

ITP

Stanovení aniontů ve vybraných minerálních vodách



Minerální voda, zkráceně minerálka, je voda se zvýšeným obsahem minerálních látek. Má v jednom litru vody více než 1 g rozpuštěných minerálů, či přes 1 gram rozpuštěného CO_2 , či obsah Rd , H_2S , jódu, As, Fe. Dále obsahují množství kationtů jako K, Na, Ca atd. a množství aniontů jako SO_4 , PO_4 , F, NO_3 , NO_2 apod. Obsah aniontů ve vodách a především ve vodách pitných je důležitým kritériem hodnocení jejich kvality.

IZOTACHOFORÉZA

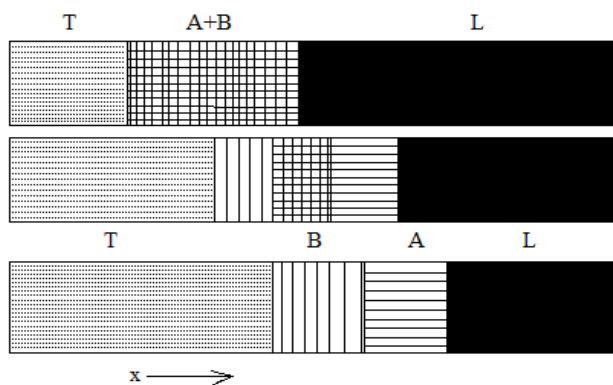
Úvod

Izotachoforéza patří mezi elektromigrační separační metody, které využívají rozdílné pohyblivosti iontů v elektrickém poli. Od ostatních elektromigračních metod se liší tím, že vzorek je dávkován mezi **dva elektrolyty** - vedoucí („leading L“) a koncový („terminating T“). Pro jejich výběr platí:

$$u_L > u_{i,ef} > u_T$$

Během jedné analýzy mohou být separovány pouze ionty jednoho znaménka, buď anionty, nebo kationty. Izotachoforetický proces začne probíhat po připojení systému k elektrickému poli. Hodnoty konstantního proudu se pohybují v řádu desítek μA .

Proces analýzy můžeme rozdělit na dvě části. Nejprve dochází k oddělení složek vzorku, přičemž jednotlivé částice migrují ve směsné zóně různými rychlostmi. V druhé části, kterou můžeme považovat za ustálený stav, se částice rozdělí a všechny se pohybují stejnou rychlostí.



Obr. 1

Dynamika separace směsi složek A a B, pro které platí $u_A > u_B$ je ukázána na obr. 1. Během separace se rychlejší částice dostávají dopředu a pomalejší se zpožďují. Po ustálení vzniká stacionární stav, ve kterém jsou již zóny poskládány podle pohyblivosti svých částic. Mezi zónami vzniklo ostré rozhraní a dále se pohybují všechny stejnou rychlostí (koncentrace iontů v každé zóně je konstantní).

$$v = u_L E_L = u_A E_A = u_B E_B = u_T E_T = konst.$$

Ostré rozhraní mezi jednotlivými zónami ve stacionárním stavu se popisuje pomocí tzv. **samozaostřovacího efektu**. Všechny ionty, ať pohyblivější nebo ty méně pohyblivé se pohybují stejnou rychlostí. Je to způsobeno rozdílným potenciálovým spádem v každé ze zón. Tento potenciálový spád je tím vyšší, čím méně pohyblivé ionty se v zóně nacházejí. To znamená, že na pomalejší ionty působí větší hnací síla.

Analýza minerálních vod

Kvantitativní a kvalitativní stanovení aniontů v minerálních vodách se provádí pomocí kapilárního elektroforetického analyzátoru EA 100. Stanovovat budeme anionty NO_3 , SO_4 , F, PO_4 . V této práci bude používáno jednokolonové uspořádání. Bude použita pouze spodní analytická kolona pro urychlení analýzy. Detekce je konduktometrická a podle zájmu i UV detekce složek vzorku.

ÚKOL

1. Změřit neředěný vzorek minerální vody (každý bod bude měřen 3x)
2. Změřit 3 neznámé vzorky minerálních vod metodou přidavku standardu pro každý aniont (každý vzorek měřit 3x)
3. Identifikovat zóny jednotlivých aniontů a kvantifikovat

POSTUP

1) Příprava vedoucího a koncového elektrolytu

Vedoucí elektrolyt: vypočítáme navážky pro koncentrace $10 \cdot 10^{-3} \text{M Cl}^-$, $3 \cdot 10^{-3} \text{M BIS-TRIS propan}$, $10 \cdot 10^{-3} \text{M } \beta\text{-Alanin}$ pro objem 250 ml, rozpustíme je v kádince asi ve 200ml vody. pH vedoucího elektrolytu upravíme na hodnotu 3,6. Pak přidáme 25 ml 1% HEC (hydroxyethyl-celulóza) a doplníme do 250 ml odměrné baňky.

Koncový elektrolyt ($10 \cdot 10^{-3} \text{M}$ citronan lithný): připravíme do 100 ml odměrné baňky reakcí hydroxidu lithného a kyseliny citrónové. Rozpustíme předem vypočítané množství těchto látek v destilované vodě. pH neupravujeme, je adjustováno protiiontem z vedoucího elektrolytu.

2) Úprava vzorku

Připravíme si vzorky minerálních vod. Do tří odměrných baněk (25ml) napipetujeme 10 ml vzorku minerální vody a zředíme do plného objemu. V případě analýz minerálních vod je nutno zbavit vzorek volného oxidu uhličitého zahřátím nebo ultrazvukem, tyto obměrné baňky tedy necháme chvíli v ultrazvukové lázni.

3) Příprava standardních roztoků

Připravíme si sadu standardů o koncentraci 5 mmol/l pro každý z měřených aniontů (NO_3 , SO_4 , F, PO_4). Použijeme chemikálie dostupné v laboratoři a co největší čistotě.

4) Metoda přidavku standardu

Vzhledem k práci s reálnými vzorky bude používána ke kvantifikaci metoda přidavku standardu. Každý vzorek minerální vody bude proměřen samostatně, s prvním přidavkem standardu a s druhým přidavkem standardu. Metodu přidavku standardu použijeme u všech tří vzorků minerální vody pro všechny anionty. V prvním přidavku standardu bude koncentrace příslušného aniontu 0,2mmol/l, v druhém přidavku bude koncentrace příslušných aniontů 0,42mmol/l.

5) *Vlastní měření*

Podle přiloženého návodu připravíme přístroj k měření. Zvolíme optimální metodu (v našem případě metodu určí vyučující) a pomocí programu ITPWin provedeme analýzu. Vzorek minerální vody bude proměřen nejprve neředěný, ředěný 2,5x z první odběrné baňky, dále s 1. přídatkem standardu a s 2. přídatkem standardu. Získané výsledky graficky zpracujeme a spočítáme množství jednotlivých aniontů v neznámých vzorcích minerálních vod.

Návod k obsluze kapilárního elektroforetického analyzátoru EA 100

1. Příprava přístroje

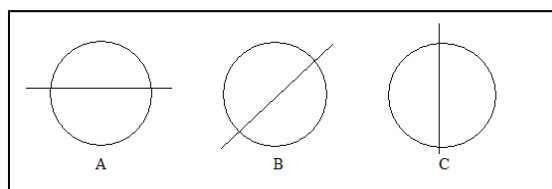
Před začátkem práce je nutné celý systém promýt destilovanou vodou:

a) destilovanou vodou naplníme rezervoáry TE a CE 2

b) injekční stříkačku naplněnou destilovanou vodou vložíme do otvoru IN column 2, otevřeme kohout 2 a mírným přerušovaným stlačováním injekční stříkačky proplachujeme kolonu. Během tohoto proplachování je dávkovací kohout v poloze A. Průtok kontrolujeme tak, že voda nám hadičkou proudí do odpadu. Injekční stříkačku po proplachu nevyndáváme a pod tlakem pomalu kohout 2 uzavřeme. Kolona je nyní naplněna vodou.

!! Rezervoáry jsou od kolony odděleny pomocí tenkých membrán, příliš velký tlak při plnění by mohl způsobit jejich protržení, proto pracujte opatrně a jemně !!

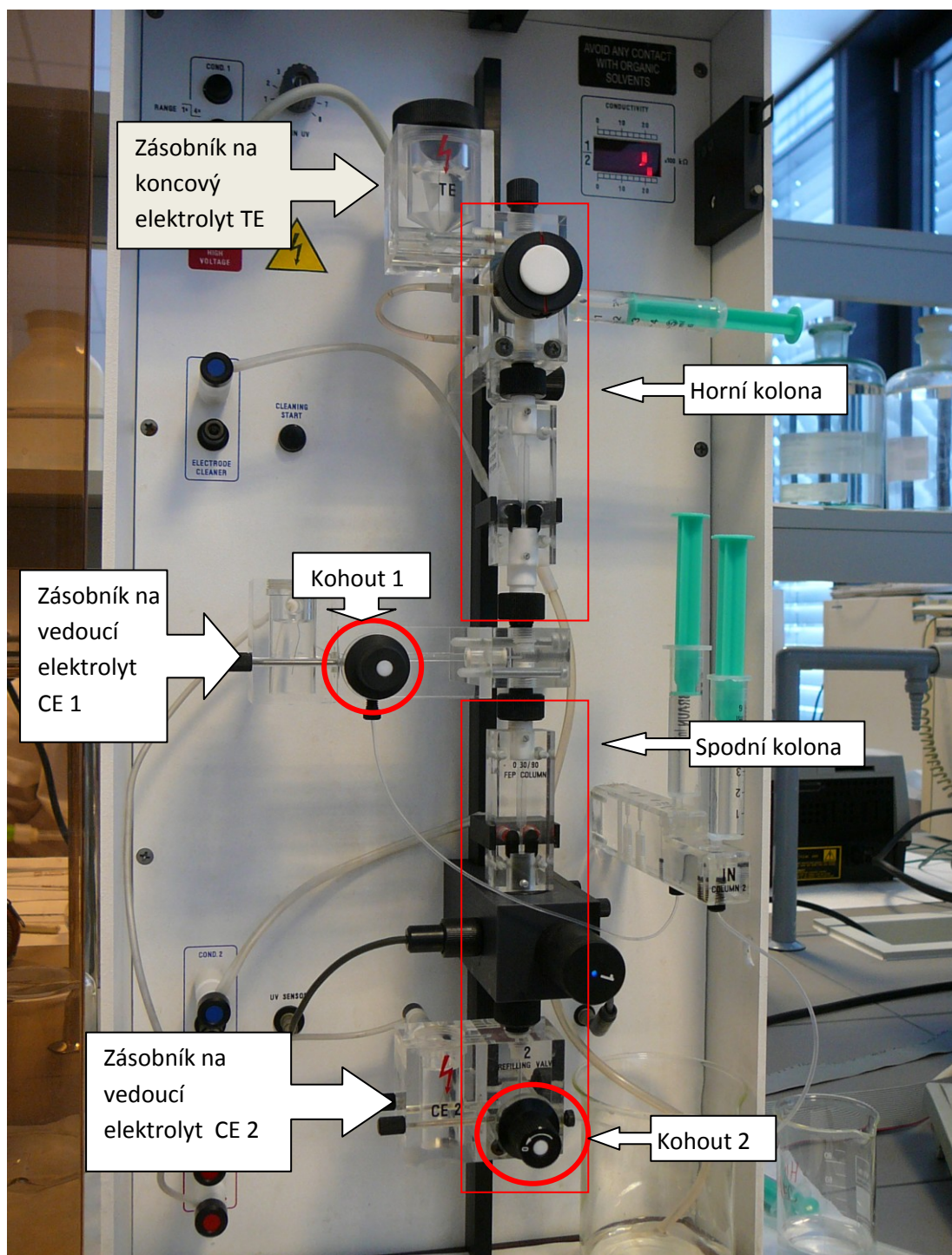
Polohy dávkovacího kohoutu:



d) nyní propláchneme dávkovací kohout: naplníme rezervoár TE destilovanou vodou, otočíme dávkovací kohout do polohy B a sledujeme, zda voda odtéká do odpadu. V případě, že neodtéká, zkontrolujeme, zda máme rezervoár uzavřen víčkem a pomocí prázdné injekční stříkačky vytvoříme mírný přetlak.

e) když máme celou kolonu propláchnutou destilovanou vodou, odsajeme ji z rezervoárů CE 2 pomocí prázdné injekční stříkačky se zúženým nástavcem. Z kolony ji odstraníme tak, že vyndáme stříkačku s destilovanou vodou ze střední části kolony, vyprázdníme ji a vložíme ji zpět na původní místa „naplněné vzduchem“ (kohout 2 je uzavřený). Dávkovací kohout máme opět v poloze A. Otevřeme kohout 2 a při mírném přerušovaném stlačování injekční stříkačky v otvoru IN column 2 pomalu odstraňujeme destilovanou vodu ze spodní kolony.

Voda nám proudí do odpadu. Kohout 2 uzavřeme. Rezervoár TE vyprázdníme pootočením dávkovacího kohout do polohy B (zároveň tím kohout promyjeme).

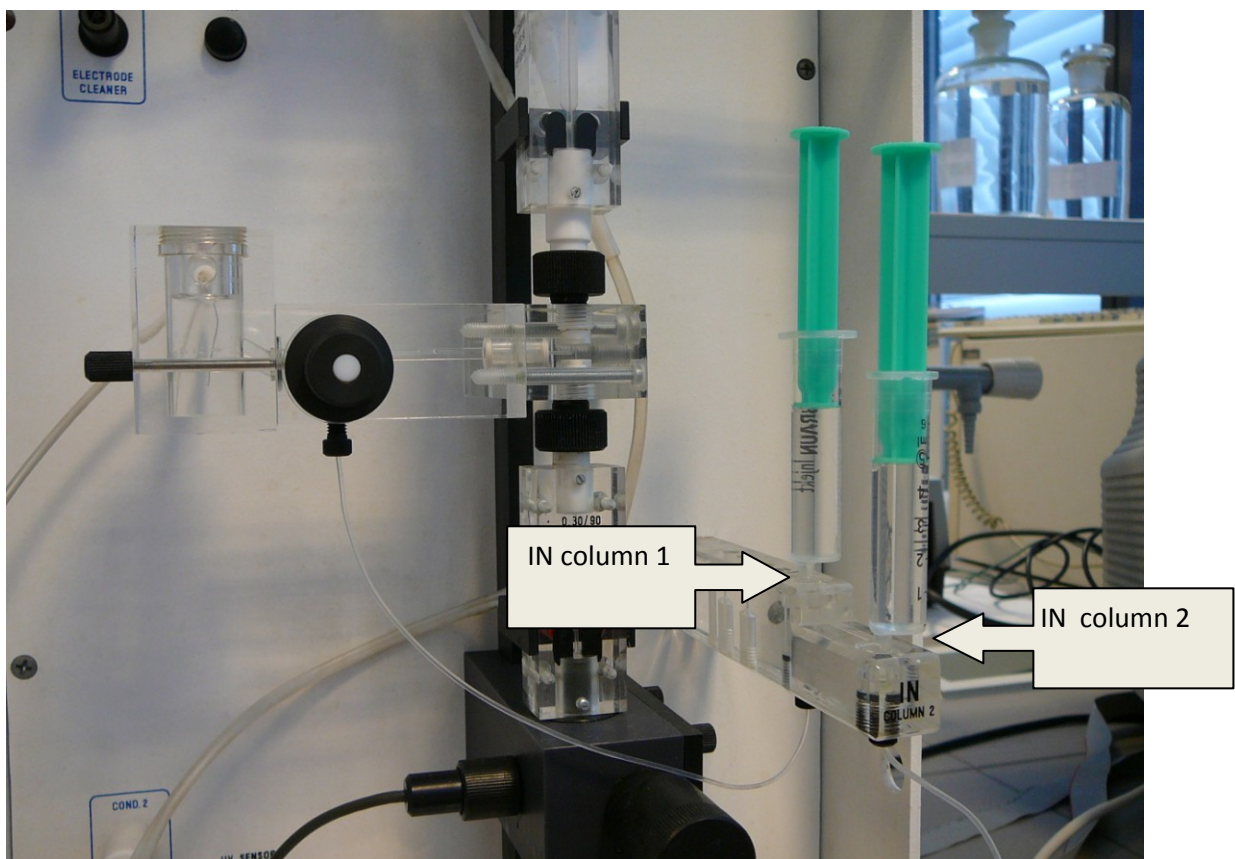


2. Plnění a příprava na analýzu

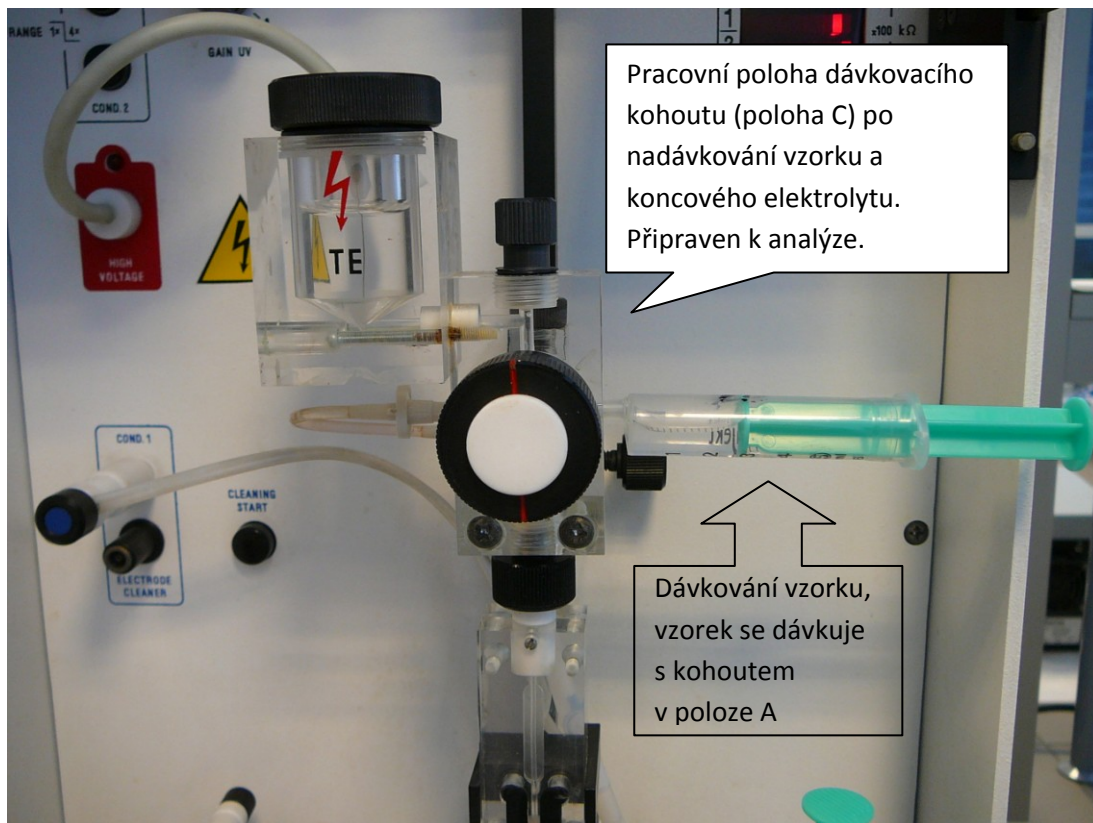
a) koncový elektrolyt naplníme do horního rezervoáru TE tak, aby byla ponořena elektroda (dávkovací kohout je v poloze A). Pootočením dávkovacího kohoutu do polohy B necháme odtéct malé množství koncového elektrolytu do odpadu, kvůli eliminaci možných vzduchových bublin (neteče-li použijeme přetlak) a kohout vrátíme do polohy A.

b) rezervoár CE 2 naplníme vedoucím elektrolytem, dáváme pozor, aby se nevytvořili bublinky.

c) injekční stříkačku naplníme vedoucím elektrolytem a umístíme ji do otvoru IN column 2. Při naplňování postupujeme stejně jako při proplachování. Kolonu naplníme a pod tlakem kohout 2 uzavřeme. Musíme zkontrolovat, zda nám v kapiláře ve spodní koloně nezůstaly žádné vzduchové bublinky. Znemožnily by sepnutí elektrického obvodu. Injekční stříkačku po celou dobu práce nevyndáváme. V případě vzniku bublinek je buď pulzně odstraníme, nebo v nejhorším případě znovu „promyjeme vzduchem“ a opět naplníme elektrolytem. Pomocí krytů všechny rezervoáry zašroubujeme.

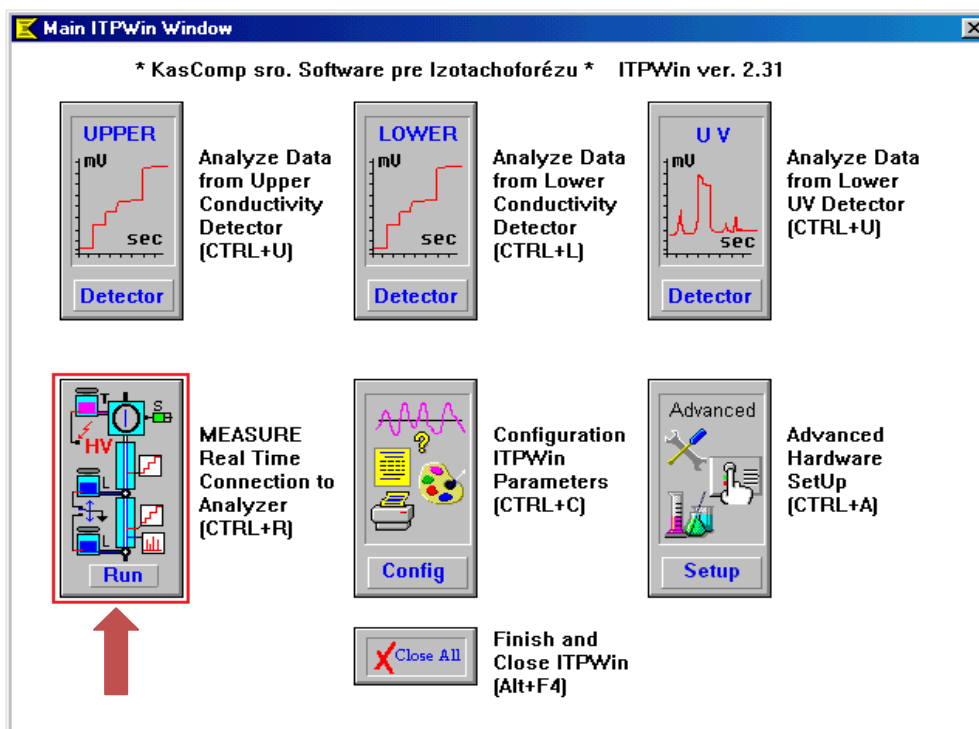


!! Pozor na vzduchové bubliny!!

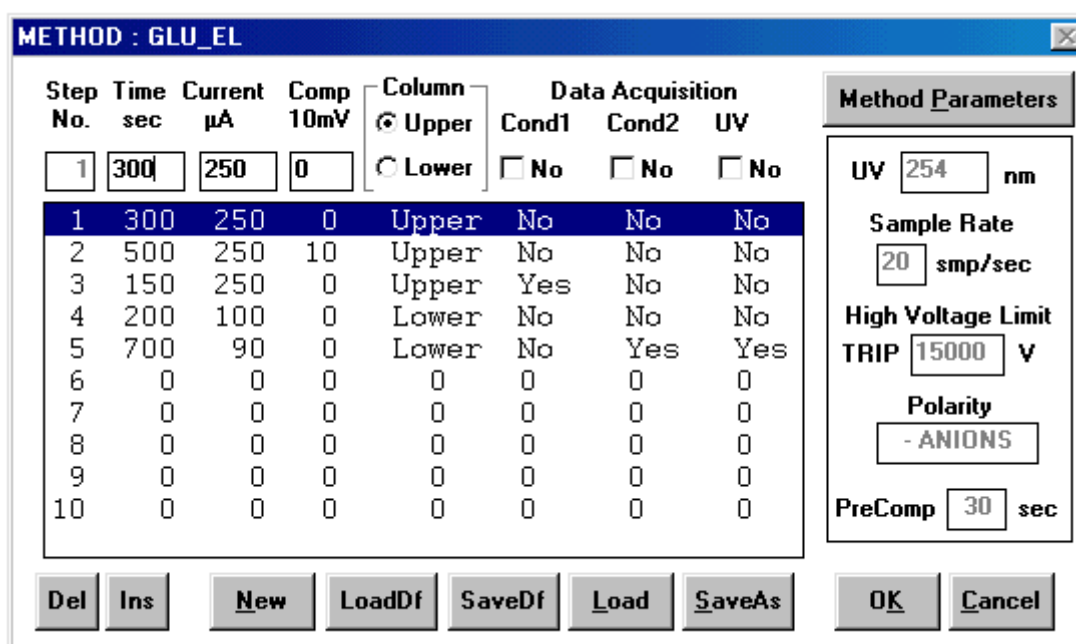


3. Příprava řídicího počítače a injekce vzorku

- a) zkontrolujeme připojení jednotky EA 100 a řídicího počítače do sítě. Na izotachoforetickém přístroji zapneme spínač umístěný vzadu vlevo dole. Naskočí displej vodivosti.
- b) zapneme řídicí počítač (není-li už zapnut) a spustíme program ITPWin umístěný na ploše počítače. Otevře se nám okénko Main ITPWin Window, kde zvolíme MEASURE.



c) naskočí nám měřící okno, kde v horní nabídce vybereme METHOD a zvolíme požadovanou metodu. V našem případě je to metoda



d) připravený vzorek nasajeme do injekční stříkačky a vložíme do otvoru v horní části separační jednotky. Dávkovací kohout máme stále v poloze A. Vstříkneme malé množství vzorku, které necháme protéct do odpadu. Nyní nastříkneme vzorek již na měření. Dávkovací kohout pootočíme do polohy B a sledujeme, zda v zásobníku TE ubývá elektrolyt, po pár mm přepneme do polohy C. Teď je systém připraven pro analýzu.

e) dávkovací kohout máme tedy v pracovní poloze C a zavřeme dvířka přístroje. Analýzu spustíme příkazem START. Rozsvítí se červená kontrolka HIGH VOLTAGE signalizující zapnuté napětí.

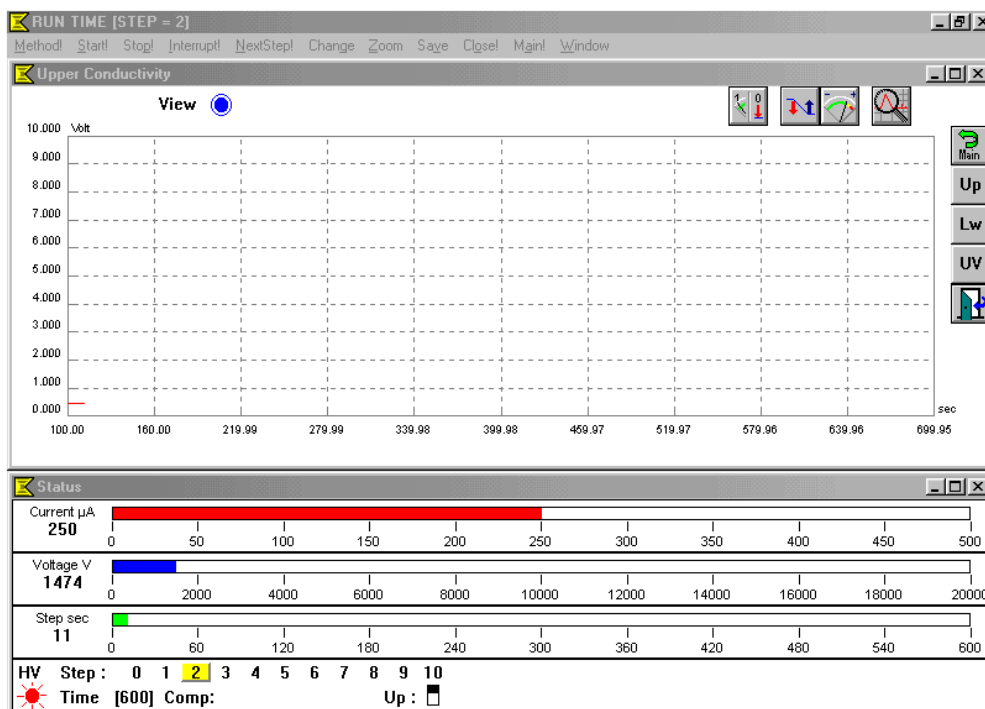
!! V žádném případě neotvíráme dvířka při probíhající analýze (při svítící kontrolce HIGH VOLTAGE)!!

Poznámka: V případě, že se v systému objeví vzduchové bublinky, analýza se nerozběhne a počítač nás buď upozorní, že se stala chyba. Je třeba systém opětovně propláchnout vedoucím elektrolytem a znovu nadávkovat vzorek.

!! Po doběhnutí analýzy otevřeme dvířka a dávkovací kohout musíme vrátit do polohy A!!

f) v prvním kroku probíhá předseparace v horní koloně (Upper), na obrazovce sledujeme postupující čas, velikost proudu a velikost napětí. Zároveň se zaznamenává konduktometrická křivka detektorem umístěným na horní koloně

g) po přepnutí na dolní kolonu (Lower) se objeví analogický panel. Po skončení analýzy se program automaticky zastaví a zeptá se na uložení. Dávkovací kohout otočíme zpět do polohy A a připravíme pro další analýzu. Naměřená data tedy uložíme a později zpracujeme.



4. Příprava opakované analýzy

a) dávkovací kohout máme v poloze A, obě kolony propláchneme stejným způsobem jako při naplnění kolony. Na propláchnutí kolony stačí přibližně 2 ml vedoucího elektrolytu z injekčních stříkaček. Nadávku vzorek, pootočíme dávkovací kohout do polohy B, necháme odtéct trochu koncového elektrolytu a otočíme do pracovní polohy C. V horním panelu spustíme Start.

!! Před každým dávkováním vzorku injekční stříkačku propláchneme destilovanou vodou, kontrolujeme, zda se nám do kolony nedostali bublinky!!

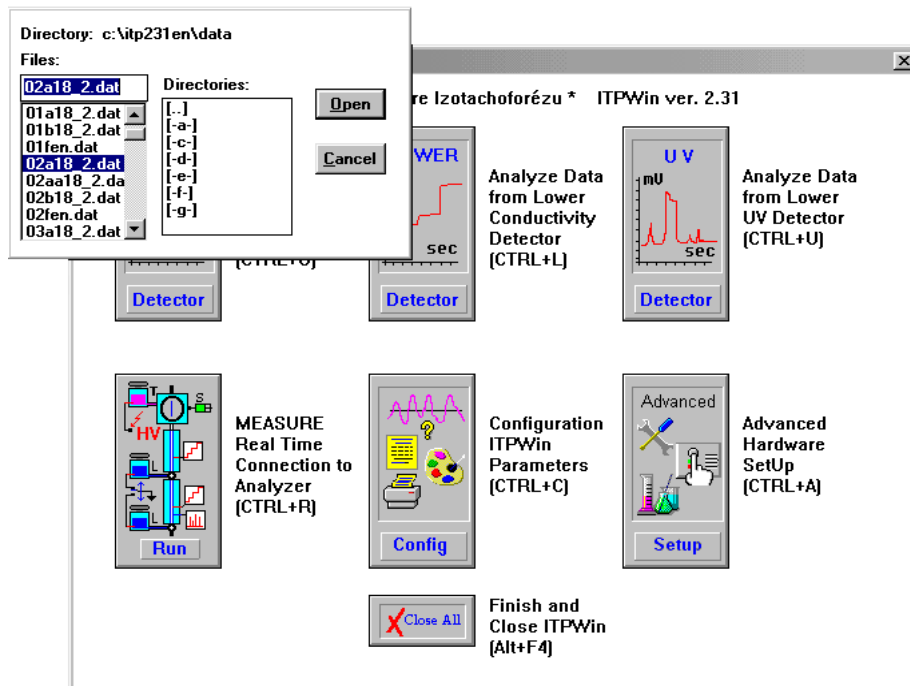
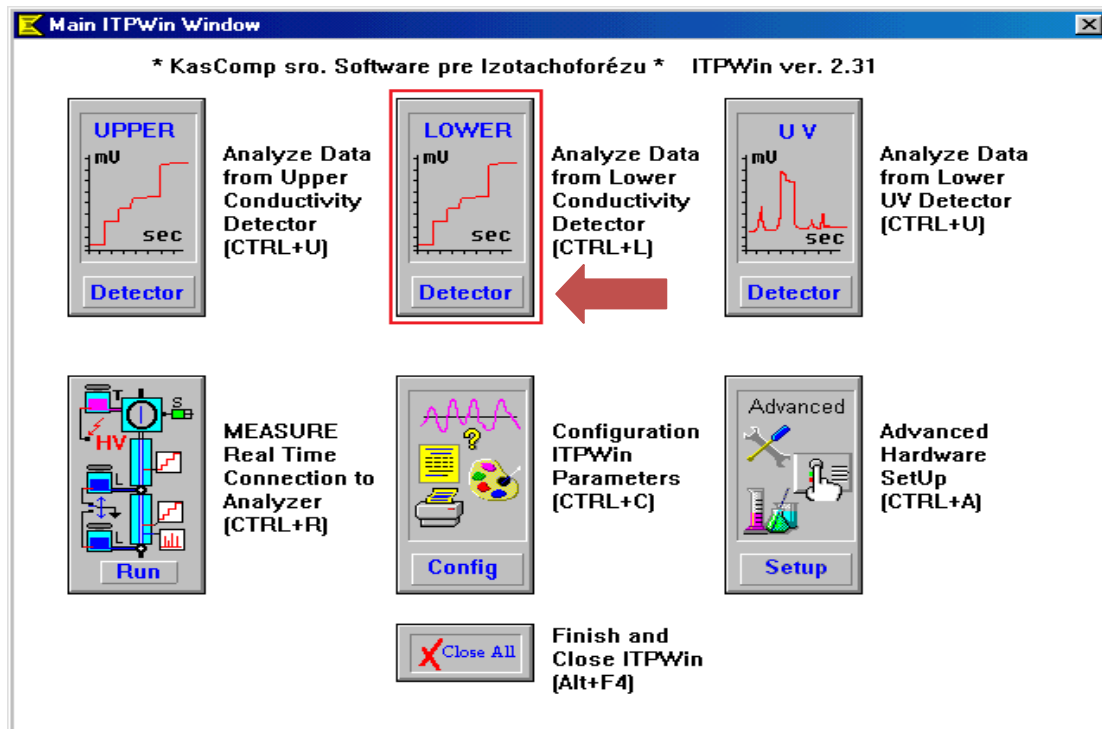
5. Ukončení analýzy

- a) po naměření poslední analýzy vypneme spínač na zadní straně
- b) roztoky vedoucího elektrolytu odsajeme z rezervoárů pomocí stříkačky s nástavcem a z kolony jej vytlačíme pod tlakem prázdnými injekčními stříkačkami do odpadu, poté promyjeme destilovanou vodou stejně jako v předchozích případech.
- c) všechny použité injekční stříkačky propláchneme destilovanou vodou a uložíme. Odpad z nádobky vylijeme a pomocí krytů zašroubujeme všechny rezervoáry.

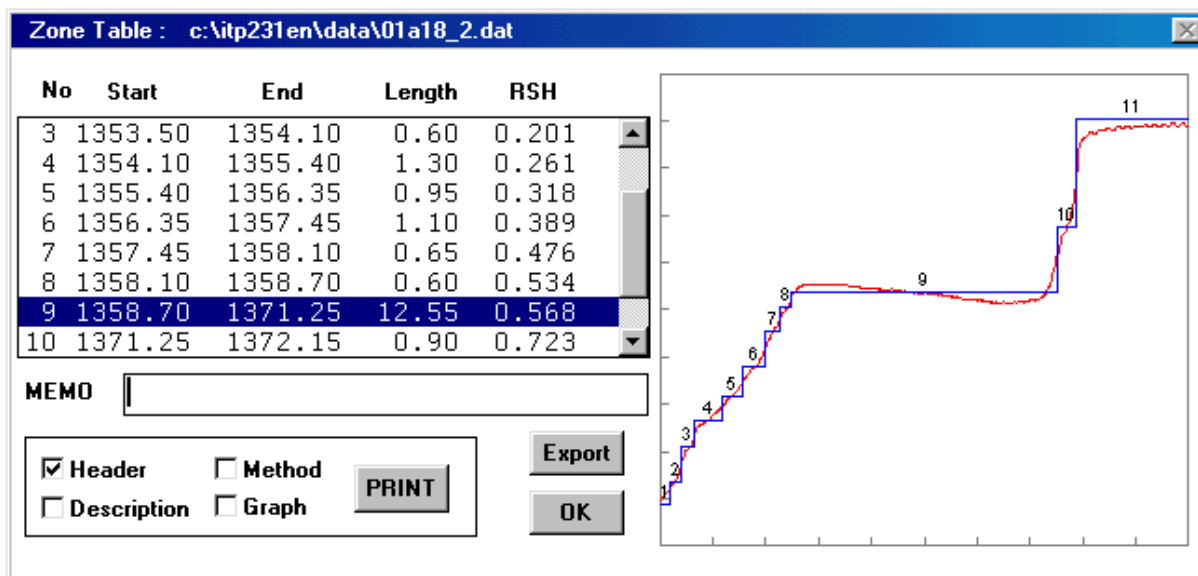
Poznámka: Celý systém zůstane naplněný destilovanou vodou

6. Vyhodnocení výsledků

- a) v hlavní nabídce otevřeme okno LOWER detektor a vybereme naměřený soubor.



b) po zobrazení grafu označíme ve spodní nabídce IdealGr (grafem se proloží ideální tvar a číselným označením píků). V horní nabídce ANALYZE zvolíme ZoneTable a zobrazí se nám tabulka s čísly píků, pro píků odpovídající kyselině glutamové odečteme délku (Lenght).



c) do grafu vynášíme délku píku v závislosti na koncentraci příslušných aniontů. Množství neznámého vzorku získáme pomocí extrapolace přímky z rovnice regrese. Nezapomeňme vynásobit příslušnou koncentraci ředěním!!