

21. ZNAČENÉ SLOUČENINY

Indikátorová metoda spočívá v umělých změnách izotopového složení prvku –
⇒ říkáme, že **prvek je označen** radioaktivním izotopem (metoda značených atomů)

Vztah izotopového indikátoru a zkoumaného procesu:

1. Sledování chování určité chemické látky – pak musí být chemická forma této látky a indikátoru stejné

- sledování biochemických dějů vyžaduje značení sloučeniny na určitých místech v molekul
- radioaktivními izotopy (**specifické značení**) nebo jde o obecné radioaktivní označení sloučeniny aspoň jedním radioaktivním atomem (**nespecifické značení**)

2. Radioaktivní nuklid slouží k označení určité látky v obecném smyslu

- sledování proudění kapaliny

Podmínka nutná: dostatečná počáteční specifická aktivita značící látky

Izotopicky substituované sloučeniny

(všechny molekuly jsou na určitém místě specificky značené)

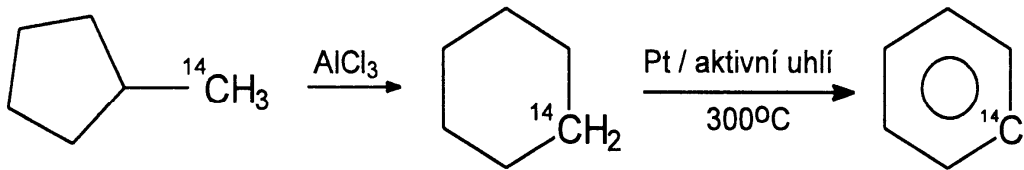
Př. **2-¹⁴C**-octová kyselina

Izotopicky značené sloučeniny –

směs normálních molekul s přirozeným izotopickým zastoupením a izotopicky substituovaných molekul (specificky značených)

směs **2-¹⁴C**-octová kyselina + **2-^{12,13}C**-octová kyselina

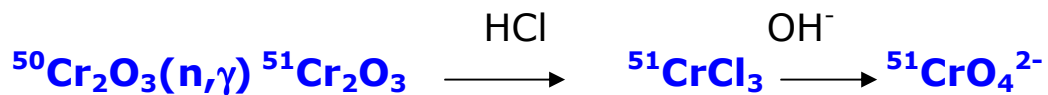
Příklady preparativních postupů:



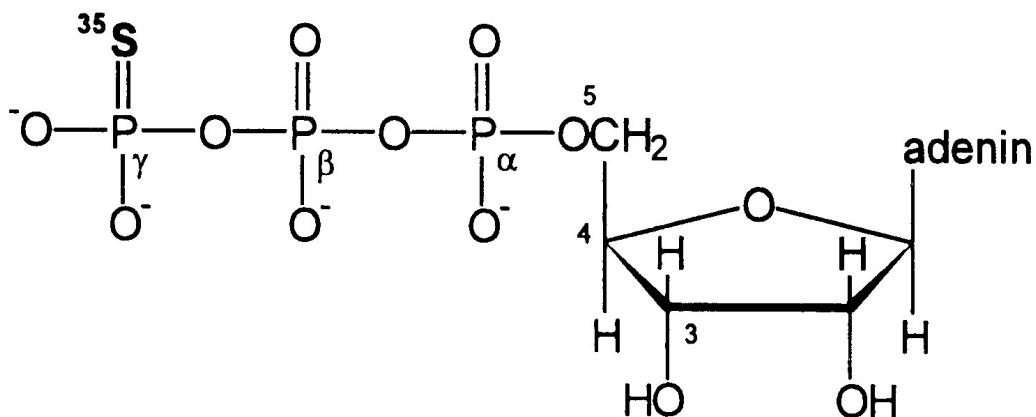
➤ **zavádění tritia** je založeno především:

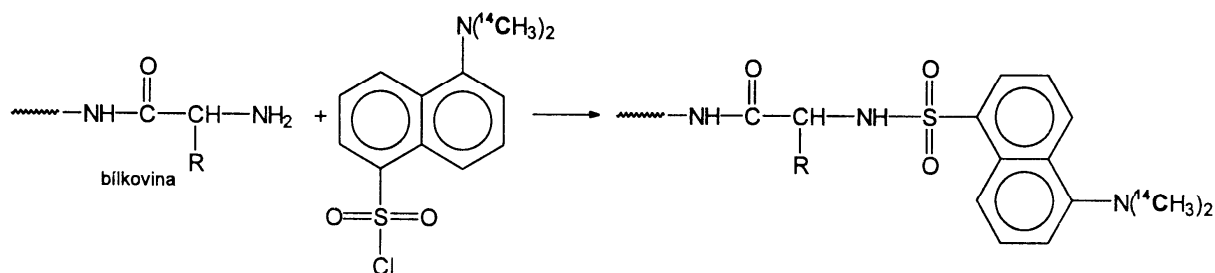
- na adici ${}^3\text{H}_2$ na dvojnou vazbu
- pomocí **redukcí tritidů** LiAl^3H_4 , NaB^3H_4

➤ značený chroman lze připravit ozařováním oxidu chromitého neutrony



Další příklady značených sloučenin:

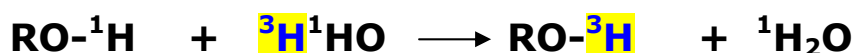




Značení izotopickou výměnou

Jde o přípravu značených sloučenin, kdy se mezi dvěma molekulami, z nichž je jedna značená, vyměňují dva izotopy téhož prvku (nejčastěji tritia)

Provedení: kontakt sloučeniny s tritiovou vodou. Je nutné, aby vazba s vodíkem podléhala alespoň minimální disociaci.



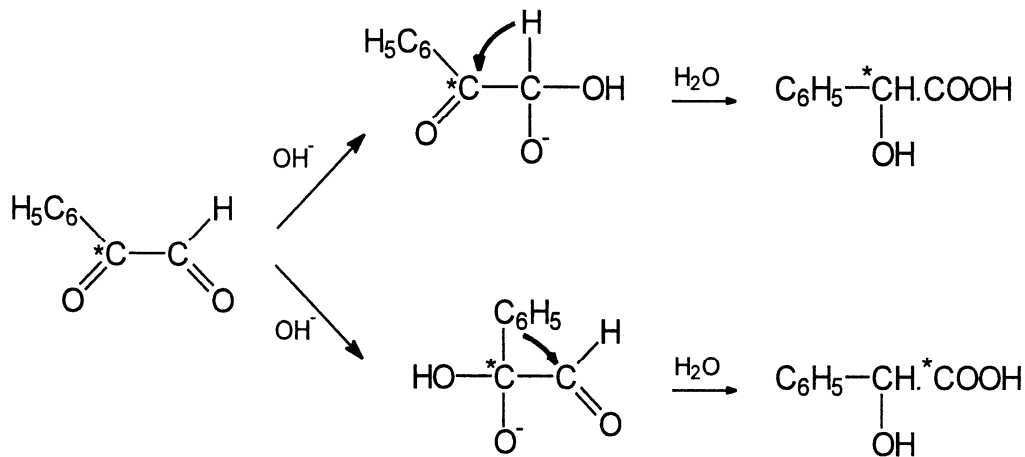
Biosyntetické metody

Jednoduché značené látky se použijí k výživě rostlin nebo mikroorganismů a využije se jejich syntetických schopností



22. INDIKÁTORY V CHEMII A BIOLOGII

➤ Studium mechanismů chemických reakcí



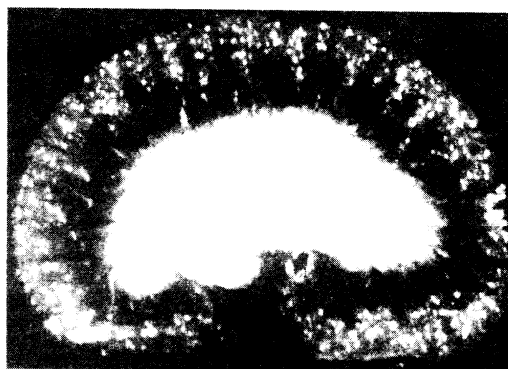
➤ Studium metabolických přeměn

Látka, jejíž metabolismus se zkoumá, se podá organismu ve značené podobě – pokud je předpokládán metabolický produkt radioaktivní, pak je předpokládán mechanismus metabolismu potvrzen.

➤ Kombinace studia metabolických přeměn s autoradiografií



Autoradiogram zmrazeného řezu krysou pořízený 6 hodin po injekci roztoku $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$.



Autoradiogram řezu ledvinou krysy, ukazující lokalizaci receptorů endothelinu.

Možné aplikace radioaktivních indikátorů

- stanovení součinu rozpustnosti
- rozpustnost kovů v roztavených solích
- rozpustnost plynů v kapalinách
- rozpustnost vody v org. rozpouštědlech
- o stanovení nízkých tenzí par málo těkavých látek
- o stanovení složení plynné a kapalné fáze při destilaci
- o stanovení velikosti povrchu sorbentu z množství adsorbovaného radioaktivního plynu
- o rozdělení látek (nejčastěji iontů kovů) mezi dvě nemísitelné kapaliny (kapalinová extrakce) nebo mezi roztok a ionex
- o vylučování kovů na elektrodách při elektrolýze
- o studium migrace částic v roztoku v elektrickém poli
- o sledování účinnosti praní tkanin pomocí značených povrchově aktivních komponent pracích prostředků

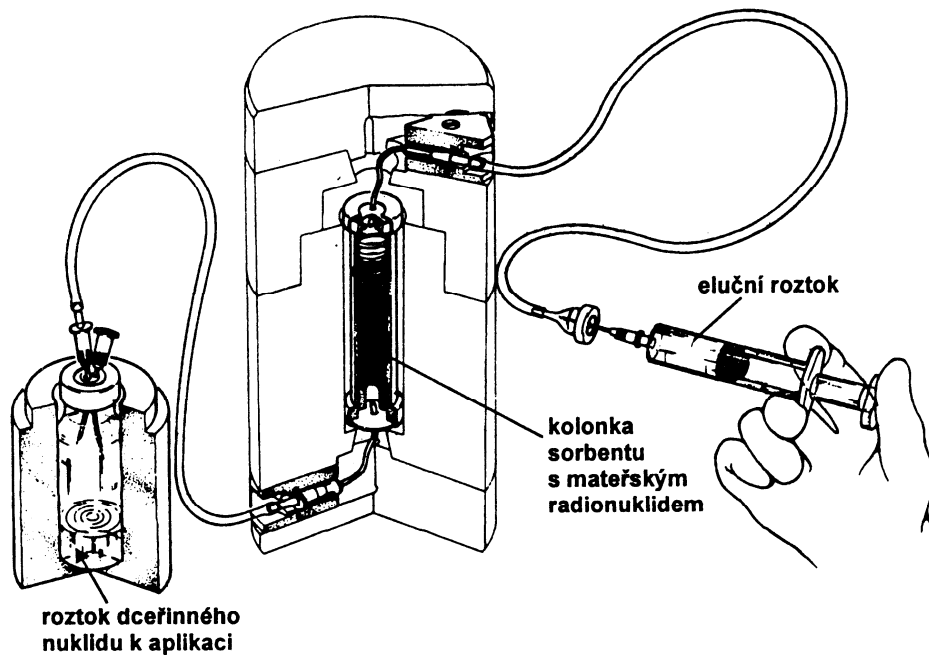
23. INDIKÁTORY V BIOLOGII

- **migrace drobnějších živočichů** (mouchy, komáři) – larvy se nechávají líhnout v živném radioaktivním médiu – dospělí jedinci jsou pak radioaktivní
- **migrace větších živočichů** (netopýři nesou pouzdra s nuklidem – lze je pak zjistit i přes skálu nebo ve škvírách)
- **studium přenosu potravin a živin** uvnitř hmyzího společenství (včelí úl)
- **studium výživy rostlin** (např. pomocí značeného fosfátu) – zjistí se jeho distribuce v rostlině, způsob jeho příjmu kořenovým systémem, zdroj fosforu z půdy apod.
- **molekulární biologie** se bez indikátorů neobejde – studium dějů přenosu informací na molekulární úrovni, podstata dědičnosti, určení pořadí nukleotidů v nukleových kyselinách (tzv. sekvencování)

aj.

24. INDIKÁTORY V LÉKAŘSKÉ DIAGNOSTICE

Radionuklidy se zpravidla získávají z radionuklidového generátoru



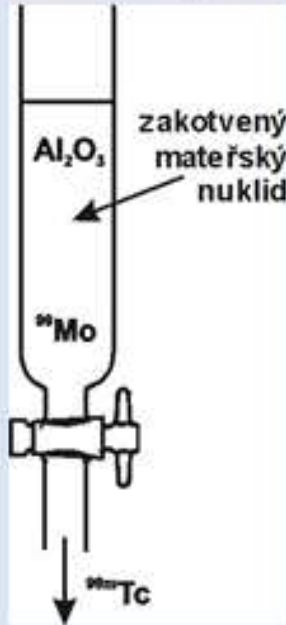
Radionuklidový generátor.

- využívají se v nukleární medicíně k vyšetřování funkce a stavu různých orgánů
- k diagnostickým účelům se dodávají **radiofarmaka**, která se do těla zpravidla vpravují intravenózně
- radioaktivní látka se selektivně hromadí ve vyšetřovaném orgánu a registruje se záření, které z něj vychází
- zjišťuje se lokalizace zhoubných nádorů
- provádějí se i dynamická vyšetření (sleduje se časová závislost příjmu a vylučování radioaktivní látky)

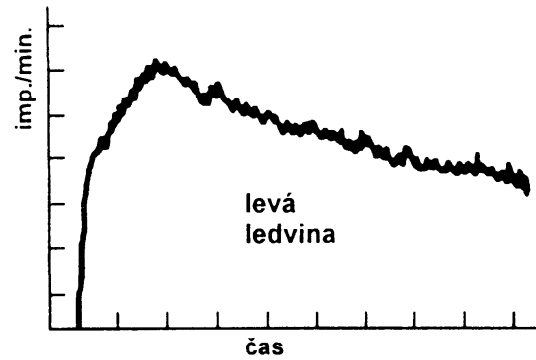
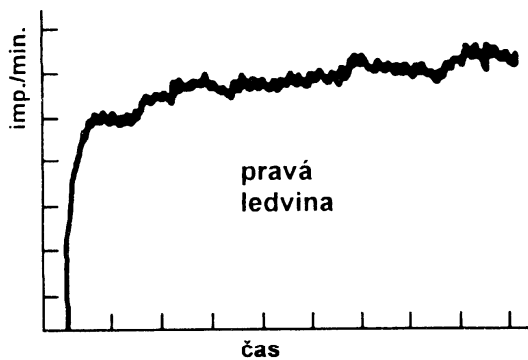
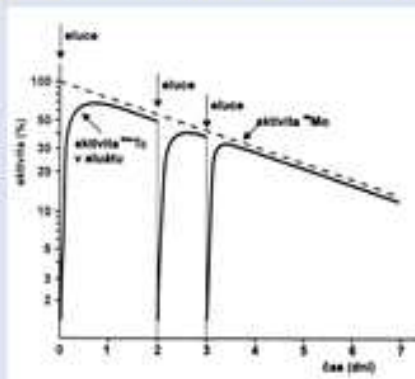
Generátory radioaktivních nuklidů

- metoda pro opakované získávání některých nuklidů. Využívá se existence trvalé nebo přechodné radioaktivní rovnováhy

Experimentální provedení radionuklidového generátoru:



mateřský nuklid	dceřiný nuklid	náplň kolony	eluční činidlo
^{99}Mo (67 hod)	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ (5,9 hod)	Al_2O_3	roztok NaCl
^{68}Ge (288 dní)	^{68}Ga (689 min)	SnO_2	1M HCl
^{82}Rb (4,58 hod)	$^{82\text{m}}\text{Kr}$ (13 s)	katex	voda nebo vzduch
^{82}Sr (25 dní)	^{82}Rb (78 s)	katex	roztok NaCl
^{113}Sn (115 dní)	$^{113\text{m}}\text{In}$ (1,7 hod)	ZrO_2	zř. kyselina



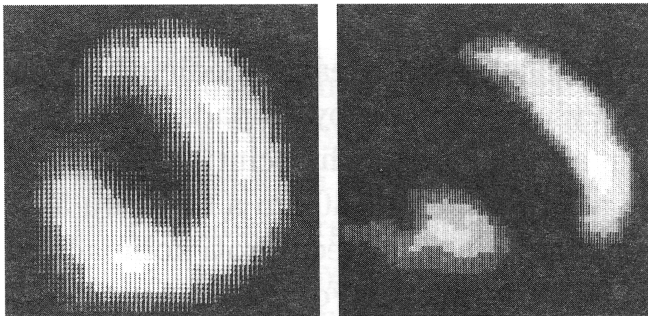
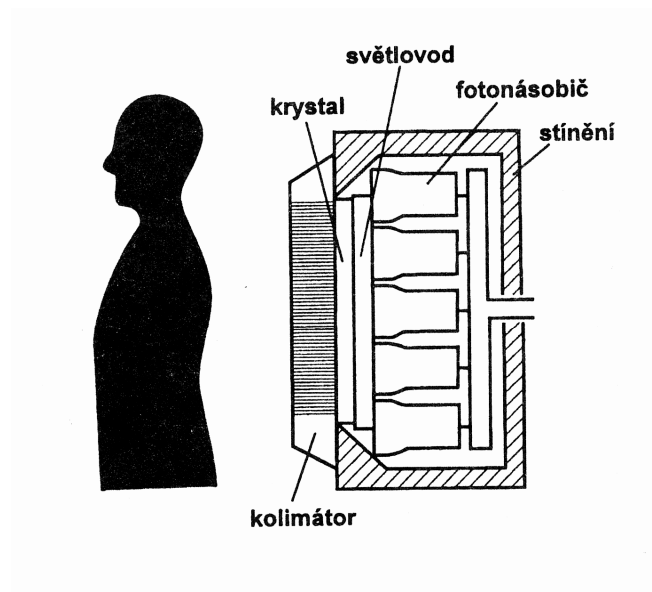
Křivky vylučování ^{131}I -hippuranu z ledvin. (Levá ledvina funguje normálně, na záznamu pravé ledviny je zřetelné pomalejší vylučování.)

Detekce záření vně organismu vyžaduje, aby radioaktivní nuklid emitoval elektromagnetické záření (gamma nebo rtg)

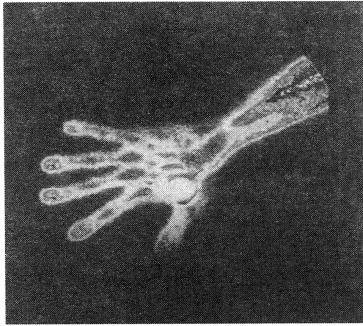
⇒ používají se pozitronické zářiče (pozitrony podléhají anihilaci) nebo zářiče β -/ γ , jaderné izomery nebo nuklidy podléhající EZ

⇒ nuklidy musí být **krátkodobé** a musí mít vhodnou (zpravidla nízkou) energii (snižuje se radiační zátěž organismu)

Detekce záření se provádí zpravidla pomocí **gamakamery**



Scintigram zdravého srdce (vlevo) a srdce po infarktu myokardu (vpravo) pořízený po intravenózní aplikaci ^{123}I -jodoheptadekanové kyseliny.



Scintigrafická kontrola prokrvení ruky přišité pacientovi po úrazu. Scintigram pořízen při kontinuálním zavádění ^{81m}Kr ($T = 13 \text{ s}$) v roztoku glukózy do žíly.

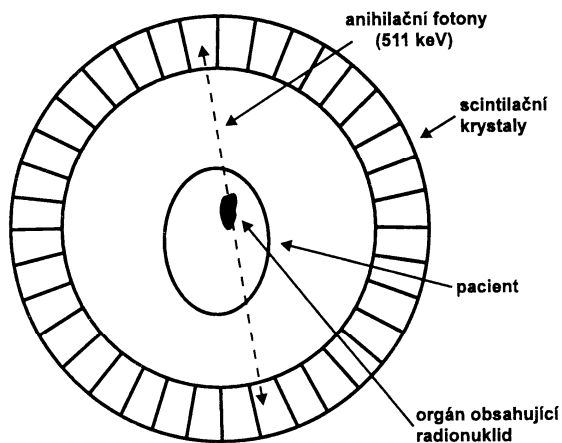


Schéma pozitronové tomografie.

25. INDIKÁTORY V HYDROLOGII

- studium pohybu vody v různých přírodních systémech (studium podzemních vod – jejich stáří, rychlost a směr toku, vztahy mezi povrchovými a podzemními vodami, propustnost vrstev apod.)
- používají se nuklidy kobaltu nebo chromu
- velké zředění aktivity během hydrologického pokusu minimalizuje zavedení radioaktivity do životního prostředí

26. INDIKÁTORY V PRŮMYSLU

- mechanismus transportu surovin v rotační peci při výrobě fosfátových hnojiv ze surového fosfátu, sody a písku — $^{24}\text{Na}_2\text{CO}_3$
- průchod slínek rotačním chladičem při výrobě cementu — ^{56}Mn (slínky s obsahem MnO_2 byly ozářeny v reaktoru)
- průtok a doba setrvání odpadních vod v čistících stanicích a odkalovacích nádržích — $^3\text{H}_2\text{O}$, $^{99m}\text{TcO}_4^-$, $^{24}\text{Na}_2\text{CO}_3$
- pohyb roztaveného železa a strusky ve vysoké peci — ^{60}Co pro značení železa, $^{46}\text{Sc}_2\text{O}_3$ pro značení strusky
- průchod plynů vysokou pecí — ^{85}Kr
- eroze platinového katalyzátoru při oxidaci amoniaku — ^{192}Ir (katalyzátor obsahoval iridium, které bylo aktivováno v reaktoru)
- pohyb popela v zařízení uhelné elektrárny — uhlí bylo ovlhčeno roztokem lanthanité soli značené nuklidem ^{140}La ; při spalování vznikl $^{140}\text{La}_2\text{O}_3$, který sloužil jako indikátor pro popel
- únik di-iso-oktylfthalátu v chemické aparatuře — chelát ^{99m}Tc s 8-hydroxychinolinem (rozpustný v di-iso-oktylfthalátu)
- současné sledování pohybu ropy a vody přes vrstvy písku — $^{58}\text{Co}(\text{CN})_6^{3-}$ pro značení vody, ^{59}Fe -ferrocen pro značení ropy
- průnik chrómu z pokovovacích lázní do materiálu nádrže — $^{51}\text{CrO}_3$
- netěsnosti v potrubí ropovodu — naftenát sodný ^{24}Na
- netěsnosti v potrubí plynovodu — ^{41}Ar nebo ^{85}Kr

27. METODY STUDIA KOMPLEXŮ

- A) KAPALINOVÁ EXTRAKCE
 - B) IONEXY
 - C) POTENCIOMETRIE
 - D) OSTATNÍ METODY
-

Ad A) Základní pojmy

A) Kapalinová extrakce \equiv rozdělování v soustavě **kapalina-kapalina**. Jde v podstatě o převádění rozpuštěné látky z jedné kapalné fáze (zpravidla vodné) do jiné fáze (organické)

\equiv z kapaliny do kapaliny se užívá tehdy, je-li příčinou přechodu do jiné kapalné fáze pouze rozdílná rozpustnost dělené složky v obou fázích

Separální extrakční funkce

1. Nernstova rozdělovací konstanta K_D (1891)

$$K_D = \frac{[B]_{org}}{[B]_{vod}}$$

-Užívá se tehdy, je-li extrahovaná látka přítomna v obou fázích ve stejné chemické formě

- Ve většině systémů je to opravdu konstanta, ale např. při rozdělení HCl mezi ether a vodu je koncentrací HCl výrazně ovlivněna rozpustnost etheru ve vodě a tím i mísitelnost fází a K_D (HCl)

2. Rozdělovací poměr

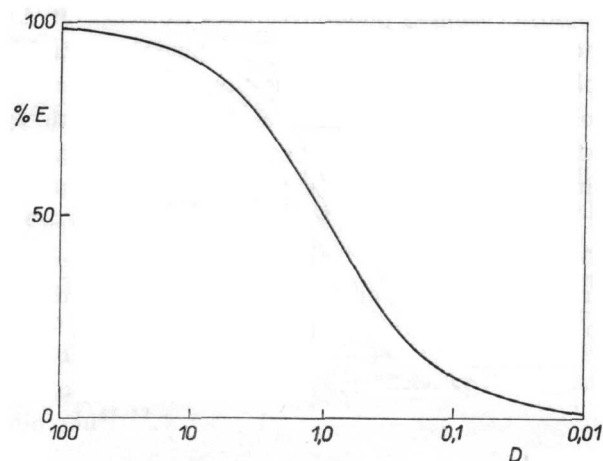
$$D = \frac{C_{B,org}}{C_{B,vod}}$$

c – analytická koncentrace látky. Zahrnuje tedy všechny formy, ve kterých se extrahovaná látka nachází, např. všechny formy komplexů kovu M v dané fázi.

V limitním případě, kdy se v obou fázích vyskytuje pouze jediná a tatáž chemická forma extrahované látky, pak přechází D na K_D .

3. Procento extrakce

$$E = \frac{100D}{D + \frac{V_{vod}}{V_{org}}}$$



Závislost procenta extrakce E na rozdělovacím poměru D .

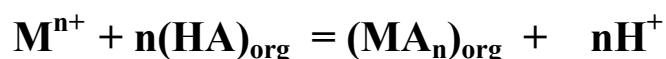
Obecné poznámky k extrakci:

- Extrahovat se budou látky málo rozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v organické fázi
- Je-li rozpustnost rozpuštěné a potenciálně extrahované látky v organické fázi malá (např. jde o kovové nebo ve vodné fázi hydratované ionty), pak je nutné zpravidla nahradit hydratační obal obalem jiným, hydrofobnějším.

- Pokud jsou i nadále částice, které chceme převést extrakcí do organické fáze, nabité, je nutné je převést do neutrální formy. Zpravidla se tak děje převedením do neutrálního komplexu (chelátu nebo iontového asociátu)
- I tak je důležité, aby extrahovaná částice měla pokud možno co nejvíce hydrofobní charakter, tj. aby alespoň některá její část měla do značné míry organický charakter.

B) Teorie extrakce chelátů (směrnice analýza)

➤ Vliv pH na extrakci chelátů



$$K_{ex} = \frac{[MA_n]_{org} \cdot [H^+]^n}{[M^{n+}] \cdot [HA]_{org}^n} = D \cdot \frac{[H^+]^n}{[HA]_{org}^n}$$

$$\Rightarrow \log D = \log K_{ex} + npH + n \log [HA]_{org} = \log \frac{EV}{V_{org}} - \log(100-E)$$

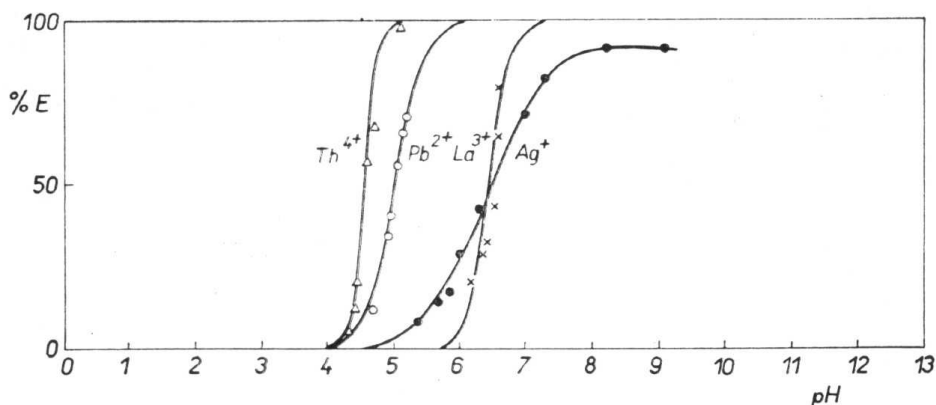
Pro $D=1$

$$-\log K_{ex}/n = pH_{1/2} + \log [HA]_{org}$$

$$-\log K_{ex}/n = (pH_{1/2})_{1,0}$$

$$-\log K_{ex}/n = pH_{1/2} + \frac{n+p}{n} \log [HA]_{org}$$

Poslední vztah platí pro tvorbu aditivního komplexu, tj. komplexu, kde je jeho součástí volné činidlo, které kation kovu vedle tvorby chelátového cyklu solvatuje.



Extrakce stříbra, olova, lanthanu a thoria 0,1 M roztokem 8-hydroxychinolinu v chloroformu.

	n = 1		n = 2		n = 3	
	E	D	E	D	E	D
pH _{1/2} - 1	9,1	0,1	1,0	0,01	0,1	0,001
pH _{1/2} - 0,05	24,1	0,32	9,1	0,1	3,1	0,032
pH _{1/2}	50,0	1,0	50,0	1,0	50,0	1,0
pH _{1/2} + 0,5	75,9	3,2	90,9	10	96,9	32
pH _{1/2} + 1	90,9	10	99,0	100	99,9	1000

Pozn. Procento extrakce dle tabulky lze dosáhnout tehdy, když:

- chelát kovu musí být velmi málo rozpustný ve vodě, aby hodnota rozdělovací konstanty $K_D(MA_n)$ byla dostatečně vysoká
- ve studované oblasti pH lze zanedbat tvorbu hydroxokomplexů či jiných ve vodě rozpustných komplexů

➤ Vliv koncentrace organického činidla

$$c_{HA} = [HA]_{org} + [HA] + [A^-] = [HA]_{org} \{1 + K_D[HA]^{-1} + K_D[HA]^{-1} \cdot K_a[H^+]^{-1}\}$$

tedy pro rovnovážnou koncentraci činidla v organické fázi platí:

$$[HA]_{org} = c_{HA} / \{1 + K_D[HA]^{-1} \cdot \{1 + K_a[H^+]^{-1}\}\}$$

Tuto hodnotu lze dosadit do vztahu pro K_{ex}/n

- K_D je rozdělovací konstanta extrakčního činidla HA, K_a je jeho disociační konstanta

➤ **Vliv maskujících činidel**

Projevuje se v přítomnosti maskujících činidel H_bB , které vytvářejí se studovaným kovem neextrahovatelný komplex typu MB_n .

➤ **Vliv disociační konstanty a rozdělovací konstanty organického činidla**

$$-\log K_{ex}/n = pK_a + \log K_D(HA) - \frac{1}{n} \log \{ \beta_n K_D(MA_n) \} = (pH_{1/2})_{1,0}$$

$$\text{kde } \beta_n = \frac{[MA_n]}{[M^{n+}][A^-]^n}; \quad K_D(MA_n) = \frac{[MA_n]_{org}}{[MA_n]}$$

➤ **Vliv rozpustnosti chelátu**

Platí, že:

- rozdělovací konstanta chelátu je přibližně rovna poměru rozpustnosti tohoto chelátu v organické a vodné fázi
- cheláty dobře rozpustné ve vodě (obsahují silně hydrofilní skupiny - OH, -COOH, -SO₃H, např. jde o šťavelany, vínany, komplexonáty) se málo rozpouštějí v organické fázi, a proto se málo extrahují
- cheláty rozpustné v obou fázích (acetylacetonát Zn, Co, Pb, vzácných zemin) se extrahují pouze částečně
- cheláty ve vodě prakticky nerozpustné se snadno extrahují do organické fáze téměř kvantitativně (acetylacetonát Al, Ga, In a Fe(III))
-

➤ **Vliv organického rozpouštědla**

Platí, že, organické rozpouštědlo ovlivňuje

- rozdělovací konstantu jak činidla, tak i kovového chelátu. Dá se říci, že čím větší je rozpustnost činidla v daném rozpouštědle, tím je i větší rozpustnost chelátů

- používají-li se k extrakci rozpouštědla s vyšší permitivitou (ketony, alkoholy, trialkylfosfáty), pak toto rozpouštědlo může nahrazovat molekuly koordinačně vázané vody v chelátu a vzniklý komplex se extrahuje podstatně lépe.
- pro zvýšení procenta extrakce se často užívají směsi rozpouštědel

Př. extrakce U(VI) – jde o synergické působení

<i>extrakční směs</i>	D_U
0,02 M 2-thenoyltrifluoroaceton/ cyklohexan	0,063
0,02M tri(n-butyl)fosfinoxid /cyklohexan	35,5
0,01 M 2-thenoyltrifluoroaceton + 0,01 M tri(n-butyl)fosfinoxid/ cyklohexan	1000

➤ **Vliv stability chelátu**

Platí (ze vztahu uvedeného dříve), že s rostoucí β_n roste i K_{ex} a extrakce může probíhat z kyselějších roztoků.

➤ **Vliv koncentrace kovu**

Většinou nezávisí D_M na koncentraci kovu při koncentracích $< 10^{-3}$ M, s výjimkou snadno hydrolyzovatelných prvků

Při vyšších koncentracích kovu se extrakce obvykle zhoršuje:

- dochází ke změně iontové síly vodné fáze
- ve vodné fázi se tvoří polymery
- snižuje se rovnovážná koncentrace organického činidla vlivem jeho spotřebování na tvorbu komplexu
- je omezena rozpustnost chelátu v použitém rozpouštědle

➤ **Vliv teploty**

Extrakce se většinou provádějí při pokojové teplotě, a proto byl vliv teploty málo sledován.

➤ **Vliv kinetických faktorů**

Uvedené vztahy platí pro rovnovážné systémy. Rychlost dosažení extrakční rovnováhy závisí na:

- rychlosti tvorby extrahovatelných chelátů
- rychlosti přenosu těchto chelátů z jedné fáze do druhé

⇒ při extrakci je velmi důležité znát dobu nutnou k ustavení rovnováhy

C) Substechiomrická separace

Běžný typ kvantitativní separace prvku:

použití nadbytečného množství komplexotvorného činidla

Lze však užít (v aktivační analýze) pro kvantitativní stanovení prvků v malých množstvích i menšího - **substechiomrického množství činidla** (tj. menšího než odpovídá stechiometrii separace).

Aktivační analýza: *radiochemická příprava různých nuklidů, nejčastěji reakcí (n, γ)*

- vzniká směs radionuklidů
- nutno je oddělit v radiochemicky čisté formě
- separace se zpravidla provádí po přidání neaktivního nosiče vybraného prvku (izotopické zředění)
- provede se separace tohoto vybraného prvku (nemusí být kvantitativní)
 - pro celkovou aktivitu A radionuklidu, který vznikl při ozařování platí

$$A = a \frac{x}{m}$$

A – celková aktivita vzniklá při ozařování
 a - aktivita izolované části
 x – váhové množství přidaného nosiče
 m – hmotnost izolovaného nosiče

Pro ozařování standardu platí stejný vztah:

$$A_s = a_s \frac{x_s}{m_s}$$

Aktivity stanovovaného prvku v analyzovaném prvku A a ve standardu A_s jsou přímo úměrné množství stanovovaného prvku:

$$y = y_s \frac{A}{A_s}$$

Lze zjednodušit, splníme-li dvě podmínky:

1. k analyzovanému vzorku i ke standardu přidáme po ozáření a rozpuštění přesně stejná váhová množství neaktivního izotopického nosiče ($x = x_s$)
2. z roztoku analyzovaného vzorku a ze standardu vyizolujeme pro měření aktivity libovolná, avšak přesně stejná váhová množství stanovovaného prvku ($m = m_s$). Pak platí:

$$y = y_s \frac{a}{a_s}$$

Zde se využívá substechiometrického principu separace, nejčastěji extrakce.

D) Izotopické zředování (1932)

Stanovení prvku je založeno na sledování změny specifické aktivity, způsobené smíšením radioaktivního a neradioaktivního nuklidu stanovovaného prvku

1. Přímé izotopické zředování

- k neaktivnímu stanovovanému prvku (y), přidáme k němu známé množství radionuklidu (y_s) a z poklesu specifické aktivity lze vypočítat obsah stanovovaného prvku

2. Obrácené izotopické zředování

- stanovení obsahu izotopického (neradioaktivního) nosiče v roztoku radionuklidu příslušného prvku

$$y = y_s \left(\frac{S_s}{S} - 1 \right)$$

Specifická aktivita: aktivita vztažená na jednotku hmotnosti: $S = \frac{a}{m}$

Oddělíme-li z roztoku původní specifické aktivity $S_s = a_s/m_s$ a z roztoku vzniklého izotopickým zředěním ($S = a/m$) vždy přesně stejná množství stanovovaného prvku (např. substechiometricky, $m_s = m$), pak pro jeho obsah (y) v analyzovaném vzorku platí

$$y = y_s \left(\frac{a_s}{a} - 1 \right)$$

Použití: analýza stop prvků