}$. Jestliže $E = 50$, pak po dosazení do rovnice (23) dostáváme $D_c = 1$. Dosazením $D_c = 1$ do rovnice (21) dostáváme

$$K_{ex} ([HL]_{org}^n / [H^+]_{aq}^n) = 1 \quad (24)$$

Po zlogaritmování a vyjádření $[H^+]_{aq}$ jako pH ($= pH_{1/2}$) dostaneme:

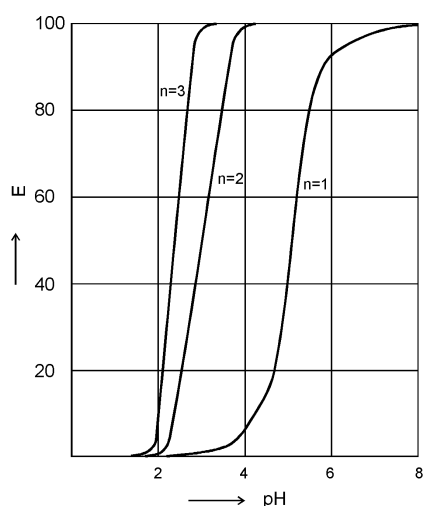
$$pH_{1/2} = (1/n) pK_{ex} - \log [HL]_{org} \quad (25)$$

$pH_{1/2}$ je tedy hodnota pH poloviční extrakce. Za předpokladu, že chelatotvorného činidla bude dostatečný nadbytek, pak změny v jeho koncentraci v souvislosti s uvedenými reakcemi můžeme zanedbat a považovat $[HL]_{org} = \text{konst.}$

Pak přibližně platí:

$$pH_{1/2} \cong (1/n) pK_{ex} \quad (26)$$

Hodnota $pH_{1/2}$ charakterizuje extrahovatelnost daného iontu příslušným činidlem v daných podmínkách. Tvoří-li s určitým komplexotvorným činidlem extrahovatelný chelát více iontů ve vzorku, můžeme v některých případech vhodnou volbou pH selektivně extrahovat pouze zvolený ion ze směsi (obr. č. 17.1.). Hodnota $pH_{1/2}$ je do jisté míry formálně podobná hodnotě půlvolného potenciálu používaného v polarografii.



Obr. č. 17.1.: Výtěžnost extrakce pro cheláty troj-, dvoj- a jednomocného iontu.

Máme-li zjistit rozmezí pH, v rámci něhož dojde k vyextrahování určitého iontu z roztoku, položíme $E_1 = 1\%$ a $E_2 = 99\%$.

Pak $D_{c1} = 1/99 \cong 0,01$ a $D_{c2} = 99/1 \cong 100$.

Obdobným postupem jako při odvození vztahu pro $pH_{1/2}$ dostaneme:

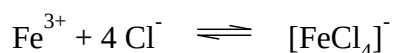
$$pH_2 - pH_1 = 4 / n \quad (27)$$

Z rovnic (25) resp. (26) a (27) je zřejmé, že vícemocné ionty extrahujeme při nižších hodnotách pH. Kvantitativní extrakce jednomocného iontu je dosaženo v rozmezí $\Delta pH = 4$ či dvojmocného iontu v rozmezí $\Delta pH = 2$ (viz též obr. č. 17.1.).

V praxi se jako chelatotvorných činidel k extrakci nejčastěji používá diethyldithio-karbamátů, difenylthiokarbazonu (dithizonu), 8 - hydroxichinolinu (oxinu) a jeho derivátů, β - diketonů, heterocyklických azosloučenin, oximů a řady dalších činidel. Použitá organická rozpouštědla musí být minimálně mísitelná s vodou. Nejběžněji se pracuje s diethyletherem, chloroformem, chloridem uhličitým či benzenem.

17.2.2. Extrakce iontových asociátů

Jako iontové asociáty (iontové páry) se označují částice, které vznikly z opačně nabitých iontů působením elektrostatických sil pochodem opačným k disociaci. Aby se podpořila rozpustnost iontového asociátu v organické fázi, je třeba, aby jeden z iontů, tvořících asociát, obsahoval organickou molekulu (obvykle velkou). Tvorbu asociátů podporuje snížení relativní permitivity vodného roztoku. Kovový ion nejprve poskytne aniontový komplex, např.

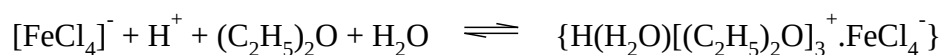


Potom následuje tvorba iontového asociátu.

Extrakci iontových asociátů lze rozdělit do tří typů.

17.2.2.1. Extrakce solvátů

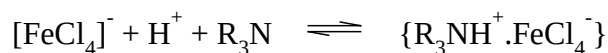
Některá rozpouštědla mohou vytvářet iontový asociát komplexního aniontu se solvatovaným protonem. Příkladem může být extrakce výše uvedeného komplexního aniontu v prostředí kyseliny chlorovodíkové do etheru.



Iontový asociát v závorce { } je jakožto navenek elektroneutrální částice extrahován do etherové fáze.

17.2.2.2. Aminová extrakce

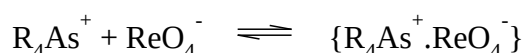
Alifatické aminy tvoří v kyselém prostředí kationty, které jsou schopny vytvářet s komplexními anionty iontové asociáty.



Obvykle se používají vysokomolekulární terciární aminy (např. trioktylamin, či tri-n-butylamin)

17.2.2.3. Extrakce za pomoci "oniových" solí

Účinkem arsoniových nebo fosfoniových solí (např. chloridu tetrafenylarsonia), které jsou ve vodě rozpustné, vznikají s komplexními anionty kovových iontů asociáty extrahovatelné do organických rozpouštědel. Příkladem takovéto separace může být vznik iontového asociátu tetrafenylarsonia s rhenistanovým aniontem.



V analytické chemii se na rozdíl od některých hydrometalurgických procesů používá spíše extrakce chelátů než extrakce iontových asociátů.

17.3. Měníče iontů

Měníče iontů (ionexy) jsou disperzní systémy nejčastěji gelové podstaty, jejichž disperzním prostředím je vhodné nízkomolekulární rozpouštědlo (obvykle voda) a disperzním podílem je trojrozměrný skelet iontoměníče. Polymerní skelet může být jak organické, tak anorganické povahy. Většina ionexů, které se v současné době používají v analytické chemii, jsou syntetické organické vysokomolekulární sloučeniny. Jejich polymerní skelet jim nedovoluje tvořit s rozpouštědlem roztok. Nastává pouze bobtnání skeletu. Charakteristickým znakem, odlišujícím iontoměníče od jiných typů gelů, je přítomnost aktivních (ionogenních, funkčních, výměnných) skupin. Na aktivních skupinách probíhá vlastní proces iontové výměny.

Základní vlastnosti iontoměníče jsou dány jak charakterem a množstvím hydrofilních aktivních skupin na skeletu měniče, tak povahou nosného skeletu.

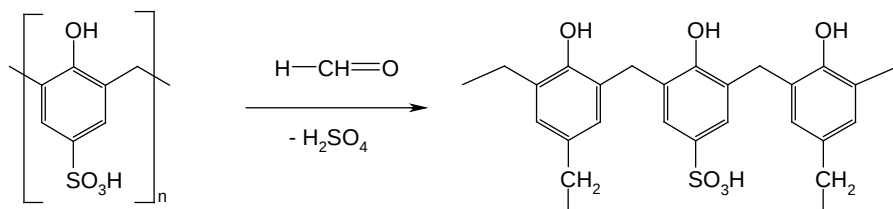
Podle charakteru aktivních skupin lze měniče dělit na:

- měniče kationtů - katexy (cation exchanger), obsahující kyselé aktivní funkční skupiny,
- měniče aniontů - anexy (anion exchanger), obsahující bazické aktivní funkční skupiny,
- měniče elektronů - redoxity, schopné redox reakcí,
- selektivní měniče iontů - obsahující aktivní skupiny schopné reagovat jen s malou skupinou iontů, v ideálním případě pouze s jedním druhem iontů.

17.3.1. Nosný skelet iontoměniče

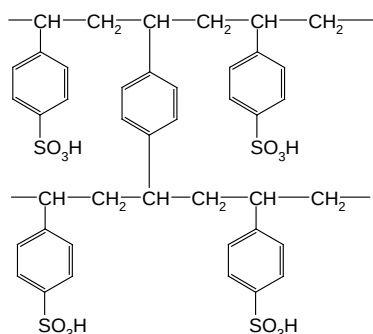
Příkladem nosného skeletu iontoměniče by mohl být měnič na bázi fenolických polykondenzátů či styren-divinylbenzenových pryskyřic. V katexech tvoří vysokomolekulární síť rozměrný polyvalentní anion, jehož náboje jsou kompenzovány vodíkovými ionty, které se při styku s roztoky elektrolytů mohou vyměňovat za jiné kationty.

Příprava silně kyselého fenolsulfonového měniče kationtů probíhá podle schématu:



Při polykondenzaci p-fenolsulfonové kyseliny s formaldehydem vznikají nejprve lineární řetězce s methylenovými můstky jako spojovací články. V dalším kroku se pak lineární polymer účinkem formaldehydu zesítuje do trojrozměrné struktury.

K jiným typům skeletů patří kopolymer připravený polymerací styrenu s určitým množstvím divinylbenzenu. Výsledný, v konečné fázi sulfonovaný, produkt má strukturu:



17.3.2. Měníče kationtů - katexy

Katexy jsou měniče iontů schopné vyměňovat kationty. Jako vyměnitelný kation obsahují katexy v základním stavu nejčastěji ion vodíkový. Pak hovoříme o katexu v tzv. H-cyklu.

Silně kyselé katexy

Obsahují funkční skupinu $-\text{SO}_3\text{H}$ či $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$. Skupina $-\text{SO}_3\text{H}$ je snáze disociovatelná. Měníč v H-cyklu štěpí neutrální soli na příslušnou kyselinu, přičemž ionex přechází na odpovídající formu soli. Chemické reakce těchto ionexů jsou podobné reakcím kyseliny sírové. Pro úplné převedení iontoměniče do H-cyklu je potřeba velkého přebytku silné kyseliny o relativně vysoké koncentraci. Výměnná kapacita těchto ionexů je málo závislá na pH roztoku.

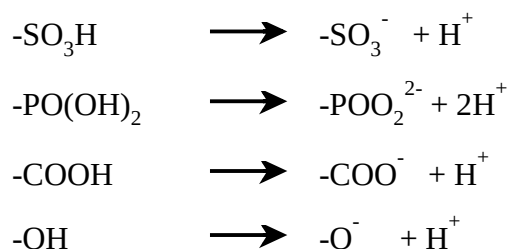
Středně kyselé katexy

Obsahují obvykle funkční skupinu $-\text{PO}(\text{OH})_2$ či $-\text{OPO}(\text{OH})_2$. Jejich chemické reakce jsou podobné reakcím kyseliny fosforité nebo fosforečné. Efektivní pH pro činnost těchto ionexů leží v rozmezí hodnot 5–14.

Slabě kyselé katexy

Obsahují funkční skupinu $-\text{COOH}$ či $-\text{OH}$ (fenolická skupina je typická pro velmi slabě kyselé ionexy). Tyto iontoměniče v H-cyklu neštěpí neutrální soli. Stupeň jejich disociace odpovídá kyselině octové. Efektivní pH leží v rozmezí hodnot 6–14.

Disociaci iontovýměnných katexů lze vyjádřit následujícími reakcemi:



Výměnná kapacita silně kyselých katexů je málo závislá na pH roztoku. Čím je katex méně kyselý, tím závislost výměnné kapacity na pH roztoku roste.

17.3.3. Měníče aniontů - anexy

Anexy jsou měniče iontů schopné vyměňovat anionty. Jako vyměnitelný anion obsahují nejčastěji ion OH^- , méně často též Cl^- . Pak hovoříme o anexu v tzv. OH-cyklu (resp. Cl-cyklu).

Silně bazické anexy

Obsahují funkční skupinu $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$ (bazičtější) či $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{C}_2\text{H}_4.\text{OH}^-$ (méně bazickou). Měníče v OH-cyklu štěpí neutrální soli za vzniku odpovídající báze. Měníč přitom přechází na odpovídající formu soli. Stupeň ionizace funkčních skupin odpovídá roztokům hydroxidů alkalických kovů. Silně bazický měnič v OH-cyklu sorbuje i velmi málo disociované kyseliny (boritá, křemičitá). Úplné převedení měniče do OH-cyklu vyžaduje velký přebytek relativně koncentrovaného (5%) roztoku NaOH. Výměnná kapacita těchto ionexů je málo závislá na pH roztoku.

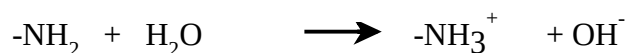
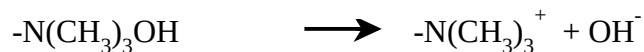
Středně bazické anexy

U středně bazických anexů zastávají iontovýměnnou funkci alifatické aminové skupiny. Měníče obsahují jak silně, tak slabě bazické skupiny.

Slabě bazické anexy

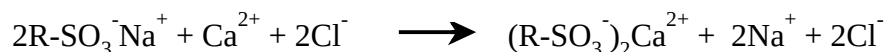
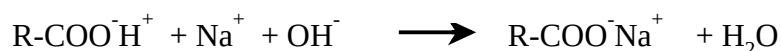
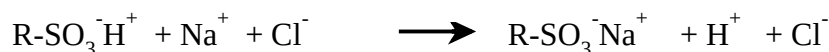
Funkčními skupinami jsou -NH_2 skupiny vázané na aromatickém jádru. Tyto iontoměniče nemají schopnost štěpit neutrální soli za tvorby příslušných zásad. Výměnná kapacita slabě bazických anexů je silně závislá na pH roztoku. Regeneraci měniče je možno provést i velmi zředěným roztokem amoniaku, uhličitanu či hydroxidu sodného.

Disociaci iontovýměnných skupin anexů lze vyjádřit např. následujícími reakcemi:

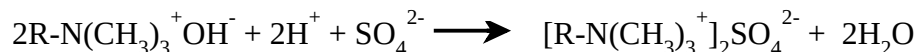
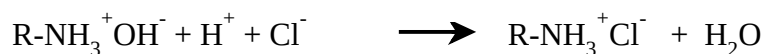


17.3.4. Princip výměny iontů

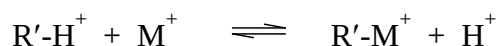
Výměna iontů na měniči je stechiometrickou reakcí, kterou lze pro katexy vystihnout rovnicí:



obdobně pro anexy:



kde R představuje polymerní nosný skelet iontoměniče. Zahrneme-li do R též zbytek funkční iontovýměnné skupiny, můžeme zjednodušeně obecně vyjádřit chemickou rovnováhu na katexu rovnicí:



Probíhá-li reakce zleva doprava, označuje se jako sorpce, v obráceném směru jde o desorpce či eluci. Rovnovážná konstanta uvedené reakce se nazývá selektivní koeficient.

$$K_{\text{H}}^{\text{M}} = \{(\eta_{\text{M}})_{\text{m}} [\text{H}^+]_{\text{aq}}\} / \{[\text{M}^+]_{\text{aq}} (\eta_{\text{H}^+})_{\text{m}}\} \quad (1)$$

kde η je látkový obsah iontu v iontoměniči $[\text{mol.kg}^{-1}]$, indexy m a aq značí měničovou a vodnou fázi. Čím je hodnota selektivního koeficientu větší, tím snadněji a dokonaleji probíhá sorpce iontů M^+ výměnou za H^+ . Po ekvilibraci iontoměniče, který je např. v H-cyklu s roztokem iontu M^+ je poměr látkového obsahu iontu v měniči k rovnovážné látkové koncentraci tohoto iontu v roztoku dán distribučním koeficientem D_{g} .

$$D_g = (\eta_M)_m / [M^+]_{aq} \quad (2)$$

pomocí K_H^M z rovnice 1 můžeme D_g vyjádřit jako:

$$D_g = K_H^M \cdot (\eta_{H^+})_m / [H^+]_{aq} \quad (3)$$

Z tohoto vztahu vyplývá, že sorpci iontu M^+ můžeme podpořit (zvýšení D_g) snížením koncentrace H^+ iontů v roztoku, desorpci M^+ iontů usnadníme zvýšením koncentrace H^+ iontů v roztoku. Takto lze vysvětlit princip regenerace ionexu (opětne převedení do H-cyklu).

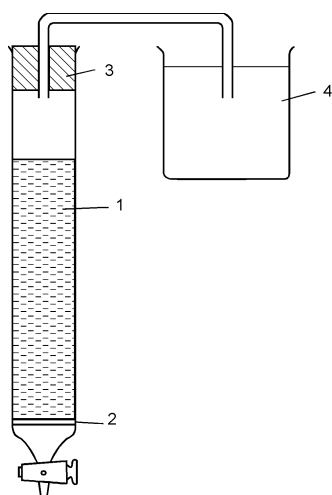
Selektivitní koeficient nemusí být vztahován vždy k H^+ iontům. Obecněji jej můžeme vyjádřit jako K_B^A . Jestli $K_B^A > 1$, pak měnič sorbuje ion A silněji než ion B , v případě, že $K_B^A < 1$, je tomu naopak.

Určité množství ionexu je schopno vyměnit pouze určité množství iontů z roztoku, což se vyjadřuje tzv. výměnnou kapacitou ionexu. Je to látkové množství iontu (v milimolech), přepočtené na látkové množství iontů H^+ či OH^- , které je schopen vyměnit 1 g měniče. Obsahoval-li měnič 4 milimoly Mg^{2+} na 1 gram, jeho výměnná kapacita je 8 mmol (H^+) na 1 gram.

17.3.5. Použití iontoměníčů

Při dělení na měničích iontů pracujeme někdy vsádkovým způsobem, kdy v kádince promícháme zrna iontoměničové pryskyřice s roztokem.

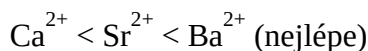
Častěji se však používají kolonky (obr. č. 17.2.), které jsou naplněné vhodným ionexem. Analyzovaný roztok vnášíme na horní část kolonky a necháme jej ionexem zvolna protékat. Některé složky vzorku projdou kolonkou, jiné se na ní zachytí. Zachycené složky lze vhodným elučním činidlem z kolonky vymýt a současně též zakoncentrovat.



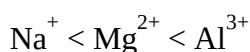
Měníče iontů je výhodné použít při:

1. Dělení iontů podle poloměru či velikosti náboje

Větší ionty (při stejném náboji) se zachycují lépe:



Se vzrůstajícím nábojem vzrůstá afinita iontu k ionexu:



Obr. č. 17.2.: Jednoduché laboratorní zařízení pro práci s iontoměníčem.

1 - ionex, 2 - frit, 3 - dobře těsnící zátka, 4 - roztok analytu

2. Dělení iontů s opačnými náboji

Ionexy slouží k dělení kationtů od aniontů. Například ve směsi Mn^{2+} , Fe^{3+} , Na^{+} a SO_4^{2-} se zachytí kationty na katexu a v roztoku zůstane kyselina sírová. Tohoto postupu lze použít k získání standardního roztoku kyseliny pro zjištění titru odměrného roztoku hydroxidu v alkalimetrii. Standardem je např. roztok NaCl o přesně známé koncentraci. Tento roztok necháme protéci katexovou kolonkou v H-cyklu. Eluát obsahuje látkové množství iontů ekvivalentní látkovému množství Na^{+} iontů v standardním roztoku.

Jiným příkladem použití ionexů může být separace Zn^{2+} iontů od Cd^{2+} iontů. Účinkem jodidu převedeme ve směsi těchto iontů kadmium na komplex $[\text{CdI}_4]^{2-}$. Zinek, který podobný komplex netvoří, zůstává v roztoku ve formě Zn^{2+} iontů. Po průchodu reakční směsí katexem zůstane zinek zachycen, kdežto kadmium projde s roztokem do eluátu.

3. Dělení iontů od neelektrolytů

Používá se zejména pro oddělování anorganických látek (solí) od látek organických.

4. Izolace stopových složek vzorku

Ionogenní látky můžeme zachytit v soustavě katexová kolona - anexová kolona. Tímto způsobem se izolují a zakoncentrovávají stopová množství zvláště anorganických látek. Podobně se v laboratořích připravuje takzvaná demineralizovaná voda. Po průchodu katexem se kationty z vody zamění za H^{+} ionty, anionty se v anexové koloně zamění za OH^{-} ionty. Ze soustavy kolon pak vytéká voda.

18. Chromatografie

Chromatografie je jedna z nejvýznamnějších analytických separačních metod. Umožňuje dělení, identifikaci a stanovení velkého počtu organických i anorganických látek. Základy kapalinové kolonové chromatografie položil na počátku tohoto století Cvet, botanik ruského italského původu, který na sloupci sorbentu úspěšně rozdělil listová barviva.

Původní chromatografie na sloupci sice umožňovala rozdělit i složitější přírodní směsi, ale měla řadu nedostatků, pro něž byla téměř zapomenuta. Tato klasická kolonová chromatografie využívala kolon plněných částicemi o průměru desítek až stovek mikrometrů, mobilní fáze protékala náplní působením gravitační síly. Metoda byla velice pracná, zdoluhavá a málo účinná. Stála na pokraji zájmu za chromatografií papírovou, tenkovrstevnou a zejména plynovou. Její rozvoj nastal až tehdy, když přístrojová technika dosáhla vysokého technického stupně, když byly sestrojeny vysoce citlivé detektory, dokonalejší dávkovací systémy, zejména pak malá laboratorní vysokotlaká čerpadla a vysoce účinné univerzální i selektivní sorbenty jako náplně chromatografických kolon.

V dnešních chromatografických technikách zaujímají metody moderní kolonové chromatografie přední místo. Umožňují analyzovat kromě řady anorganických látek téměř všechny organické látky obsažené v nejrůznějších přírodních i technických směsích v širokém koncentračním rozmezí.

Možnosti plynové chromatografie jsou do značné míry omezeny těkavostí a tepelnou stabilitou dělených látek. Hlavní oblastí jejího využití jsou látky s nízkou a střední relativní molekulovou hmotností.

18.1. Základní pojmy a rozdělení chromatografických metod

K objasnění principu chromatografické separace je třeba definovat některé pojmy. Chromatografie využívá dělení mezi dvěma fázemi. Fáze pohyblivá (plyn nebo kapalina) bude bez ohledu na skupenství označována jako *fáze mobilní*. Fáze nepohyblivá (stacionární), může mít v chromatografii velmi rozdílnou formu. Mohou jí být částičky tuhé fáze o velikosti jednotek až stovek mikrometrů, může to být kapalina umístěná na povrchu inertního nosiče či film kapaliny na vnitřní stěně kapiláry. Pro jednoduchost je zvykem užívat označení *sorbent* pro jakoukoli formu stacionární fáze.

Dále budeme předpokládat, že sorbentem je naplněna kolona, přes kterou postupuje určitou rychlostí mobilní fáze. Při styku stacionární i mobilní fáze s dělenými látkami vzorku dochází k vzájemným interakcím, které rozhodují o průběhu separačního procesu.

Podle typů těchto interakcí je možno dělit jednotlivé chromatografické metody. Mluvíme např. o adsorpční, rozdělovací, iontové výměnné či gelové chromatografii. Všechny tyto názvy jsou odvozeny z mechanismu, na jehož základě dochází k separaci. Jelikož v řadě případů je celkový průběh separace podmíněn dvěma i více mechanismy, používá se v praxi nejběžněji členění na plynovou a kapalinovou chromatografii. Přehled nejdůležitějších chromatografických technik je uveden v tabulce 18.1.

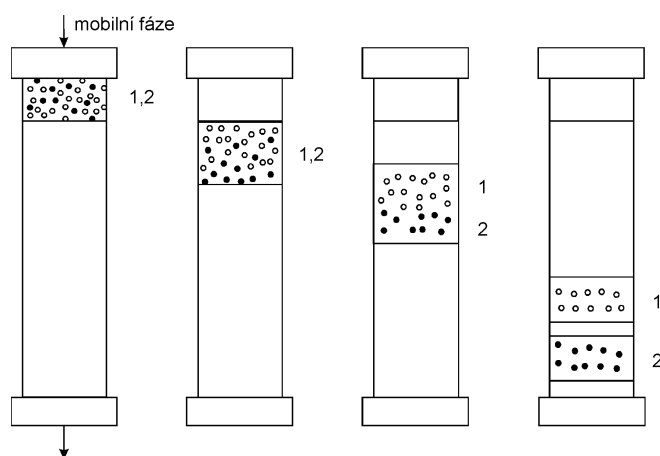
Tabulka 18.1.: Rozdělení významnějších chromatografických technik

Fáze mobilní	Fáze stacionární	Technika	Symbol
plyn	kapalina	plynová rozdělovací chromatografie	GLC
plyn	tuhá látka	plynová adsorpční chromatografie	GSC
kapalina	kapalina	kapalinová rozdělovací chromatografie	LLC
kapalina	kapalina	gelová permeační chromatografie	GPC
kapalina	tuhá látka	kapalinová adsorpční	LSC
kapalina	tuhá látka	iontově výměnná chromatografie	IEC

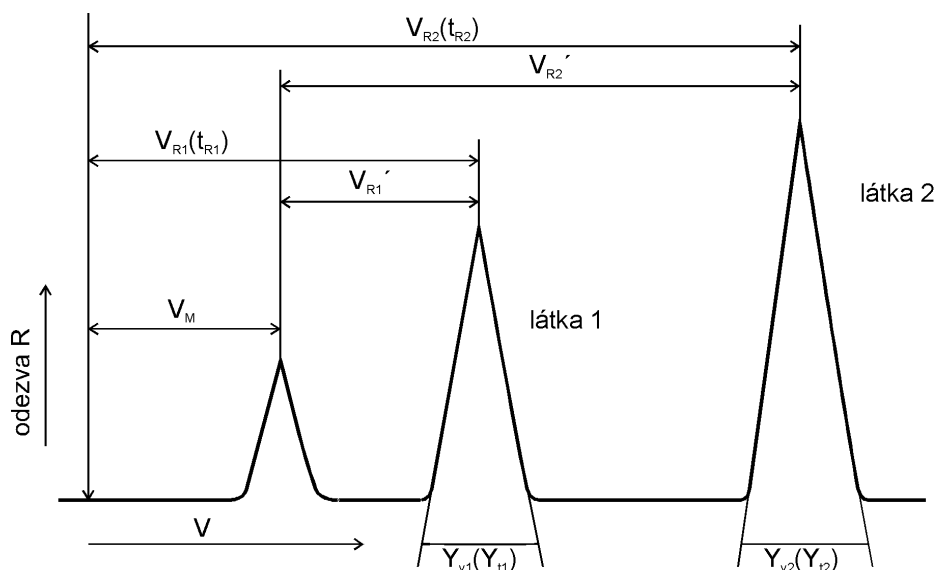
Techniky kapalinové chromatografie lze též dělit podle způsobu zavádění vzorku na kolonu a podle eluční síly mobilní fáze. Dnes se v praxi takřka výlučně používá tzv. *eluční vyvíjení*, kdy se vzorek zavede na kolonu v začátku analýzy a jeho složky jsou na koloně silněji sorbovány než složky mobilní fáze. Jednotlivé komponenty vzorku jsou eluovány z kolony v pořadí podle velikosti sorpce na stacionární fázi a jsou odděleny čistou mobilní fází. Mění-li se polarita mobilní fáze během analýzy s časem, jde o tzv. gradientovou eluci.

18.2. Princip chromatografické separace

Při nástřiku vzorku, např. dvojice látek do chromatografické kolony, se nejprve utvoří zóna, obsahující směs obou složek. Ty jsou potom unášeny mobilní fází a na koloně naplněné sorbentem dochází k jejich rozdělení (separaci) (obr. č. 18.1.). Po výstupu první látky z kolony indikuje detektor její přítomnost v eluátu a zaznamená tzv. eluční pík. Když obě rozdělené látky opustí kolonu, jsou na záznamu zapisovače patrné dva oddělené eluční píky (obr. č. 18.2.).



Obr. č. 18.1.: Separace vzorku o dvou složkách



Obr. č. 18.2.: Chromatografický záznam separace dvou látek a nesorbujícího se inertu

V_M - mrtvý objem, V_R - eluční objem, V_R' - redukovaný eluční objem, Y_{v1} - šířka eluční křivky látky 1 v základně v objemových jednotkách, Y_{t1} - šířka eluční křivky látky 1 v časových jednotkách, I - inertní nesorbující se složka

Při chromatografickém procesu přejde každá molekula vzorku mnohokrát z mobilní fáze do sorbentu a zpět. Doba, po níž separovaná látka setrvá v koloně, závisí na četnosti a velikosti interakcí a určuje pořadí, v němž složka opouští kolonu. Čím větší jsou tyto interakce ve stacionární fázi, tím větší je hodnota retenčního (elučního) času.

Kolonou naplněnou sorbentem postupuje určitou rychlostí mobilní fáze. Na začátku kolony umístíme vzorek, který obsahuje složky 1 a 2. Mobilní fáze unáší vzorek ke konci kolony, přičemž obě složky postupují pomaleji než mobilní fáze a z toho složka 2 pomaleji než složka 1 (složka 2 je oproti složce 1 více retardována). Při postupu vzorku kolonou jsou molekuly složek buď v mobilní fázi, a potom se pohybují stejnou rychlostí jako mobilní fáze, nebo jsou vázány na povrchu sorbentu a potom se nepohybují vůbec. Navenek se tyto děje projevují tak, že každá ze složek vzorku putuje kolonou svou vlastní konstantní rychlostí. V každém okamžiku je systém velmi blízko rovnováhy, kterou lze popsat distribuční konstantou K_D :

$$K_D = [A]_s / [A]_m = (n_A)_s V_m / ((n_A)_m V_s) \quad (1)$$

kde $(n_A)_s$ a $(n_A)_m$ jsou látková množství složky A ve fázi stacionární a mobilní. Symboly V_s a V_m značí objemy těchto fází.

Charakteristickou veličinou chromatografované látky v daném systému je retenční čas nebo retenční objem (t_R resp. V_R). Retenční objem je celkový objem mobilní fáze proteklý od

nástřiku vzorku do kolony až po maximum eluční křivky. Retenční čas je obdobně doba od nástřiku po maximum píku. Tyto dvě veličiny vzájemně souvisí vztahem:

$$V_R = t_R \cdot F_m \quad (2)$$

kde F_m je objemový průtok mobilní fáze kolonu (rozměr např. $[\text{ml} \cdot \text{s}^{-1}]$). Retenční objem je dán součtem dvou objemových veličin:

$$V_R = V'_R + V_M \quad (3)$$

kde V'_R je redukovaný retenční objem, V_M je tzv. mrtvý objem, tj. celkový objem, jenž zaujímá mobilní fáze od místa nástřiku přes kolonu až po detektor. Mrtvý objem V_M se zjistí experimentálně jako eluční objem nesorbující se inertní složky vzorku (viz obr. č. 18.2.).

Průběh separace ovlivňují dva faktory, termodynamický a kinetický. Termodynamický faktor zahrnuje vliv interakce chromatografovaných složek se sorbentem a z toho vyplývající rozdílné mechanismy separace. Kinetický faktor zahrnuje vliv průtoku mobilní fáze, vliv difuze složek v mobilní i ve stacionární fázi na rozšiřování elučních křivek. Z hlediska kinetického můžeme tedy úspěšně separovat dvě složky i při menším rozdílu v retenčních časech za předpokladu, že píky budou úzké, aby nedošlo k jejich překryvu.

18.2.1. Základní pojmy a definice

K popisu probíhajících dějů je třeba definovat některé další základní pojmy. Z rovnice (2) vyplývá vztah mezi elučním objemem a elučním časem. Hodnota F_m značí objemový průtok. Lineární průtok mobilní fáze označíme u $[\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}]$ a vypočítáme jej ze vztahu:

$$u = L / t_M \quad (4)$$

kde L je délka kolony $[\text{cm}]$ a t_M - mrtvý eluční čas. Kterákoli ze složek (např. označená A), které se sorbují v koloně, postupuje lineární rychlostí u_A .

$$u_A = L / t_{R,A} \quad (5)$$

Relativní retence (R_F) užívaná zejména v tenkovrstvé chromatografii, je dána vztahem:

$$R = u_A / u = l_A / l \quad (6)$$

Její hodnota se v tenkovrstvé chromatografii zjišťuje změřením vzdálenosti čela rozpouštědla od startu l a změřením vzdálenosti těžiště skvrny od startu l_A .

Velmi často se k vyjádření retenčních charakteristik využívá veličina k - tzv. kapacitní poměr. Je to bezrozměrná veličina, která udává hodnotu retence příslušné separované složky na základě velikosti mrtvého objemu či času.

$$k = K_D V_S / V_m = (V_{R,A} - V_M) / V_M = (t_{R,A} - t_M) / t_M = V'_R / V_M = t'_R / t_M \quad (7)$$

kde V_s a V_m jsou objemy stacionární a mobilní fáze. Hodnotu V_m lze zpravidla ztotožnit s hodnotou V_M (volným prostorem v koloně).

18.2.2. Teorie ideální chromatografie

Účinnost chromatografického procesu můžeme zjednodušeně vyjádřit pomocí tzv. počtu teoretických pater kolony n . Předpokládáme, že celá kolona je rozdělena na velké množství elementárních jednotek - pater. Na každém patře dochází k ustavení rovnováhy. Dále předpokládáme, že difúze ve směru pohybu mobilní fáze je zanedbatelná, a že průtok mobilní fáze kolonou není kontinuální, ale uskutečňuje se po malých přírůstcích, které mají objem patra.

S účinností bezprostředně souvisí i tvar eluční křivky, který má v ideálním případě tvar Gaussovy křivky. Její šířka označovaná Y s indexem V (je-li na ose x vynášen eluční objem) nebo s indexem t (je-li vynášen eluční čas), je pro výpočet účinnosti rozhodující (viz obr. č. 18.2.). Počet teoretických pater (n) chromatografické kolony se vypočítá ze vztahu:

$$n = 16 (V_R / Y_V)^2 \quad (8)$$

Známe-li celkovou délku kolony (L), můžeme vypočítat i výškový ekvivalent teoretického patra H :

$$H = L / n \quad (9)$$

Výškový ekvivalent teoretického patra je délka kolony, v níž se dosahuje rovnováhy mezi oběma fázemi. Na základě hodnot H pro danou látku je možno účinnost chromatografických kolon porovnávat.

18.2.3. Rozlišení píků

Hlavním cílem chromatografie je co nejlépe rozdělit analyzované látky v přijatelném čase. Je účelné kvalitu rozdělení vhodně kvantifikovat. Míra relativní separace dvou látek (1,2) $R_{1,2}$ je dána vztahem:

$$R_{1,2} = 2 (V_{R,2} - V_{R,1}) / (Y_{V,1} + Y_{V,2}) \quad (10)$$

Za předpokladu ideálního tvaru elučních křivek postačuje pro dobré rozdělení zpravidla $R_{1,2} = 1$, kdy vzdálenost mezi maximy obou píků se rovná střední šířce píků. Při $R_{1,2} = 1$ se píky překrývají pouze z 2 %. Dokonalého rozdělení obou píků až na základní linii dosáhneme při $R_{1,2} = 1,5$. Ještě větší rozlišení pouze zbytečně prodlužuje dobu analýzy a je vlastně nežádoucí.

Rovnice (10) umožňuje kvantitativní vyjádření rozlišení. Chceme-li však zjistit, jaké parametry chromatografického systému je třeba měnit, aby se rozlišení zvýšilo, použijeme jiný vztah:

$$R_{1,2} = (\sqrt{n_1} / 4) (\alpha - 1) (k_1 / (1 + k_1)) \quad (11)$$

kde $\alpha = k_2/k_1$ se nazývá separační faktor.

Rozlišení je tedy ovlivňováno třemi, do značné míry nezávislými faktory.

Kinetický člen $(\sqrt{n_1} / 4)$ udává, že rozlišení je přímo úměrné druhé odmocnině počtu pater kolony. Hodláme-li změnit hodnotu tohoto členu, můžeme měnit: rychlost mobilní fáze, délku kolony, velikost částecek sorbentu a teplotu.

Termodynamický člen $(\alpha - 1)$ udává, že rozlišení je přímo úměrné separačnímu faktoru α a blíží se k nule, když separační faktor se blíží k jedničce. Jeho hodnotu můžeme ovlivnit: změnou stacionární fáze, změnou mobilní fáze (u kapalinové chromatografie), změnou obou fází zároveň (u kapalinové chromatografie).

Kapacitní člen $k_1/(1+k_1)$ udává, že rozlišení roste s rostoucí hodnotou kapacitního poměru a blíží se k nule, když hodnota k se blíží k nule. Jeho hodnotu můžeme ovlivnit: množstvím stacionární fáze v koloně, změnou teploty (zejména u plynové chromatografie), změnou stacionární nebo mobilní fáze (souvisí i se změnou α).

Z praktického hlediska ve většině případů začínáme optimalizovat rozlišení tím, že se snažíme dosáhnout maximální účinnosti (největšího počtu pater). Pouze tehdy, když je velmi blízké jedničce, začínáme optimalizaci změnou separačního faktoru. Rychlost a snadnost zlepšení rozlišení klesá přibližně v tomto pořadí:

- zvýšení n zmenšením rychlosti toku mobilní fáze,
- zvýšení k snížením eluční síly mobilní fáze,
- zvýšení n použitím delší kolony nebo náplně jemnějšího zrnění,
- zvýšení selektivity optimalizací systému stacionární a mobilní fáze.

V tomto pořadí však též roste i účinnost příslušného zásahu pro zvýšení rozlišení. V praxi tedy hledíme na to, zda práce s optimalizací rozlišení a doby trvání analýzy je vzhledem k cílům daného analytického úkolu účelně vynaložena.

18.3. Plynová chromatografie

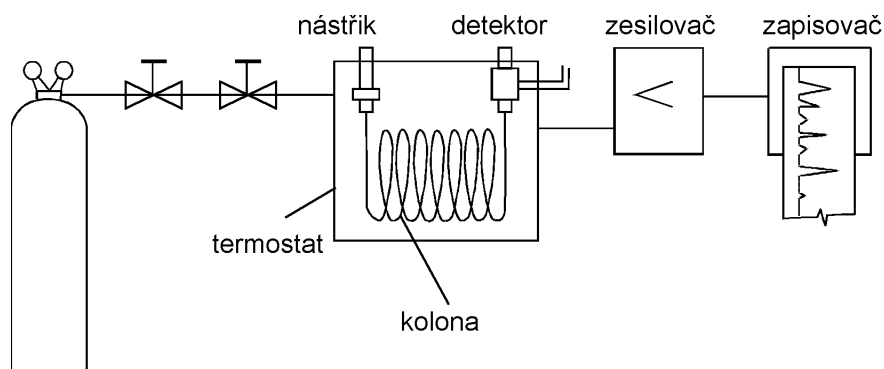
V plynové chromatografii je mobilní fáze plynná a rovněž separované složky jsou ve stavu plynném. Pracujeme-li s kapalným vzorkem, volíme takovou teplotu, aby molekuly dělených složek byly v podobě par. Stacionární fází může být tuhá látka (chromatografie GSC, Gas-Solid Chromatography) nebo kapalina zakotvená na nosiči (Chromatografie GLC, Gas-Liquid Chromatography). Při dělení jsou složky transportovány kolonou nosným plynem. Složky se rozdělí mezi nosný plyn a stacionární fází. V případě chromatografie GSC dochází k separaci většinou na principu adsorpce či síťového efektu, u GLC se složka rozděluje mezi plynnou mobilní fází a kapalnou stacionární fází.

Jak u GSC, tak u GLC působí stacionární fáze selektivně na jednotlivé separované látky. Na základě vzájemných interakcí dochází k více méně selektivní retenci složek vzorku na koloně a tedy i k jejich rozdílné eluci. Rozdělené složky jsou nosným plynem vynášeny z kolony do detektoru, kde je jejich množství zaznamenáno v souvislosti s časem či objemem proteklého nosného plynu.

Plynový chromatograf se skládá z těchto částí:

- zdroje nosného plynu,
- zařízení pro regulaci průtoku nosného plynu a měření jeho tlaku,
- termostátované nástřikové komůrky,
- chromatografické kolony v termostátovaném prostoru,
- detektoru, zesilovače a záznamového zařízení s integrátorem plochy píků.

Schéma plynového chromatografu je znázorněno na obr. č. 18.3. Zdrojem nosného plynu je nejčastěji tlaková láhev s redukčním ventilem. Volba nosného plynu souvisí s použitým detektorem. Obvykle se volí dusík či hélium, v některých případech též vodík, argon či oxid uhličitý. Průtok nosného plynu se reguluje jehlovými ventily. Tlak v koloně souvisí s rychlostí proudění plynu, s délkou kolony, jejím vnitřním průměrem a náplní.



Obr. č. 18.3.: Schéma plynového chromatografu

Vzorek se vnáší do kolony nástřikovou hlavou. Je konstruována jako malá komůrka proplachovaná nosným plynem a má nezávislé termostatování. Kapalně vzorky se nástřikují injekční mikrostříkačkou. Po propíchnutí pryžového septa je v krátkém okamžiku vzorek dávkován do nástřikové komůrky, kde vzhledem k dostatečně vysoké teplotě dojde k jeho okamžitému odpaření. Dávkované objemy se pohybují řádově v jednotkách mikrolitrů. Při dávkování plynů se kromě injekčních stříkaček používají kapiláry s definovaným objemem, které jsou zapojeny v systému vícecestných ventilů. U plyných vzorků se zpravidla dávkuje několik mililitrů vzorku. V případě práce s kapilárními kolonami se používá tzv. dělič (splitr), který odvede nadbytečné množství vzorku mimo kolonu, aby nedošlo k jejímu zahlcení. Moderní přístroje bývají pravidelně vybaveny zařízením pro automatické dávkování vzorku. Vzorek v plyné fázi je nosným plynem transportován do kolony umístěné v termostatu. Takřka výhradně se používají vzduchové termostaty. Více než přesné nastavení teploty v termostatu je důležitější stabilní a dokonalé rozložení teploty v celém termostatovém prostoru.

Často se kromě izotermického režimu pracuje v plynové chromatografii s teplotou, která se během analýzy programově mění. Tato technika je obvyklá pro dělení látek s rozdílnou teplotou varu. Výsledkem je dobré rozdělení při celkovém zkrácení celého procesu.

18.3.1. Kolony používané v plynové chromatografii

Kolony mohou být náplňové či kapilární. Náplňové kolony jsou plněné buď adsorbentem (GSC) nebo inertním nosičem smočeným zakotvenou stacionární fází (GLC). Kapilární kolony mají vnitřní povrch potažen tenkým filmem zakotvené fáze. Obvyklým materiálem pro výrobu obou typů kolon je sklo (dříve též nerez ocel, či hliník). U kapilárních kolon je dnes však sklo vytlačováno syntetickým křemenem (fused silica). Křemenné kapilární kolony jsou chráněny před mechanickým poškozením vnějším polymerním polyimidovým povlakem typické hnědožluté barvy.

Délka náplňových kolon se pohybuje v rozmezí od několika decimetrů do několika metrů, vnitřní průměr mezi 3–8 mm. Kapilární kolony měří obvykle 20–200 m a vnitřní průměr bývá 0,1–0,3 mm.

18.3.1.1. Náplňové kolony

Při chromatografii GLC se kolony plní zrný inertního nosiče, na jejichž povrchu je zakotvena stacionární fáze. Nosič bývá nejčastěji křemelinového typu. Měl by být inertní s malými adsorpčními vlastnostmi a dostatečně tvrdý. Tyto nosiče s přesně definovaným průměrem zrn (0,1–0,2 mm) jsou deaktivovány kyselým promýváním, silanizací apod. Prodávají se pod různými obchodními názvy - např. Chromosorb, Chromaton, Inerton, atd. Na povrchu inertního nosiče je zakotvena vhodná stacionární fáze, která je při pokojové teplotě zpravidla tuhá. Při analýze za provozní teploty však tvoří na povrchu inertního nosiče tenký kapalný film. Běžně se na inertní nosiče nanáší 1–20 % stacionární fáze. Kapalná stacionární fáze má rozhodující vliv na dělicí schopnosti kolony. Musí dobře rozpouštět analyzovaný vzorek, být teplotně stálá, mít malou těkavost a nízkou viskozitu při pracovní teplotě kolony. Volba

stacionární fáze je zodpovědnou částí práce a vyžaduje značné zkušenosti. Obecně platí, že zvolená stacionární fáze má mít podobné složení a polaritu jako analyzovaný vzorek (viz tab. 18.2.).

Tabulka 18.2.: Příklad některých běžnějších stacionárních fází

Polarita	Označení	Použití
nepolární	squalan, Apiezon, SE-30	uhlovodíky, steroidy, amidy
středně polární	dinonylfthalát, SP-2250	chlorované pesticidy, fenoly, estery
silně polární	Carbowax 20M, SP-2340, OV-275	alkoholy, těkavé mastné kyseliny, estery, ketony

Polární látky rozdělíme nejlépe na polárních fázích, nepolární látky na nepolárních fázích. Čím je zakotvená fáze polárnější, tím je její působení selektivnější. Na nepolárních fázích se látky dělí podle svých teplot varu.

Náplňové kolony pro GSC obsahují jako náplň některý z běžných adsorbentů (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý, molekulová síta) nebo některý z makroporézních polymerních sorbentů. Chromatografie GSC se používá zvláště k analýze plynů, uhlovodíků a některých jejich derivátů. Je méně používanou variantou plynové chromatografie, i když moderní polymerní sorbenty otevírají této technice nové obzory.

18.3.1.2. Kapilární kolony

Na rozdíl od náplňových kolon, které si kromě specializovaných výrobců připravují někdy v laboratořích specialisté sami, kapilární kolony takřka výhradně vyrábějí chemické firmy. Na zdrsňených stěnách těchto kolon je nanesen film stacionární fáze, často stejné, jako na povrchu inertních nosičů u náplňových kolon. Výhodou kapilárních kolon je jejich podstatně vyšší dělicí účinnost oproti náplňovým kolonám.

18.3.2. Detektory v plynové chromatografii

Látky, které opouštějí kolonu, vstupují spolu s nosným plynem do detektoru. Změny fyzikálních či chemických vlastností nosného plynu podmíněné přítomností eluovaných látek vyvolávají příslušné odezvy u detektorů nejrůznější konstrukce.

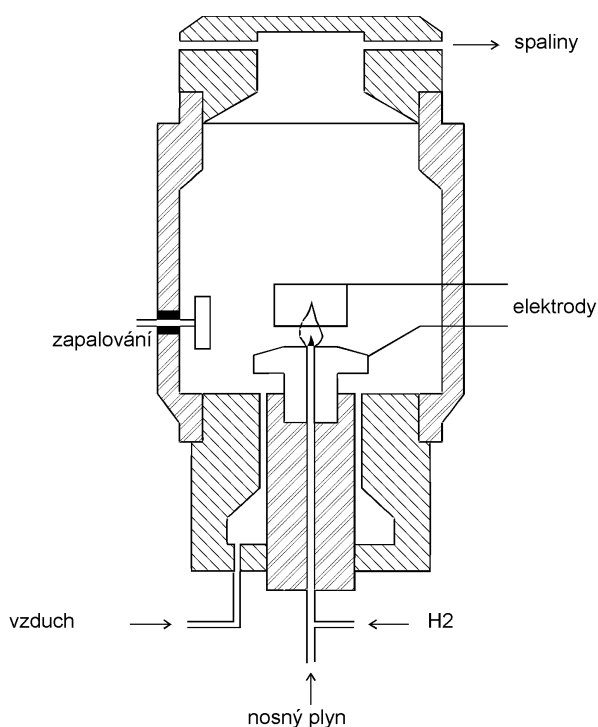
18.3.2.1. Tepelně vodivostní detektor - katarometr (TCD)

Tepelně vodivostní detektor obsahuje tenké odporové vlákno umístěné uvnitř kovového bloku. Vlákno je zahříváno na určitou teplotu průchodem konstantního elektrického proudu. Prochází-li detektorem temperovaným na konstantní teplotu čistý nosný plyn o konstantním

průtoku, je také teplota odporového vlákna konstantní. Eluovaná látka mění obecně tepelnou vodivost nosného plynu, proto se v okamžiku její eluce změní teplota vlákna a tím i jeho elektrická vodivost. Pro TCD je nejvhodnější takový nosný plyn, který má největší tepelnou vodivost. Z těchto důvodů se zde využívá nejčastěji vodíku či helia. TCD je univerzální, avšak svou citlivostí se řadí mezi méně citlivé detektory.

18.3.2.2. Plamenový ionizační detektor (FID)

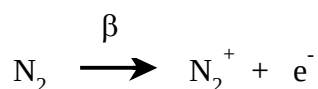
Základní částí tohoto detektoru (obr. č. 18.4.) je miniaturní hořáček, v němž je spalována směs nosného plynu vycházejícího z kolony a vodíku, který je k nosnému plynu před vstupem do hořáčku přimíchán. Ionty, elektrony a molekulové fragmenty, které se vytvoří spálením eluovaných složek vzorků zvýší elektrický tok mezi hořáčkem a elektrodou umístěnou nad hořáčkem. Aby byl zajištěn stabilní vodíkový plamínek, přivádí se do spodní části detektoru regulačním ventilem vzduch. Geometrie hořáčku a elektrod má vliv na velikost odezvy detektoru. FID však není na rozdíl od TCD detektorem univerzálním. Nedává odezvu např. na H_2O , CS_2 , HCOOH , $(\text{COOH})_2$, NH_3 , H_2S a některé další látky.



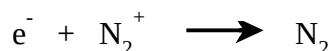
Obr. č. 18.4.: Plamenový ionizační detektor

18.3.2.3. Detektor elektronového záchytu (ECD)

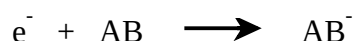
Tento detektor se skládá z dvou elektrod - anody a katody. Katoda je vyrobena z radioaktivního materiálu (nejčastěji ^{63}Ni). Nosný plyn - dusík či argon se snadno ionizuje měkkým β zářením katody:



přítom vznikají z nosného plynu kationty a pomalé elektrony. Je-li v detektoru jen nosný plyn, přenáší se migrací nabitých částic mezi elektrodami elektrický náboj úměrný proudu. Tento základní elektrický proud je malý (10^{-8} A), protože hodně elektronů zaniká rekombinací:



Když se nosným plynem vymyje do detektoru látka s elektronegativními vlastnostmi, pomalé elektrony se zachytí za vzniku aniontů:



jejichž hmotnost je podstatně větší než hmotnost elektronů. Důsledkem je zbrzdění přenosu náboje a pokles elektrického proudu.

ECD je velmi selektivní zvláště ke sloučeninám obsahujícím atomy halogenů, fosforu, síry, olova, kyslíku, k nitrosloučeninám a aromatickým uhlovodíkům. Má velký význam pro analytickou chemii polutantů životního prostředí.

18.3.3. Využití plynové chromatografie v praxi

Aplikační oblast plynové chromatografie zahrnuje nesmírně široké spektrum převážně organických látek. V úvahu připadají zejména těkavé a tepelně stálé látky. Plynová chromatografie je tedy zvláště vhodná pro analýzy uhlovodíkových směsí v potravinářském průmyslu, analýzy polutantů životního prostředí, např. zjišťování a identifikace stop derivátů akrylové a metakrylové kyseliny (rezidua nátěrových hmot, plastů), stanovení reziduí polychlorovaných bifenylovů, herbicidů, polyaromatických uhlovodíků a řady dalších zdravotně významných látek.

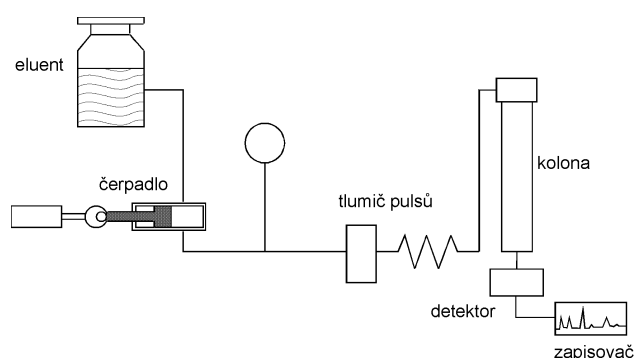
18.4. Kapalinová chromatografie

Princip a podstata separačních dějů uplatňujících se v kapalinové chromatografii se v zásadě neliší od chromatografie plynové. Hlavní rozdíly oproti plynové chromatografii spočívají v minimální kompresibilitě mobilní fáze, malém vlivu teploty na separaci a velmi významné aktivní úloze mobilní fáze.

Kapalinová chromatografie zahrnuje všechny chromatografické způsoby separace, kdy je mobilní fáze kapalná. S ohledem na experimentální uspořádání hovoříme o kapalinové chromatografii v otevřeném systému (papírová a tenkovrstvá chromatografie) a v uzavřeném systému (dnes zejména vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC).

18.4.1. Přístroje pro kapalinovou chromatografii

Mezi plynovým a kapalinovým chromatografem existuje jistá podobnost. Mobilní fáze je při isokratické eluci vedena ze zásobníku přes odplyňovač do vysokotlakého čerpadla, při gradientové eluci se komponenty mobilní fáze přivádějí ze zásobníku do směšovače, kde se programově mísí v zvoleném poměru a teprve pak postupují do čerpadla. Odtud je mobilní fáze vedena přes tlumič pulzů čerpadla do kolony. Kolona bývá obvykle vyrobena z nerez oceli či speciálního skla a bezprostředně za ni je připojen detektor. Ten je spojen se zařízením pro registraci průběhu analýzy (zapisovač, či dnes takřka výhradně PC s hardwarovou úpravou a vyhodnocovacím software). Někdy bývá za detektor zařazen tzv. sběrač frakcí mobilní fáze, jenž umožňuje zachytit separovanou složku vzorku, např. pro následnou detailní identifikaci. Schéma isokratického kapalinového chromatografu je uvedeno na obr. č. 18.5.



Obr. č. 18.5.: Schéma isokratického kapalinového chromatografu

18.4.1.1. Čerpadla pro HPLC

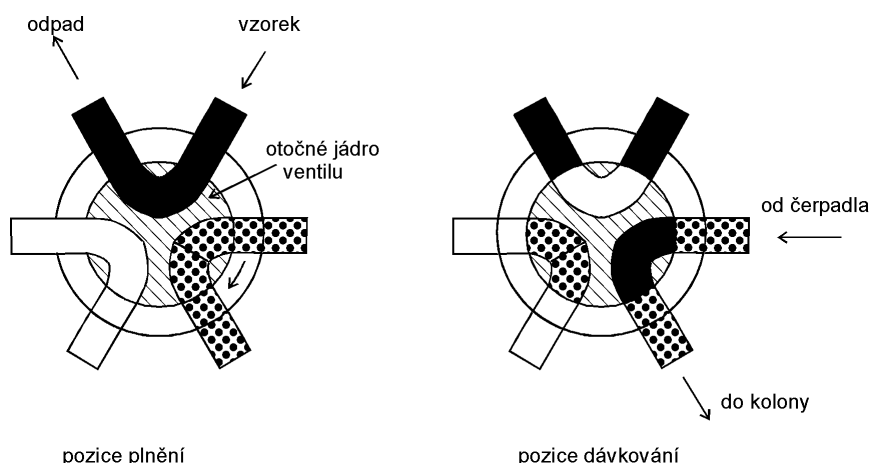
Běžně se v HPLC pracuje s tlaky od 1 do 60 MPa, při průtocích mobilní fáze v rozsahu od 0,1 do 10 ml.min⁻¹. Dříve bylo velkým problémem dávkovat za těchto náročných tlakových podmínek do kolony mobilní fázi bezpulzně. Hojně se proto využívaly tzv. lineární dávkovače. Jde o válcovou komoru o objemu 200 až 500 ml, ve které se pohybuje píst podobně jako v injekční stříkačce. Komora je naplněna mobilní fází a dodávané množství se řídí rychlostí pohybu pístu. Výhodou těchto čerpadel je vyloučení pulzace mobilní fáze, nevýhodou je omezená kapacita rezervoáru a nutnost přerušení práce v souvislosti s opětným plněním zásobníku.

Dnes je dávana přednost spíše kontinuálně pracujícím pulzujícím čerpadlům pístovým či membránovým. Při každém pohybu pístu nebo membrány vpřed dochází k vytlačení malého objemu mobilní fáze do systému. Pulzace je tlumena zařazením dalšího čerpadla pracujícího v opačné fázi (dual head pumps) a/nebo zařazením tlumiče pulzů. Tlumičem bývá odporový element z několika závitů svinuté kapiláry či kapacitní elementy o malém vnitřním objemu, kde se k tlumení pulzů využívá stlačitelnosti vnitřního jádra elementu zhotoveného z pružného inertního plastu. Moderní čerpadla jsou doplněna elektronicky řízenými zpětnovazebnými systémy, reziduální tlakové pulzace přímo ovládají otáčky motoru. Tento problém je dnes prakticky vyřešen.

18.4.1.2. Dávkování vzorků

Dávkovat vzorky lze u HPLC podobně jako u GC perforací pryžového septa mikrostríkačkou. Uvedený způsob se však vzhledem k vysokým provozním tlakům v koloně používá jen velmi zřídka. Běžnějším, i když dnes rovněž ustupujícím způsobem, je nástřik mikrostríkačkou pomocí tzv. "stop flow" ventilu, který umožní krátkodobé rozpojení systému čerpadlo - kolona, po nástřiku dojde opět k propojení těchto částí systému.

Zcela převažujícím způsobem nástřiku vzorku je použití tzv. šesticestného kohoutu s dávkovací smyčkou (obr. č. 18.6.). Smyčka o známém konstantním objemu se nejprve naplní vzorkem, poté se kohout přepne do druhé polohy, kdy eluent protéká smyčkou a vnese vzorek do kolony.



Obr. č. 18.6.: Schéma dávkovacího ventilu

18.4.2. Kolony pro HPLC

Pro HPLC se používají rovné kolony o délce 10–100 cm, nejčastěji 10–20 cm s vnitřním průměrem od 0,2 do 2 cm. Při dělení složitějších směsí se někdy kolony řadí za sebou. U přírodních vzorků, jež obsahují mnoho balastních látek, jež by mohly vyvolat předčasné znehodnocení kolony, se často před vlastní kolonou zařazuje ochranná předkolonka. Její cena je nižší, než cena kolony. Včasnou výměnou předkolonky chráníme separační kolonu. Kolony pro HPLC jsou dnes plněny výhradně profesionálně, velikost zrn sorbentu se pohybuje mezi 3–50 μm , nejčastěji mezi 5–10 μm .

18.4.3. Náplně a eluenty

18.4.3.1. Kapalinová adsorpční chromatografie (LSC)

Silikagel je polární adsorbent slabě kyselých vlastností. Z tohoto důvodu silně retarduje bazické látky. Bývá obvykle amorfni struktury, snadno přijímá vodu a před použitím je běžná jeho aktivace při 180 °C.

Alumina je krystalická forma Al_2O_3 . Na rozdíl od silikagelu je povrch zrn bazický, čehož lze využívat k oddělení slabě kyselých složek vzorku. Aktivuje se obvykle zahříváním na 400 °C po dobu 6–16 hodin.

Florisil je slabě kyselý polární adsorbent (křemičitan hořečnatý).

Povrch adsorbentu je obsazen molekulami eluentu, po vnesení vzorku do kolony musí molekula složky vytěsnit z povrchu adsorbentu odpovídající počet molekul eluentu. Velký vliv má přitom adsorpční energie eluentu (velikost interakce mezi eluentem a povrchem adsorbentu). Interakce mezi složkou a eluentem jsou méně významné. Velikost interakce mezi eluentem a povrchem adsorbentu je označována jako eluční síla. Z běžných rozpouštědel má nejnižší eluční sílu pentan, největší voda. Čím je eluční síla rozpouštědla vyšší, tím pevněji je eluent adsorbován a složka je adsorbována méně. V hrubém přiblížení souvisí eluční síla rozpouštědla velmi těsně s jeho polaritou.

18.4.3.2. Kapalinová rozdělovací chromatografie (LLC)

Jako adsorbenty při tomto typu chromatografie se dnes takřka výhradně používají stacionární fáze chemicky vázané na reaktivním nosiči. Základem těchto náplní je silikagel, jehož povrch je derivatizací upraven tak, že na fázovém rozhraní stacionární a mobilní fáze jsou fixovány skupiny:

nepolární: $\text{C}_8\text{H}_{17}-$, $\text{C}_{18}\text{H}_{37}-$, fenyl.

středně polární až polární: $-\text{C} \equiv \text{N}$, $-\text{NH}_2$

Dnes převažuje použití nepolárních, oktadecylových skupin. Chromatografii na těchto typech náplní označujeme jako "chromatografii na reverzní fázi".

18.4.3.3. Chromatografie na reverzní fázi

V klasické kapalinové chromatografii se obvykle používal polární silikagel jako stacionární fáze, a spíše nepolární rozpouštědlo jako mobilní fáze. Historicky mladší je použití hydrofobizovaného silikagelu (nepolárního) jako stacionární fáze a spíše polární mobilní fáze. Tento systém se nazývá chromatografie na reverzní fázi. Jako mobilní fáze se nejčastěji používají binární či ternární směsi vody, methanolu, acetonitrilu, tetrahydrofuranu či dioxanu. Úpravou pH mobilní fáze můžeme významně měnit retenční parametry mnohých látek. Zvýšením pH se zvýší retenční časy bazických složek a sníží retenční časy složek kyselých. Opačného efektu docílíme snížením pH mobilní fáze. Chromatografie s reverzními fázemi se dnes používá u 80 % aplikací HPLC.

18.4.4. Detektory

Kapalinová chromatografie postrádá takřka univerzální detektor, jakým je u GC plamenový ionizační detektor či tepelně vodivostní detektor. Velmi je rozšířen průtokový fotometrický či fluorimetrický detektor. Eluát protéká měrnou celou malého objemu s velkou optickou délkou (obvykle $V = 5\text{--}10\ \mu\text{l}$, $l = 10\ \text{mm}$). Při vhodně volené vlnové délce je registrována absorbance

eluátu. Moderní přístroje jsou vybaveny detektory s proměnlivou a programově měnitelnou vlnovou délkou či tzv. diode array detektorem, schopným proměřit ve zvoleném okamžiku celé UV/VIS spektrum složky. Získaná informace je důležitým kvalitativním údajem o sledované složce. Méně běžným detektorem je refraktometrický detektor registrující změny indexu lomu eluátu. Je obzvláště vhodný při separacích cukrů a jim podobných látek.

18.4.5. Využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie v praxi

Výhodou kapalinové chromatografie je často šetrnější stanovení nejrůznějších, zejména organických látek oproti plynové chromatografii, kdy se s látkami pracuje obvykle za zvýšené teploty. Výhodnější je použití HPLC spíše pro hůře těkavé látky tam, kde vznikají potíže s GC. Obě techniky se tak vhodně doplňují. Složky, jež běžnými detektory pro HPLC nelze dobře detekovat, se převádějí na snadno detekovatelné deriváty. Metoda HPLC se dnes široce využívá v průmyslu, zdravotnictví, farmacii a mnoha dalších oborech.

18.4.6. Kvalitativní chromatografická analýza

Základní způsob kvalitativního vyhodnocování chromatogramů je založen na znalosti retenčních dat chromatografovaných látek. Identifikace spočívá v porovnání retenčního času neznámé látky a standardu separovaného za stejných podmínek. Toto porovnání se provádí ve dvou odlišných chromatografických systémech. Jedním z nejlepších způsobů identifikace eluovaných látek je napojení plynového či kapalinového chromatografu na hmotnostní spektrometr. Spojení GC-MS, či LC-MS patří k nejlepším analytickým separačním a identifikačním systémům vůbec.

18.4.7. Kvantitativní analýza

Kvantitativním údajem detektorů je plocha pod eluční křivkou. Plochu je možno měřit řadou způsobů. Nejběžněji se postupuje násobením výšky píku šířkou v polovině výšky píku. Moderní chromatografy jsou však pravidelně vybaveny integrátorem plochy píků, jenž je dnes často součástí řídicího počítače chromatografu.

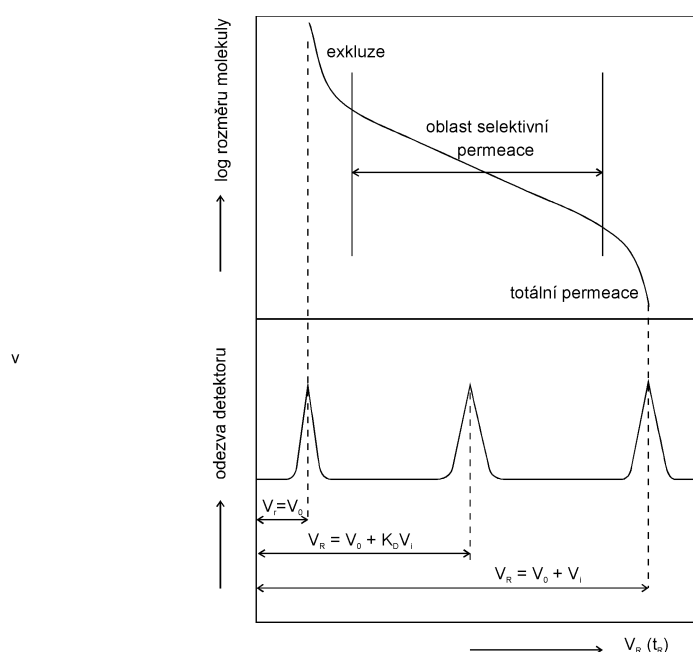
18.5. Gelová permeační chromatografie (GPC)

V gelové chromatografii se látky rozdělují mezi pohyblivou část mobilní fáze, která je mezi jednotlivými zrny gelu (její objem je V_o) a mezi nepohyblivou část mobilní fáze, která je uvnitř pórů gelu (V_i). Jednotlivé molekuly analyzovaných látek jsou separovány podle rozměrů či hmotností molekul. Různě velké molekuly jsou unášeny mobilní fází kolonou naplněnou porézním gelem, přičemž jsou zadržovány v důsledku svého pronikání do pórů gelu. Malé molekuly pronikají hlouběji a mají tedy vyšší hodnoty retenčních objemů. Naopak čím jsou molekuly větší, tím méně je pórů, do kterých mohou pronikat a jejich retenční čas je malý. Je-li rozměr molekul větší, než rozměr pórů, dochází k exkluzi a látky se eluují v čase, jenž odpovídá objemu V_o . Eluční objem v gelové chromatografii lze vyjádřit jako:

$$V_R = V_0 + K_D \cdot V_i$$

Hodnota distribuční konstanty K_D může v gelové chromatografii nabývat hodnot $K_D \leq 1$ a závisí pouze na velikosti pórů gelu. Pro velké molekuly, které nemohou pronikat do pórů, je $K_D = 0$ a $V_R = V_0$. Pro velmi malé molekuly je $K_D = 1$ a

$$V_R = V_0 + V_i \text{ (obr. č. 18.7.)}.$$



Obr. č. 18.7.: Eluce v gelové chromatografii

Přístroje pro gelovou chromatografii se neliší podstatně od kapalinových chromatografů. Čerpadla nemusí být konstruována pro vysoké tlaky, používané kolony jsou širší a delší oproti HPLC (4–8 mm, 60–300 cm).

18.5.1. Využití gelové permeační chromatografie

Pro frakcionaci a separaci látek rozpustných ve vodě se používají hydrofobní gely, např. Sephadex. Jeho strukturu tvoří hydrofilní trojrozměrná síť polysacharidického řetězce. Sephadexy se používají pro frakcionaci v oblasti $M_r = 10^2 - 10^5$. Jako mobilní fáze se používá voda, někdy s přídavkem organického rozpouštědla pro potlačení adsorpce. Tyto gely mají velký význam při biochemické analýze.

Jako příklad hydrofilních gelů lze uvést Spheryny. Jsou to methakrylátové kopolymery s ethylenglykolem. Uplatňují se při frakcionaci syntetických polymerních látek hydrofilního charakteru. Jako mobilní fáze se používají aromatické a chlorované uhlovodíky. Pro lepší

selektivitu se někdy do molekul gelové matrice zabudovávají některé skupiny, jež mohou interagovat se separovanými látkami. V tomto případě se jedná o tzv. *afinitní chromatografii*, která má velký význam v biochemii. Distribuční konstanta K_D v tomto případě nabývá hodnot větších než 1.

18.6. Chromatografie na měničích iontů

V chromatografii na měničích iontů je stacionární fází buď katex či anex. Součástí mobilní fáze je vždy voda. Metoda je používána pro separace iontů. Měníče kationtů nesou záporný náboj a jejich funkční skupina je kyselá (sulfokyselina, karboxylová kyselina). Měníč aniontů obsahuje bazickou funkční skupinu (aminoskupinu, kvarterní dusíkatou bázi) a je nositelem kladného náboje. Ion obsažený v měniči je vyměněn za ion obsažený v mobilní fázi nebo ve vzorku. Na základě soutěžení iontoměníče o tyto ionty dochází k separaci.

Jistým problémem tohoto typu chromatografie je detekce většiny iontů, které neabsorbují záření v ultrafialové oblasti, vodivostní detekce je rovněž problematická, jelikož v mobilní fázi je nezbytné použití vodivých iontů. Proto se někdy uplatňuje nepřímá fotometrická detekce, kdy mobilní fáze obsahuje ionty výrazně absorbující v UV oblasti (např. ftalátové ionty). Eluce iontů s menší či nulovou absorpcí se projeví negativním signálem detektoru. Uvedené potíže do značné míry odstranila *iontová chromatografie*.

18.7. Iontová chromatografie

Analytická kolona je plněna měničem iontů s malou kapacitou, což umožňuje použít k separacím mobilní fázi s poměrně nízkým obsahem elektrolytů (řádově v mmol.l^{-1}). Signál elektrolytů, jenž by rušil např. vodivostní detekci či UV detekci, lze při menší koncentraci elektrolytů potlačit buď elektrickou kompenzací, či zařazením pomocné - supresorové kolony. Tato kolona je plněna měničem kationtů v H^+ cyklu s poměrně vysokou kapacitou. Jako elektrolytu se v mobilní fázi používá uhličitánového - hydrogenuhličitánového tlumivého roztoku, který se v supresorové koloně převede na kyselinu uhličitou o nízké vodivosti, takže vodivostní detektor může detekovat vodivější anionty v separované směsi s poměrně vysokou citlivostí.

I když lze iontovou chromatografii použít k analýze kationtů, analýza anorganických aniontů převažuje. Metoda se používá pro analýzy aniontů v dešťové, pitné či povrchové vodě, v čistých chemikáliích, v moči atd.

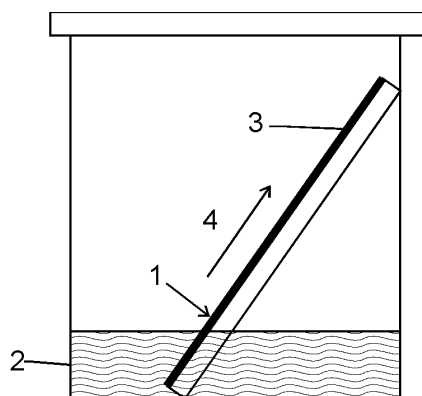
18.8. Kapalinová chromatografie v plošném uspořádání - FBC

Plošné uspořádání kapalinové chromatografie má dvě varianty - papírovou chromatografii (PC) a chromatografii na tenké vrstvě (TLC). U papírové chromatografie je nosičem zakotvené stacionární fáze speciální chromatografický papír, vyrobený z velmi čisté celulózy. Jedná se většinou o rozdělovací chromatografii, kde stacionární fází bývá nejčastěji voda, mohou se však podle potřeby použít i jiná rozpouštědla, jako formamid, parafínový olej a

další. Pro iontově výměnnou chromatografii se vyrábějí papíry impregnované organickými nebo anorganickými měniči iontů.

Chromatografie na tenké vrstvě se provádí na deskách, na kterých je nanесena tenká vrstva sorbentu. Může využívat všech separačních principů jako chromatografie kolonová (LSC, LLC, IEC a GPC). Nejčastěji se však používá chromatografie LSC s oxidem hlinitým nebo silikagelem jako sorbentem. Pro speciální účely se používají sorbenty na bázi syntetických polymerů.

Pracovní postup u obou těchto technik je obdobný. Na místo, vhodně vzdálené od okraje desky nebo papíru (start) se nanese kapka dělené směsi. Po odpaření rozpouštědla se deska nebo papír umístí do chromatografické komory, do níž se předem nasadí určité množství mobilní fáze a komora se nechá saturovat parami rozpouštědel. Vyvíjení chromatogramů u TLC se obvykle provádí vzestupně, tzn., že okraj desky se ponoří do rozpouštědla šikmo (obr. č. 18.8.) tak, aby skvrna vzorku (start) byla nad jeho hladinou. Rozpouštědlo vzlíná vrstvou sorbentu a unáší s sebou dělené složky. Po určité době se deska vyjme z rozpouštědla, to se nechá odpařit a provede se detekce.



Obr. č. 18.8.: Chromatografie na tenké vrstvě. 1 - start, 2 - mobilní fáze, 3 - vrstva sorbentu, 4 - směr pohybu rozpouštědla s dělenými složkami

U papírové chromatografie se nejčastěji používá vzestupné vyvíjení, jehož postup je v podstatě stejný jako u TLC.

Detekce se provádí nejčastěji vybarvením skvrn jednotlivých složek po postřiku chromatogramu vhodným činidlem, nebo prohlížením chromatogramu v ultrafialovém světle či jinou technikou.

Kvalitativní vyhodnocování chromatogramů u PC a TLC se provádí změřením hodnot R_F jednotlivých složek a jejich porovnáním se standardními vzorky, chromatografovanými za stejných podmínek.

Kvalitativní vyhodnocování je možno provádět několika způsoby, z nichž nejjednodušší je vizuální porovnání velikosti skvrn stanovené složky ve vzorku a ve standardu. Jinou možností je vymytí skvrn jednotlivých složek (například po rozstříhání chromatogramu) a použití některé z technik kvantitativní analýzy (např. fotometrie) ke stanovení.

19. Elektromigrační metody

Mezi separačními analytickými technikami zaujímají stále výraznější místo též elektromigrační metody. Využívají rozdílné pohyblivosti nabitých částic v stejnosměrném elektrickém poli. Pohyblivost nabitých částic závisí na velikosti náboje, velikosti a tvaru molekul, podmínkách prostředí, ve kterém separace probíhá a na síle použitého elektrického pole.

Elektromigrační techniky se praktikují výhradně v kapalně fázi, obvykle ve vodných roztocích. Je-li částice, nesoucí náboj Q umístěna do stejnosměrného pole o intenzitě E [$V \cdot m^{-1}$], působí na ni síla F_1 .

$$F_1 = z e E = Q E \quad (1)$$

Kde z udává náboj iontu. Tato síla uvádí ion do pohybu. Proti ní však působí odpor prostředí silou F_2 , která je přímo úměrná rychlosti částice v

$$F = - 6 \pi \eta r v = - k \eta v \quad (2)$$

kde η je viskozita roztoku, r je poloměr iontu, k je konstanta úměrnosti. Za ustáleného stavu jsou obě síly v rovnováze. Odtud

$$v = (Q / (k \eta)) E = u E \quad (3)$$

kde u je pohyblivost částice [$m^2 \cdot V^{-1} \cdot s^{-1}$]. Pohyblivost částice ve vodném prostředí je důležitým elektrochemickým údajem (tab. 19.1.).

Tabulka 19.1.: Hodnoty iontové pohyblivosti vybraných částic při 25 °C

Kationty	$u \cdot 10^9$ [$m^2 \cdot V^{-1} \cdot s^{-1}$]	Anionty	$u \cdot 10^9$ [$m^2 \cdot V^{-1} \cdot s^{-1}$]
H_3O^+	362,5	OH^-	205,5
Li^+	40,1	F^-	57,4
Na^+	51,9	Cl^-	79,1
K^+	76,2	NO_3^-	74,1

Elektroforetický pohyb iontů v roztoku se z makroskopického hlediska jeví jako vedení elektrického proudu roztoky elektrolytů. Kohlrauschův zákon o nezávislém putování iontů říká, že jak kationty, tak anionty přispívají nezávisle k celkovému množství převedeného náboje, tedy k hodnotě procházejícího elektrického proudu I . Pro proudovou hustotu i [$A \cdot m^{-2}$] platí:

$$i = I / S \quad (4)$$

kde S je efektivní průřez plochy, jíž ionty migrují. Každá nabitá částice přispívá k hodnotě i úměrně své koncentraci, náboji a rychlosti pohybu.

Proto

$$i = F E \sum_{j=1}^n c_j z_j u_j \quad (5)$$

kde c_j je koncentrace dané nabité částice [$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$] a F je Faradayova konstanta ($96\,487 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Proudová hustota i souvisí s intenzitou elektrického pole E :

$$i = I / S = E \kappa \quad (6)$$

kde κ je tzv. měrná vodivost ($\Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ či $\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$) viz též kapitola Konduktometrie.

Z rovnic (5) a (6) plyne:

$$\kappa = i / E = F \sum_{j=1}^n c_j z_j u_j \quad (7)$$

Hodnoty měrné vodivosti κ jsou pro řadu roztoků elektrolytů při různých koncentracích tabelovány. Aby bylo možno porovnávat různé elektrolyty z hlediska jejich elektrické vodivosti, byla zavedena veličina molární vodivost Λ [$\text{S} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$]:

$$\Lambda = \kappa / c \quad (8)$$

kde c je látková koncentrace elektrolytu [$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$]. Při tabelování hodnoty molární vodivosti elektrolytu musí být v závorce zároveň uveden vzorec sloučeniny, k níž se vztahuje koncentrace c .

U látek s ionty, nesoucími nejednotkový náboj z , bývá z historických důvodů vodivost roztoku vyjadřována jako ekvivalentová vodivost. Např. pro roztok chloridu barnatého platí:

$$\Lambda_{\text{ekv.}} = \Lambda (1/2 \text{ BaCl}_2) = \Lambda_{\text{mol}} / |z| \quad (8a)$$

Uvažuje-li se tedy ekvivalentová vodivost, symbol c v rovnici (8) představuje látkovou koncentraci v molech chemických ekvivalentů $c_{\text{ekv.}} = |z| c$.

Analogicky platí pro molární vodivost určitého iontu v roztoku:

$$\lambda_A = \kappa_A / c_A \quad (9)$$

kde κ_A je příspěvek iontu A k vodivosti roztoku a c_A je jeho látková koncentrace. Z (7) a (8) pak vyplývá:

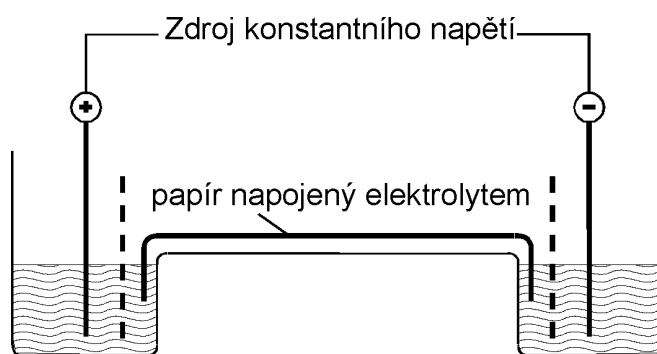
$$\lambda_A = F z_A u_A \quad (9a)$$

19.1. Elektroforéza

Zařízení pro klasickou elektroforézu se skládá ze dvou elektrod umístěných do rezervoárů elektrolytu (obvykle tlumivého roztoku). Oba rezervoáry jsou vodivě spojeny vhodným médiem napuštěným elektrolytem. Celý systém je uzavřen ve schránce, aby podobně jako u chromatografie TLC či PC, nedocházelo k odparu roztoku elektrolytu z porézního média.

Volba elektrolytu i porézního média závisí na charakteru separovaných látek. Jako médium se používá speciální filtrační papír napojený elektrolytem či skleněná deska s vrstvou celulosy či gelu. Vodivé spojení mezi katodou a anodou zajišťuje konstantní intenzitu elektrického pole E v celém systému. Z rovnice (3) vyplývá, že rychlost libovolného iontu bude přímo úměrná jeho pohyblivosti. Schéma zařízení pro elektroforézu je uvedeno na obr. č. 19.1.

Do středu papíru či gelu se dává malé množství vzorku ve formě tečky či čárky kolmé na směr pohybu iontů. Na svorky se připojuje napětí obvykle velikosti stovek voltů.



Obr. č. 19.1.: Aparatura pro elektroforézu

Kationty i anionty se dají do pohybu opačnými směry různou rychlostí a rozdělí se na více či méně oddělené skvrny či zóny. Detekce se provádí obdobně jako v TLC chromatografii.

19.1.1. Kapilární zónová elektroforéza

Na principu klasické elektroforézy, která téměř sto let neměnila výrazně svou podobu, je založena nová vysoce moderní a perspektivní analytická technika - kapilární zónová elektroforéza (KZE), též nazývaná vysokoúčinná kapilární elektroforéza HPCE. Jde o jednu z nejúspěšnějších separačních technik současnosti. Pro řadu aplikací předčí tato metoda vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC) a plynovou chromatografii (GC).

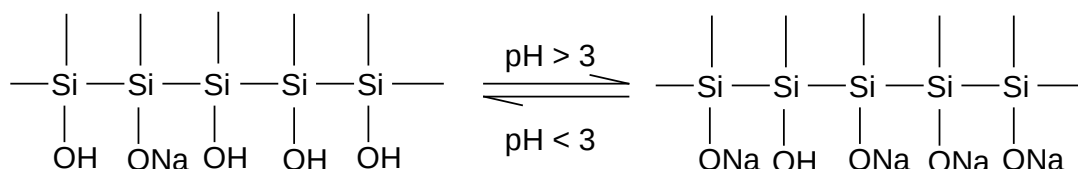
Při kapilární zónové elektroforéze jsou rezervoáry s tlumivým roztokem (podobně jako na obr. č. 19.1.) propojeny kapilárou vyplněnou rovněž tlumivým roztokem. Skutečnost, že separace probíhá v uzavřené tenké kapiláře, uděluje elektroforéze v tomto provedení kvalitativně zcela nové vlastnosti. V KZE lze používat stejné kapiláry, s jakými pracuje kapilární plynová chromatografie. Běžné kapiláry užívané v KZE mají vnitřní průměr 25 až

75 μm a jejich povrch není nijak upravován. Kapiláry jsou vyrobeny ze syntetického křemene (fused silica) a před mechanickým poškozením jsou chráněny polyiminovým pokryvem.

19.1.2. Specifika kapilární zónové elektroforézy

Hlavní výhodou elektroforézy v kapilárním provedení je možnost zvyšovat svorkové napětí přístroje až k hodnotám 30 kV. U běžné elektroforézy by při takovýchto hodnotách napětí došlo k značnému ohřevu tlumivého roztoku. Následné zvýšení difúze a turbulence v roztoku by analýzy zcela znehodnotilo. V KZE je však i při těchto hodnotách vloženého napětí generované teplo odvedeno stěnou kapiláry do okolního termostatovaného prostoru. Z rovnice (3) vyplývá, že rychlost částice je přímo úměrná její pohyblivosti a intenzitě elektrického pole. V KZE jsou proto rychlosti migrujících iontů vyšší oproti klasické elektroforéze.

Další významnou vlastností křemenných kapilár je existence elektroosmotického toku kapaliny (pufru) kapilárou. Vnitřní kapilární povrch se chová jako slabě kyselé katex.



Při $\text{pH} > 2$ dochází s růstem pH k stále významnějšímu nahrazování H^+ iontů na vnitřním kapilárním povrchu za jiné (nejčastěji Na^+) ionty, které jsou běžnou složkou tlumivého roztoku. Kationty (Na^+) migrují ke katodě a vzhledem ke své hydrataci strhávají s sebou roztok v kapiláře. Proudění (tok) kapaliny kapilárou vyvolanému tímto jevem říkáme elektroosmotický tok (EOT). Tento tok je při $\text{pH} \cong 2$ téměř nulový, s vzrůstem pH se zvyšuje. Regulace EOT je jedním důležitých klíčů k úspěšné separaci.

V běžných elektroforetických systémech je ve srovnání s rychlostí běžných iontů rychlost EOT dominantní. Jak kationty, tak anionty jsou tedy během analýzy unášeny ke katodě, neboť výsledná rychlost pohybu aniontů i kationtů je dána vektorovým součtem jejich migrační rychlosti v a rychlosti pohybu EOT (obr. č. 19.2.).



Obr. č. 19.2.: Migrační poměry v kapiláře. EOT - elektroosmotický tok, K^+ - kationty, A^- anionty

19.1.3. Separace metodou kapilární zónové elektroforézy

Do kapiláry je na jejím anodovém konci zaveden vzorek (1–10 nl). Dávkované množství je tedy přibližně 1000x nižší, než u chromatografických metod. Oba konce kapiláry jsou ponořeny do vhodného tlumivého roztoku a při 10–30 kV dochází v kapiláře k elektroosmotickému toku, kterým jsou jak kationty, tak anionty transportovány směrem k detektoru. Během této cesty však dochází k jejich vzájemné separaci. O kvalitě dělení tedy rozhoduje zejména délka kapiláry, rychlost EOT, pohyblivost dělených iontů, jež je u protolytů závislá na pH roztoku a teplotě, při níž separace probíhá.

V některých případech je účelné eliminovat elektroosmotický tok v kapiláře. Proto se derivatizační reakcí opatřuje vnitřní kapilární povrch polymerním pokryvem (polyakrylamid), jenž blokuje volné silanolové Si - OH skupiny zodpovědné za EOT v kapiláře. Tímto zásahem se rovněž omezují nežádoucí sorpce některých analytů na stěnu kapiláry, v jejichž důsledku někdy dochází k chvostování píků.

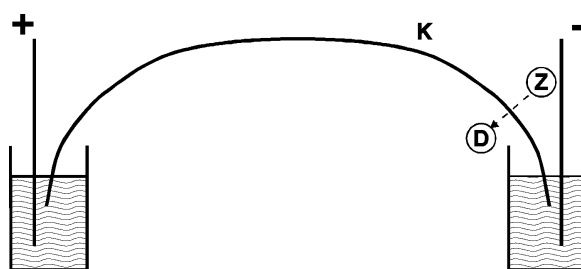
19.1.4. Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC)

Technika MECC umožňuje využít KZE i pro separaci elektroneutrálních (nenabitých) látek. Při MECC je v tlumivém roztoku rozpuštěna povrchově-aktivní látka (tenzid) v tzv. nadkritické koncentraci. Velmi často se používá dodecylsulfát sodný. Při nadkritické koncentraci (10–20 mmol.l⁻¹) dochází v roztoku k tvorbě micel. Hydrofobní konce tenzidu jsou obráceny dovnitř micely, hydrofilní (a nabitá) část molekuly tenzidu (micely) je přitom nasměrována do roztoku. Mezi volnými molekulami tenzidu a molekulami tenzidu vázanými do micely existuje dynamická rovnováha, takže micely se v roztoku neustále tvoří a rozpadají. Nenabitě organické látky mohou interagovat s micelami podobně, jako v kapalinové chromatografii interagují se stacionární fází. Zejména polarita látky rozhodne, jak dlouho se bude příslušná složka vzorku v hydrofobním jádře micely zdržovat. Čím méně polární bude látka, tím déle a častěji se bude vyskytovat uvnitř micel a jelikož nabitě micely putují kapilárou dle zákonitostí KZE, budou se s nimi pohybovat též elektroneutrální látky.

Pokud se látka octne mimo micelu, bude unášena pouze EOT. K separaci technikou MECC tedy dochází díky nestejné četnosti a míře interakcí dělených elektroneutrálních látek se systémem micel v tlumivém roztoku. Vzhledem k jisté podobnosti separačního mechanismu s chromatografickými technikami nazývá se micelární systém v kapiláře "pseudostacionární fáze".

19.1.5. Přístroje pro kapilární zónovou elektroforézu

Analyzátor pro KZE se skládá ze zdroje stabilizovaného vysokého napětí. Z něho jsou vyvedeny dvě elektrody, každá je umístěna do rezervoáru s tlumivým roztokem, jímž je vyplněna i kapilára přemostňující oba rezervoáry (obr. č. 19.3.). Délka kapiláry se pohybuje od 15 cm do 100 cm. Poblíž katodového konce kapiláry je odstraněn její vnější polyimínový povrch v délce několika milimetrů. Tím vzniká na kapiláře okénko, kterým příčně prochází ultrafialové či viditelné záření ze zdroje kapilárou do detektoru. Fotometrická detekce je v KZE podobně jako v HPLC nejobvyklejší.



Obr. č. 19.3.: Schéma kapilární zónové elektroforézy. K - kapilára, Z - zdroj záření, D - detektor

Rezervoáry s tlumivým roztokem i vzorkovnice bývají umístěny v karuselech a jsou měnitelné podle předvoleného programu. Vzorek, tlumivý či promývací roztok je do kapiláry nasáván buď přetlakem či podtlakem na příslušném konci kapiláry. Kapilára je umístěna v termostatovaném prostoru. Stabilita teploty v jejím okolí je velmi důležitá pro reprodukovatelnost analýz.

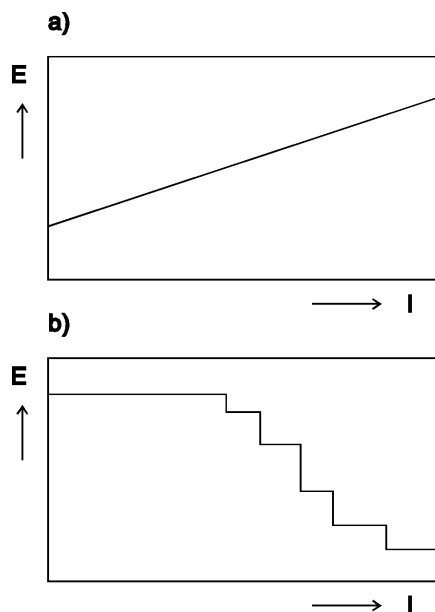
19.1.6. Kapilární elektroforéza v praxi

Praktické aplikace KZE se do značné míry shodují s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, či tuto techniku vhodně doplňují. Dělicí účinnost KZE je však oproti HPLC podstatně vyšší. KZE je vhodná především pro dělení ionogenních látek, avšak ve formě micelární elektrokinetické kapilární chromatografie je dobře použitelná i pro dělení nenabitých molekul.

Metoda KZE nachází uplatnění při separacích organických kyselin, aminokyselin, aminů, alkoholů, fenolů, cukrů, vitaminů, drog, toxikologicky významných látek, peptidů, proteinů a mnoha dalších, zvláště organických látek.

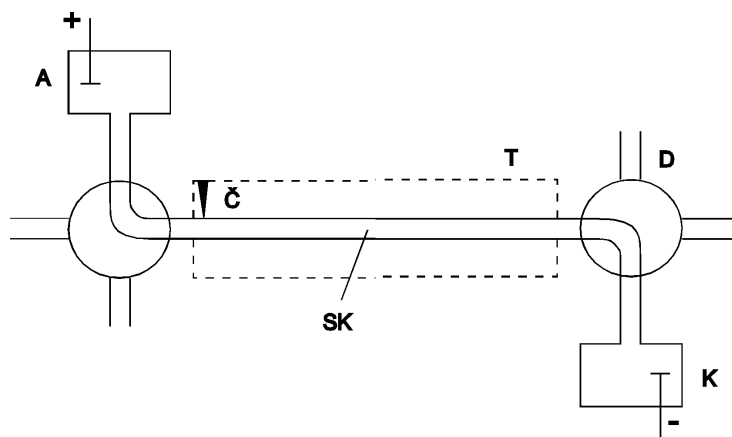
19.2. Izotachoforéza

Izotachoforéza je modifikovaná elektroforéza. Na rozdíl od ní se u izotachoforézy používají dva elektrolyty s různou pohyblivostí iontů téhož znaménka. Kromě toho elektrický potenciál podél soustavy se nemění plynule, ale skokem, vždy na hranicích zóny (obr. č. 19.4.).



Obr. č. 19.4.: Gradient elektrického pole při a) elektroforéze b) izotachoforéze

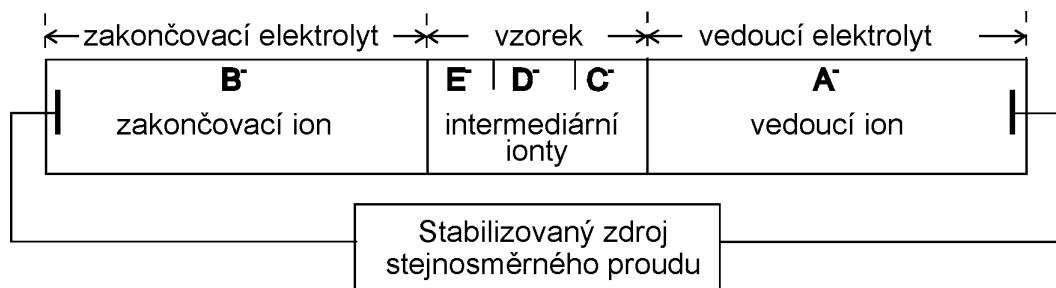
Hlavní součástí přístroje pro izotachoforézu je kapilára ze skla nebo teflonu ($d \cong 0,5 \text{ mm}$), v níž nastává dělení a která je spojena s katodovým a anodovým prostorem, do kterých jsou zavedeny elektrody (obr. č. 19.5.).



Obr. č. 19.5.: Přístroj pro izotachoforézu. A,K - katodový a anodový prostor, SK - skleněná kapilára, D - dávkovací kohout, T - termostat, Č - čidlo

Pokud má být například provedeno dělení aniontů, naplní se anodový prostor a kapilára tzv. vedoucím elektrolytem, jehož anion má větší pohyblivost než dělené anionty ve vzorku. Katodový prostor se naplní tzv. zakončovacím elektrolytem, jehož anion má nejmenší pohyblivost ze všech očekávaných aniotů. Vzorek o objemu několika mikrolitrů se vnese dávkovacím zařízením na konec kapiláry u katodového prostoru. Po zapnutí proudu se anionty začnou pohybovat směrem k anodě a po určité době se jednotlivé anionty rozdělí do

samostatných zón, které se pohybují k anodě stejnou rychlostí, a jejich rychlost se už dále nemění. Zóny jednotlivých iontů jsou uspořádané podle pohyblivosti (obr. č. 19.6.).



Obr. č. 19.6.: Princip dělení látek při izotachofórze. Pohyblivosti iontů se zvyšují v pořadí: B⁻, E⁻, D⁻, C⁻, A⁻

Teoretickým základem izotachofórze je Kohlrauschova rovnice, která matematicky formuluje poměry na rozhraní roztoků dvou solí za předpokladu, že obě soli mají jeden ion společný a toto rozhraní se pohybuje v elektrickém poli, dále, že přenášený proud je v celé koloně stejný a pro každou zónu platí zákon elektroneutality. Pro elektrolyty obsahující anionty A⁻ a B⁻ se společným kationtem R⁺ platí:

$$c_{(A^-)} / c_{(B^-)} = [u_{(A^-)} / (u_{(A^-)} + u_{(R^+)})] \cdot [(u_{(B^-)} + u_{(R^+)}) / u_{(B^-)}] \quad (10)$$

kde c jsou látkové koncentrace a u jsou pohyblivosti jednotlivých iontů.

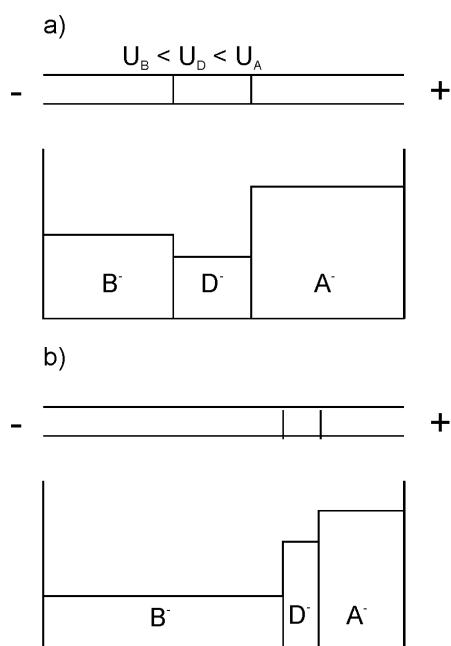
Všechny členy na pravé straně rovnice se mohou považovat za konstantu, takže platí:

$$c_{(B^-)} = k \cdot c_{(A^-)} \quad (11)$$

kde k je konstanta.

Kohlrauschova rovnice platí pro rovnovážný stav, kterého se dosáhne po určité době migrace. Předpokládejme, že do kapiláry se vnesou roztoky dvou iontů o stejné koncentraci $c_{(A^-)}$ a $c_{(B^-)}$, a že $u_{(A^-)} > u_{(B^-)}$. Na koncích kapiláry jsou elektrody. Jakmile se zapne elektrický proud, vytvoří se od startu koncentrační gradient méně pohyblivého iontu B⁻. Při rovnováze musí totiž koncentrace $c_{(A^-)}$ a $c_{(B^-)}$ vyhovovat Kohlrauschově rovnici. To znamená, že v rovnováze musí být koncentrace méně pohyblivého B⁻ nižší než na začátku migrace. Jakmile se do systému vnese další elektrolyt R_D, jehož anion D⁻ má pohyblivost mezi $u_{(A^-)}$ a $u_{(B^-)}$, bude se i tento ion chovat podle Kohlrauschovy rovnice. Bude-li koncentrace $c_{(D^-)}$ ve srovnání s $c_{(A^-)}$ a $c_{(B^-)}$ nízká, ale jeho objem dost velký, elektrolyt R_D na začátku migrace zaujme poměrně velký úsek kapiláry. Po dosažení rovnováhy musí koncentrace iontu D⁻ ve své zóně vyhovovat Kohlrauschově rovnici, čehož se může dosáhnout jen zvýšením koncentrace $c_{(D^-)}$ ve srovnání s původním roztokem. Tato koncentrace se může zvýšit jen tak, že se zúží jeho

původní zóna (obr. č. 19.7.). Podobné zákonitosti platí i tehdy, kdy se mezi vedoucím a zakončujícím iontem pohybuje více iontů téhož znaménka. Všechny se postupně zahušťují a vytvářejí vlastní zóny.



Obr. č. 19.7.: Počáteční (a) a rovnovážné (b) rozdělení zón a koncentrací tří iontů při izotachoforéze. A^- - vedoucí ion, B^- - zakončující ion, D^- - intermediární ion

Při konstantním proudu, který v kapiláře existuje, je síla elektrického pole v každé zóně jiná a v důsledku toho se na hranicích zón mění prudce teplota. Rozhraní mezi jednotlivými zónami je velmi ostré, protože jakmile vlivem difúze přejde ion z jedné zóny do druhé, vrátí se ihned zpět, protože by se musela změnit jeho pohyblivost.

K detekci se velmi často v izotachoforéze používá měření teploty kapaliny v izotachoforické kapiláře, protože, jak bylo již řečeno, jednotlivé zóny se teplotou od sebe odlišují. Jiným způsobem detekce je měření elektrické vodivosti nebo absorpce světelného záření UV detektorem.

Izotachoforézu je možné použít pro dělení složitých iontových soustav chemicky blízkých složek za krátký čas (několik desítek minut), často se uplatňuje v biochemických analýzách. Objem použitého vzorku je několik mikrolitrů, mez detekce leží v oblasti koncentrací nmol.l^{-1} .

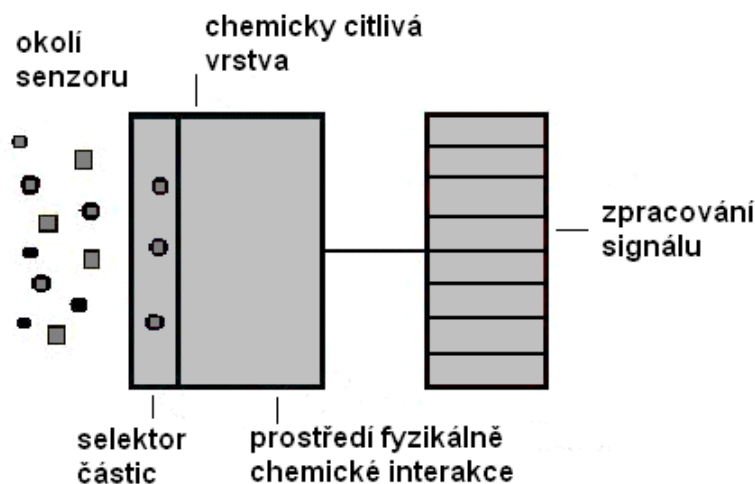
Ze záznamu změny signálu s časem můžeme získat informace o kvalitativním složení vzorku (výšky vlny, která závisí na pohyblivosti iontu) i o jeho kvantitativním složení (ze vzdálenosti mezi jednotlivými vlnami, jež jsou úměrné délce zóny a tím i množství elektrolytu v dávkovaném vzorku).

20. Chemické senzory

Senzor je základní částí měřicího zařízení, která převádí vstupní proměnnou vlastnost na signál vhodný k měření a interpretaci, popřípadě k řízení a kontrole. Jde tedy o převodník, který poskytuje informace o chemickém složení svého okolí. Chemický senzor vždy reaguje na určitou chemickou vlastnost studovaného systému. Vedle senzorů chemických je možné příležitostně využívat i biologických senzorů. Příkladem tohoto typu senzorů jsou čichové nebo chuťové buňky. V praxi se jako biologický senzor těžkých kovů s úspěchem používají kolonie fluoreskujících bakterií (úbytek fluorescenčního záření je úměrný koncentraci těžkých kovů).

20.1. Struktura chemického senzoru

Chemický senzor se vždy skládá z chemicky citlivé vrstvy a fyzikálního převodníku. Součástí chemicky citlivé vrstvy je molekulový či iontový selektor a prostor fyzikálně chemické interakce spojené se změnou určité vlastnosti (obr. č. 20.1.). Jako molekulový (iontový) selektor může sloužit permeabilní membrána, molekulové síto, ionofor, iontoměnič, specifické absorpční činidlo, anorganický katalyzátor, enzym či protilátka. Důsledkem fyzikálně chemické interakce je změna určité veličiny. Změna hmotnosti se potom například detekuje jako změna frekvence kmitání křemenného krystalu, změna teploty jako změna odporu termistoru, změna aktivity iontů se měří jako změna napětí mezi dvojicí elektrod, změna dielektrické konstanty jako změna kapacity kondenzátoru, změna intenzity elektromagnetického záření se zjišťuje pomocí fototransistoru.



Obr. č. 20.1.: Struktura chemického senzoru

20.2. Základní typy senzorů

1. Elektrochemické senzory
 - s kapalným elektrolytem
 - s tuhým elektrolytem
2. Senzory s mikroelektronickou strukturou (tranzistory řízené polem)
 - ISFET
 - CSFET
3. Senzory založené na měření elektronové vodivosti
 - metaloxidové senzory
 - senzory s aktivní vrstvou
4. Senzory založené na měření tepelné vodivosti
 - termistory
 - pelistory
 - pyroelektrické senzory
5. Hmotnostní senzory
 - piezoelektrické senzory
6. Optické senzory
 - optrody

20.2.1. Elektrochemické senzory

20.2.1.1. Senzory obsahující kapalný elektrolyt

Elektrochemické senzory mohou v zásadě pracovat jako senzory potenciometrické nebo jako senzory amperometrické. Rozhraní mezi elektrodou a analyzovaným prostředím zde plní funkci citlivé vrstvy. Indikační elektroda je potom vlastním fyzikálním převodníkem.

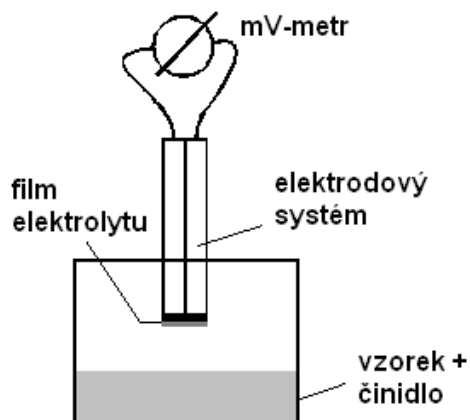
20.2.1.1.1. Potenciometrické elektrochemické senzory

Nejvýznamnějšími senzory patřícími do této skupiny jsou iontově selektivní elektrody (ISE). ISE jsou ve své podstatě membránami oddělujícími dva roztoky. Elektroda pro měření pH je například konstruována na bázi skleněné membrány, membránou fluoridové elektrody je monokrystal LaF_3 , polykrystalický materiál (Ag_2S) slouží jako membrána u ISE pro stanovení S^{2-} nebo Ag^+ .

20.2.1.1.2. Potenciometrické senzory plynů

Základem potenciometrických senzorů plynů obvykle bývá skleněná elektroda. Mezi skleněnou membránou elektrody a permeabilní membránou oddělující tělo senzoru od analyzovaného prostředí se nalézá film vnitřního elektrolytu. Stanovovaný plyn difunduje permeabilní membránou do vnitřního elektrolytu, změna pH tohoto elektrolytu se následně detekuje skleněnou elektrodou. Příkladem aplikace je stanovení CO_2 (kysele reagující plyn) v krvi podle Severinghouse. Podobně lze stanovit i amoniak (zásaditě reagující analyt).

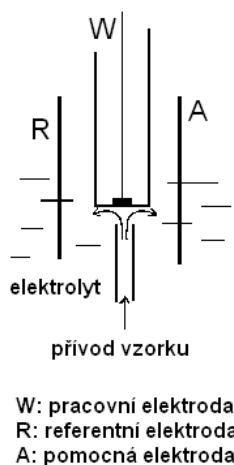
Potenciometrické senzory plynů je možné rovněž zkonstruovat jako tzv. „air-gap“ detektory plynů (viz obr. č. 20.2.). Charakteristikou těchto senzorů je použití nevysychavého vnitřního elektrolytu. Analyzovaný vzorek je od vlastního detektoru oddělen vrstvou vzduchu. Film vnitřního elektrolytu drží viskózními silami na povrchu detektoru (např. skleněná membrána pro měření pH). Tyto senzory jsou vhodné pro stanovení látek, které lze převést do roztoku jednoduchou chemickou reakcí.



Obr. č. 20.2.: Schéma potenciometrického senzoru plynů, ve kterém je vzorek oddělen od detektoru vrstvou vzduchu

20.2.1.1.3. Amperometrické elektrochemické senzory pro detekci v roztocích

Jakoukoliv pracovní elektrodu používanou při voltametrickém stanovení lze v podstatě považovat za amperometrický senzor (detektor). Tyto senzory se dnes velmi často využívají při stanoveních v průtokovém uspořádání (například jako detektory na výstupu z HPLC kolony). Z konstrukčního hlediska jsou běžná tři uspořádání: tenkovrstvé (thin layer), tryska proti stěně (wall jet) a tubulární (tubular). Schéma amperometrického senzoru typu „tryska proti stěně“ je znázorněno na obr. č. 20.3.



Obr. č. 20.3.: Schéma amperometrického senzoru typu „tryska proti stěně“

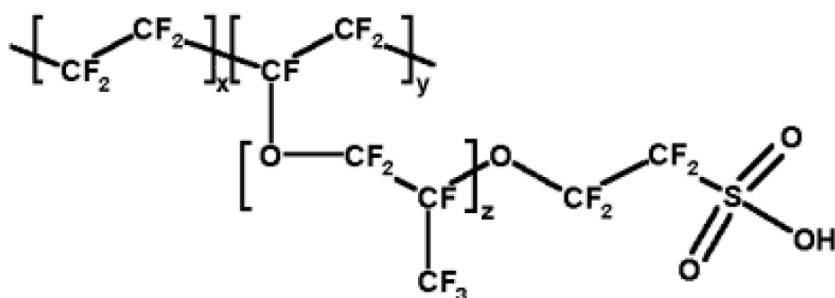
20.2.1.1.4. Membránové amperometrické senzory

Nejznámějším příkladem membránového amperometrického senzoru je Clarkovo čidlo pro stanovení kyslíku (například v krvi). Clarkovo čidlo obsahuje platinovou katodu a stříbrnou anodu, elektrodový systém je od měřeného roztoku oddělen permeabilní teflonovou membránou. Na katodě dochází k redukci kyslíku na vodu, tato reakce je vlastním základem stanovení. Clarkovo čidlo se rovněž používá pro stanovení kyslíku ve vodách (stanovení biochemické spotřeby kyslíku - BSK). Amperometrické detektory speciální konstrukce lze použít pro zjištění spotřeby kyslíku v živých uzavřených systémech (tkáň, list). Dalším příkladem membránového amperometrického senzoru jsou amperometrické detektory glukosy. Na membráně je zde imobilizován enzym glukosoxidas, v důsledku oxidace glukosy se spotřebovává kyslík. Současně s úbytkem kyslíku klesá odezva detektoru.

20.2.1.2. Elektrochemické senzory s tuhým elektrolytem

Tuhý elektrolyt využívaný při konstrukci elektrochemického senzoru se musí vyznačovat iontovou vodivostí. Tyto senzory mohou pracovat v potenciometrickém i amperometrickém režimu. Předpoklady pro správnou funkci senzoru s tuhým elektrolytem jsou následující: dostatečná celková vodivost systému, iontová vodivost alespoň 1000x větší než vodivost elektronová, tuhý elektrolyt nepropustný pro stanovovaný plyn, tuhým elektrolytem procházejí ionty vznikající reakcí stanovovaného plynu.

Iontovou vodivostí mohou být charakterizované látky anorganické i organické povahy. Typickým anorganickým tuhým elektrolytem je ZrO_2 dopovaný CaO a Y_2O_3 (putují jím O^{2-} ionty). Dále lze jmenovat LaF_3 či Ag_2S využívané ke konstrukci iontově selektivních elektrod či $\text{Zr}(\text{HPO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ a $\text{H}_2\text{O}_2\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ mající povahu protonových vodičů. Mezi organické látky s iontovou vodivostí se řadí zejména tzv. polymerní soli (ionomery, polyelektrolyty) charakterizované hydrofobním skeletem a na něj vázanými hydrofilními funkčními skupinami ($-\text{SO}_3^-$, $-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_3^+$). Příkladem takového elektrolytu je protonový vodič Nafion (polymer na bázi teflonu obsahující sulfonovou funkční skupinu; viz obr. č. 20.4.).



Obr. č. 20.4.: Nafion, protonový vodič využívaný ke konstrukci elektrochemických senzorů s tuhým elektrolytem

20.2.1.2.1. Senzor využívající ZrO_2 jako tuhého elektrolytu

Tento typ elektrochemického senzoru se běžně používá ke sledování spotřeby kyslíku při spalovacím procesu v automobilových motorech. Senzor je tvořen dutým válcem (ZrO_2) pokrytým porézní platinou. Jedna strana válce představuje referentní prostředí (vzduch), druhá strana válce představuje prostředí analyzované (směs paliva a vzduchu). Tuhým elektrolytem mohou putovat O^{2-} ionty; v systému vzniká elektrické pole namířené proti jejich pohybu. V důsledku potenciálového rozdílu lze naměřit napětí, které je úměrné logaritmu podílu parciálních tlaků kyslíku na obou stranách senzoru. Funkce senzoru je obdobná všem potenciometrickým čidlům, měření se provádí za bezproudového stavu. Senzor obvykle pracuje při teplotách 600 až 800 °C. V automobilech se používá k optimalizaci spalovacího procesu jako tzv. λ -senzor, pomocí něhož lze kontrolovat poměr vzduch/palivo. Z ekologického hlediska je výhodné spalovat směs do jisté míry ochuzenou o palivo, tzn. takovou směs, kde palivo není ve stechiometrickém poměru se vzduchem.

20.2.1.2.2. „Solid-state“ senzory s aktivní vrstvou

Příkladem tohoto typu senzorů je senzor pro stanovení vodíku. Funkci tuhého elektrolytu zde zastává výše popsáný polymerní vodič Nafion. Nejprve se na obou stranách Nafionu chemicky vytvoří vrstvička Pd, která plní funkci elektrod. V průběhu měření se na jedné straně Nafionu nalézá směs H_2 a O_2 , z druhé strany je Nafion ve styku s kyslíkem. Po zkratování obvodu ampérmetrem je na indikační straně (elektrodě) přebytek H^+ a elektronů, na auxiliární straně je protonů a elektronů nedostatek. Elektrony procházejí vnějším vodičem, protony putují Nafionem. Protékající proud je přímo úměrný množství vodíku.

20.2.2. Senzory s mikroelektronickou strukturou (tranzistory řízené polem)

Jde o perspektivní skupinu chemických senzorů, které využívají vzniku nositelů náboje po vložení napětí na hradlo (bázi) tranzistoru. Elektrické pole v oblasti hradla tak iniciuje průchod elektrického proudu mezi emitorem a kolektorem tranzistoru. Tranzistory řízené polem jsou kompatibilní s uživatelskou elektronikou, celý přístroj lze zkonstruovat na jediném čipu.

20.2.2.1. ISFET (iontově selektivní tranzistory řízené polem)

V případě iontově selektivních tranzistorů řízených polem je do oblasti hradla tranzistoru umístěna iontově selektivní membrána podobná membráně, která se využívá u iontově selektivních elektrod. Při interakci analytu s membránou dojde ke vzniku membránového potenciálu, vzniklý potenciál řídí průchod proudu mezi emitorem a kolektorem tranzistoru. Selektivita je zde dána druhem použité iontově selektivní membrány. V praxi nacházejí tyto senzory využití hlavně při stanovení funkce pH. ISFET může být například s výhodou použit ke stanovení pH ve vzorcích rosolovité konzistence. Výhodou těchto senzorů bývá rychlejší odezva ve srovnání s tradičními ISE (možnost využít jako detektor na výstupu z HPLC kolony), reprodukovatelnost naměřených dat zde však bývá horší.

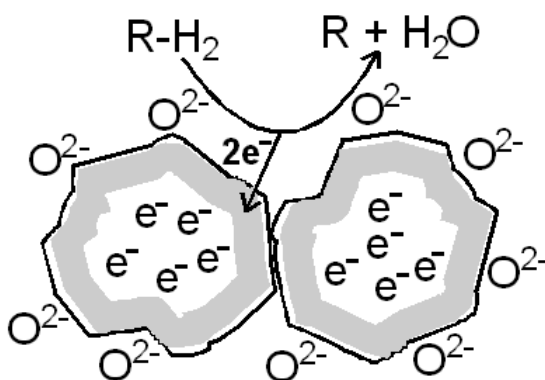
20.2.2.2. CSFET (chemicky citlivé tranzistory řízené polem)

Chemicky citlivé tranzistory řízené polem jsou do jisté míry obdobou tranzistorů iontově selektivních. V oblasti hradla tranzistoru se v tomto případě nalézá chemicky citlivá vrstva. Pro stanovení vodíku lze například jako citlivou vrstvu použít palladium. Při interakci analytu s chemicky citlivou vrstvou dojde v oblasti hradla ke vzniku potenciálu, na němž je závislý elektrický proud procházející mezi emitorem a kolektorem tranzistoru.

20.2.3. Senzory využívající změn elektronové vodivosti

20.2.3.1. Metaloxidové senzory

Metaloxidové senzory jsou konstruovány z oxidů kovů, zejména SnO_2 nebo Fe_2O_3 . Jejich typickou aplikací je protipožární senzor (detektor hořlavých par). Aktivní částí tohoto senzoru jsou vzájemně se dotýkající zrnka oxidu cíničitého (obr. č. 20.5.). Tato aktivní část je pro optimální funkci senzoru vyhřívána na teplotu kolem $100\text{ }^\circ\text{C}$. V prostředí čistého vzduchu se na povrch zrn SnO_2 adsorbuje kyslík, v adsorbovaném stavu se redukuje, povrch zrn je ochuzen o elektrony a průchod proudu znesnadněn. Je-li ve vzduchu přítomna oxidovatelná látka, adsorbuje se rovněž na povrch zrn, následně reaguje s kyslíkem za uvolnění elektronů, elektrická vodivost systému tudíž vzroste. Nárůst vodivosti je mírou koncentrace látky, která může být oxidována. Uvedený senzor lze použít k detekci H_2 , CO , uhlovodíků, par alkoholů, hořlavých plynů. Tyto senzory nebývají příliš selektivní, jsou však velmi nenáročné a z praktického hlediska perspektivní. Selektivita senzoru může být do určité míry zavedena modifikací složení materiálu senzoru (SnO_2 a příměsi Cr , Mn , Fe , Co , Ni , Rh), pracovní teplotou, chemickým filtrem in-situ (aktivní uhlí, SiO_2 , polymerní membrány, molekulová síta) nebo použitím katalyzátoru (Pt , Au).

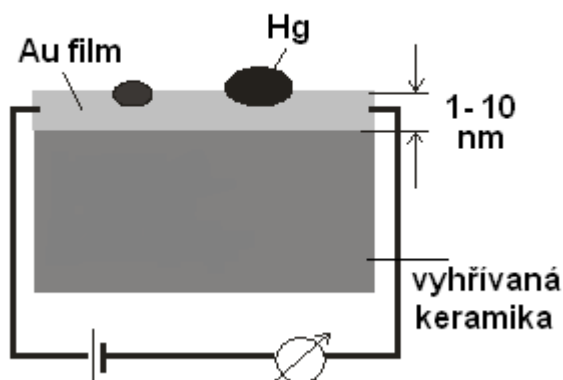


Obr. č. 20.5.: Princip funkce metaloxidového senzoru na bázi zrn SnO_2

20.2.3.2. Chemirezistory

Funkce chemických senzorů typu chemirezistorů je založena na změně odporu rezistoru v přítomnosti určitých chemických látek. Jako příklad chemirezistoru může sloužit zlatý film (viz obr. č. 20.6.). Afinitu ke zlatu vykazuje zejména Hg, dále Cl_2 , H_2S , ale i některé uhlovodíky. Rtuť například amalgamuje povrch zlata, čímž se odpor zlata zvětšuje. Po použití zlatého chemirezistoru lze zahřátím a desorpcí Hg převést film Au do původního stavu.

V současné době se intenzivně zkoumají možnosti využití změn odporu některých organických sloučenin při interakci s určitými analyty. Patří sem hlavně ftalocyaniny (cyklické sloučeniny tvořící pevné komplexy s ionty kovů). Komplexy ftalocyaninů jsou nasublimovány na chemirezistor, při interakci s analytem dochází ke změně odporu rezistoru. Selektivita senzoru je závislá na druhu kovu vázaného do komplexu s ftalocyaninem. Pomocí těchto senzorů lze například stanovovat vodní páru, oxidy dusíku nebo aminy. Dalším příkladem organického materiálu využívaného ke konstrukci chemirezistorů je polyacetylen. Tento polymer vede elektrický proud v případě jeho částečného zoxidování nebo zredukování. Nejčastěji se polyacetylen za účelem oxidace vystavuje jodovým parám. U senzorů na bázi organických polymerů mohou různé látky různě ovlivňovat jejich vodivost. Vedle polyacetylenu lze rovněž ke konstrukci senzorů využít polypyrol, polythiofen či polyanilin.



Obr. č. 20.6.: Schéma chemirezistoru na bázi Au filmu

20.2.4. Senzory založené na měření změn teploty

Za nejjednodušší senzor tohoto typu lze považovat rtuťový teploměr obalený materiálem s katalytickými vlastnostmi. Styk analytu s katalyzátorem se projeví teplotní odezvou, která je teploměrem zaznamenána. V praxi se však obvykle používají senzory složitější konstrukce.

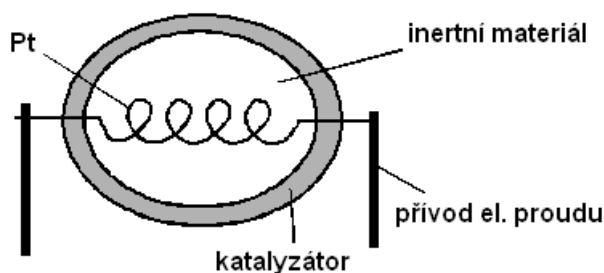
20.2.4.1. Termistory

Termistor je senzor využívající sledování změny elektrického odporu se změnou teploty. Změna elektrického odporu se změnou teploty může být pozitivní i negativní. Materiálem termistoru bývá směs BaO a SrO . Termistory jsou často konstruovány jako perličkové

senzory. Příkladem použití termistoru je stanovení glukosy v krvi (glukosoxidasa deponovaná na povrchu senzoru katalyzuje oxidaci glukosy, při níž se uvolňuje teplo).

20.2.4.2. Pelistory

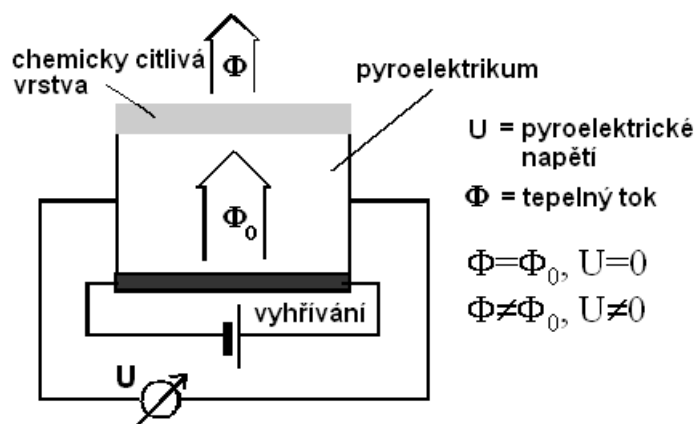
Pelistory jsou senzory využívající platinového vlákna pokrytého vrstvou katalyzátoru vyhříváného průchodem elektrického proudu (obr. č. 20.7.). Při vloženém konstantním napětí jsou teplota a elektrický odpor vlákna rovněž konstantní. Přijde-li katalytická vrstva do styku s analytem, dojde k uvolnění tepla. Změna teploty platinového drátku způsobí změnu odporu, která se zaregistruje. Pelistory mohou být použity jako protipožární čidla sloužící k detekci úniku hořlavých plynů a par.



Obr. č. 20.7.: Schéma pelistoru

20.2.4.3. Pyroelektrické senzory

Jádrem pyroelektrického senzoru je vrstva pyroelektrika (např. LiTaO_3), mezi jehož konci je měřeno pyroelektrické napětí (obr. č. 20.8.). Z jedné strany je na vrstvu pyroelektrika napařena tenká chemicky citlivá vrstvička umožňující interakci s analyzovanou látkou. Druhá strana pyroelektrika je potažena filmem kovu sloužícím k vyhřívání senzoru. Není-li senzor ve styku s analytem, tok tepla je konstantní a na bočních stranách pyroelektrika je měřeno konstantní napětí. Interaguje-li chemicky citlivá vrstvička s analytem, dojde ke změně toku tepla pyroelektrikem a je zaznamenána změna pyroelektrického napětí.



Obr. č. 20.8.: Schéma pyroelektrického senzoru

20.2.5. Senzory založené na měření změn hmotnosti (piezoelektrické senzory)

Piezoelektrické senzory využívají schopnosti generovat elektrické napětí v důsledku mechanického namáhání. Příkladem je namáhání křemenného výbrusu (krystalu), kterého se využívá v zapalovačích. Je-li naopak na křemenný krystal přivedeno napětí o vhodné rezonanční frekvenci, dojde k rozkmitání výbrusu. Změna hmotnosti výbrusu se projeví ve změně rezonanční frekvence. Při konstrukci piezoelektrického senzoru je na povrchu krystalu umístěna chemicky citlivá vrstva interagující s analytem. Po interakci dojde ke změně hmotnosti krystalu, která se tudíž projeví změnou rezonanční frekvence. Je-li například citlivou vrstvou film Au, může být krystal použit k detekci stopových množství Hg. Běžně se tyto typy senzorů používají v lékařství či v biologii jako tzv. biosenzory. V biosenzorech se využívá interakce mezi imobilizovanou protilátkou a antigenem.

20.2.6. Optické senzory (optrody)

Základní součástí optického senzoru je optické světlovodné vlákno. Optické vlákno se skládá z jádra, obalu a ochranného pláště. Jádro musí být zhotoveno z materiálu s větším indexem lomu, než je index lomu obalu. Světelný paprsek potom prochází jádrem optického vlákna a na rozhraní obou prostředí dochází k jeho úplnému (totálnímu) odrazu.

20.2.6.1. Základní uspořádání experimentu při práci s optickými senzory

20.2.6.1.1. Měření absorpce záření v optické dráze mezi přívodním a odvodním vláknem

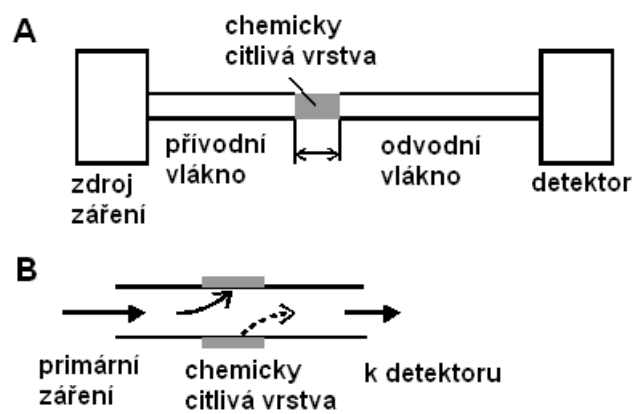
Experimentální uspořádání se zde podobá uspořádání klasického spektrometru s kyvetou. Světlo se však vede světlovodem (optickým vláknem), kde dochází k jeho minimálním ztrátám (viz obr. č. 20.9.). Kyvetu představuje prostor v optické dráze paprsku mezi přívodním a odvodním vláknem. Aparaturu lze vhodně zmenšit na minimální rozměry.

20.2.6.1.2. Měření absorpce při dvojnásobném průchodu paprsku studovaným prostředím

V tomto uspořádání se paprsek přivedený optickým vláknem a prošlý studovaným prostředím odráží od zrcadla zpět do prostředí vzorku a odvodním vláknem se vede směrem k detektoru. Může být tudíž dosaženo vyšší (dvojnásobné) citlivosti při zachování stejných rozměrů aparatury. Ponořením senzoru (optrody) do roztoku vzorku lze pohodlně získávat informace o jeho složení.

20.2.6.1.3. Fluorescenční detekce za použití světlovodu po odstranění jeho obalu

Chemicky citlivá vrstva je v tomto případě nanášena na světlovodném vlákně po odstranění jeho obalu (viz obr. č. 20.9.). V oblasti chemicky citlivé vrstvy dochází po interakci s analytem ke vzniku fluorescenčního záření odlišné vlnové délky ve srovnání s primárním zářením. Fluorescenční záření je následně vedeno do detektoru, kde je měřena jeho intenzita.



Obr. č. 20.9.: Schéma optického senzoru pro měření absorpce záření (A) a fluorescence (B)

Název:	Analytická chemie
Autor:	prof. Ing. Martin Křížek, CSc. RNDr. Jan Šíma, Ph.D.
Vydavatel:	Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta
Tisk:	Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Ekonomická fakulta, ediční středisko
Vydání:	1. vydání, 2015
Počet stran:	214
Náklad:	180 výtisků
AA:	13,38

Tato publikace neprošla jazykovou úpravou v redakci nakladatelství.

Za věcnou a jazykovou správnost díla odpovídají autoři.

ISBN 978-80-7394-486-5

ISBN 978-80-7394-486-5



9 788073 944865