

# **Laboratorní cvičení z analytické chemie**

## **Základy analytické chemie**

### **Soubor návodů k úlohám**

Jiří Machát, Vítězslav Otruba, Jaroslav Šenkýř, Tomáš Vaculovič

**Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta**

Brno, 2023

## Organizace cvičení

Cvičení se bude zabývat základními operacemi a metodami analytické chemie. Bude se zaměřovat na základy kvalitativní analytické chemie (úloha 1), základní operace jako je vážení a odměřování objemů (úloha 2), kvantitativní analýzu pomocí gravimetrie (úloha 3) a volumetrie (úlohy 4 – 5) a separačními technikami (úloha 6). Všechny tyto úlohy jsou prováděny všemi studenty společně, každý student s vlastním vybavením a také s vlastním neznámým vzorkem.

Návody k úlohám jsou vždy uvedeny stručnou kapitolou z teorie metody - její prostudování vám pomůže pochopit prováděnou úlohu, i když jste se s metodou prozatím na přednáškách nesetkali. Celý návod si předem přečtěte a připravte se na cvičení vypočtením potřebných navážek apod.

Seznam úloh:

- 1) **Kvalitativní analýza v analytické chemii:**
  - Selektivní reakce kationů a anionů I ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ),
  - Selektivní reakce kationů II ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ )
- 2) **Kvantitativní analýza - základní operace:** Kalibrace pipety, statistické zpracování dat
- 3) **Gravimetrie:** stanovení železa v pigmentu jako  $\text{Fe}_2\text{O}_3$
- 4) **Odměrná analýza - Jodometrická titrace:** Stanovení vitamínu C v ovoci, vitamínovém preparátu
- 5) **Odměrná analýza - Chelatometrická titrace:** Stanovení Ca a Mg ve vodách a vápenatých schránkách živočichů
- 6) **Separační techniky:** Stanovení rostlinných barviv tenkovrstvou chromatografií (TLC)

## Vypracování protokolu

Z každé vámi provedené úlohy vypracujete **protokol**. Odevzdání a uznání protokolů (tedy věcná správnost vašich pozorování a výpočtů) ze všech absolvovaných úloh jsou podmínkou k udělení zápočtu. Protokoly odevzdávejte **vždy v následujícím cvičení**. Protokoly k opravě dostanete zpět, všechny uznané protokoly potom na konci semestru.

**Kvalitativní analýza** - v protokolech k úlohám z kvalitativní analýzy uvedete ke každému z analyzovaných neznámých vzorků **všechna činidla (reakce) a jejich výsledek**, která jste použili k dokázání či vyloučení přítomnosti hledaného iontu. Uvedeny budou i ty reakce, které nevedly k pozitivnímu výsledku, aby bylo možno na základě popsaných pozorování jednoznačně rozhodnout, zda hledaný ion je či není v neznámém vzorku přítomen. Použité reakce je možno popsat schematicky a stručně. Na konci protokolu musí být vždy uveden **závěr**, ve kterém slovně popíšete výsledek vašeho experimentu, tedy který ion (ionty) jste ve vašem vzorku (vzorcích) našli.

**Kvantitativní analýza** - v protokolech k úlohám z kvantitativní analýzy není nutno popisovat přesný postup provedení experimentu či teorii. Důležité a nutné je naopak uvést **všechna experimentálně získaná data**, která mají rozhodující vliv na výsledek: navážka standardní látky či vzorku (zde uvést hmotnost prázdné navažovací nádoby i nádoby s látkou), objem připraveného roztoku, množství pipetovaného alikvotního podílu roztoku, celkový objem roztoku vzorku, spotřeba odměrného roztoku a podobně. Stejně tak je nutno uvést **všechny výpočty**, které provádíte. Nároky na protokoly u různých úloh se mohou lišit, stejně jako se liší svojí náročností různé analytické metody. Vždy však musí být protokol ukončen závěrem, kde opět slovně uvedete získané výsledky a zhodnotíte je. Vaším úkolem je v kvantitativní analýze se co nejvíce přiblížit hodnotě (vám neznámého) obsahu analytu ve vzorku. Pečlivou prací a také správným postupem výpočtu můžete dosáhnout velmi dobrých výsledků. Všechny vaše výpočty jsou kontrolovány na správnost postupu a výsledku.

V hlavičce protokolu musí být vždy uvedeny tyto informace:

**Jméno a příjmení, studijní obor**

**Datum praktické realizace úlohy ve cvičení** (pozor při nahrazování absence!)

**Číslo úlohy a její název**

**Číslo vzorku(ů)** (pozor při nahrazování absence!)

# Statistické vyhodnocení výsledků

## Chyby výsledků chemické analýzy

Úkolem analytického chemika by mělo být poskytování **kvalitních výsledků**. Kvalitním výsledkem je myšlen takový výsledek, který je **správný a přesný**. Kvantitativní výsledky chemických analýz mohou být jako všechna čísla získaná měřením zatížena **chybou**. V praxi se setkáváme s trojím typem chyb:

- a) **chyby systematické**, které vznikají například při použití nesprávné metodiky pro daný vzorek (například použitím nesprávného indikátoru při titraci systematicky dochází k přetitrování). Výskyt takové chyby musí být vyloučen vhodnou volbou analytické techniky, případně adekvátním způsobem eliminován či korigován.
- b) **chyby hrubé** - mohou vznikat například nesprávným způsobem odečítání výchylky měřicího přístroje či objemu z byrety, nebo nedodržáním kritického kroku v návodu - jsou to tzv. chyby osobní. Dodržováním základních analytických návyků a návodů a maximální pečlivostí bychom těmto chybám měli předcházet.
- c) **chyby náhodné** - nabývají se stejnou pravděpodobností kladné i záporné hodnoty a jsou dány statistickým charakterem měření. Mohou být statisticky vyhodnoceny a odhadnuta jejich velikost.

Po vyloučení systematických chyb (adekvátně volená metodika analýzy) a hrubých chyb (adekvátně volený analytik) lze získat výsledky analýzy, které jsou zatíženy pouze náhodnými chybami. Tyto náhodné chyby vnášejí do výsledku analýzy jistou míru **nejistoty** - výsledky analýzy nelze považovat za absolutní čísla, výsledkem je vždy interval, ve kterém se opravdová (správná) hodnota nachází s jistou pravděpodobností.

Abychom mohli statisticky vyhodnotit výsledek analýzy a odhadnout míru jeho variability, je třeba získat dostatečný počet dílčích dat pro zpracování. Z tohoto důvodu se všechna analytická stanovení provádí opakovaně a data se následně zpracují pro získání **odhadu střední hodnoty a míry variability** této střední hodnoty. Správně uvedený výsledek analýzy by tedy měl sestávat z této střední hodnoty a hodnoty její variability. V praxi se u sériových (rutinních) analýz zpravidla provádí pouze jedno opakování s tím, že variabilita získaného výsledku je získána zpracováním dostatečně velkého souboru dat v procesu tzv. validace. Během **validace** se mimo této hodnoty získávají také další parametry, které charakterizují použitou metodiku a její aplikaci na daný vzorek (mez detekce, mez stanovitelnosti, linearita kalibrační závislosti, pracovní rozsah, selektivita, rušivé vlivy, opakovatelnost, reprodukovatelnost, robustnost a další).

## Vyloučení odlehlých výsledků

Získáme-li při analýze dostatečný počet dat, měla by být data s krajními hodnotami (nejnižší a nejvyšší) otestována na **odlehlost** (přítomnost hrubé chyby). Pro testování odlehlosti nejmenší a největší hodnoty seřazených ( $x_1$  až  $x_n$ ) dat můžeme použít různé testy (Dean-Dixonův, Studentův...), zde je uveden Dean-Dixonův Q test, který se používá pro malý soubor dat (typicky <7):

$$Q_1 = \frac{(x_2 - x_1)}{R}$$

$$Q_n = \frac{(x_n - x_{n-1})}{R}$$

kde  $R$  je tzv. rozpětí ( $x_{max} - x_{min}$ )

Vypočteme tedy hodnoty testu pro první a poslední hodnotu v řadě dat a srovnáme je s kritickými hodnotami v tabulce podle počtu získaných dat a zvolené hladiny pravděpodobnosti (zpravidla  $\alpha = 0,95$ ). V případě, že je hodnota testu vyšší než kritická hodnota, je výsledek odlehlý a je třeba jej ze souboru vyloučit. Po vyloučení opět testujeme (nově získanou) krajní hodnotu na odlehlost (nutno přepočítat rozpětí). Vylučovat nelze ze dvou hodnot a také ze tří hodnot, kde dvě z nich jsou shodné.

Tabulka kritických hodnot Q testu pro vyloučení odlehlých hodnot:

| n | Q <sub>k</sub> |          | n  | Q <sub>k</sub> |          |
|---|----------------|----------|----|----------------|----------|
|   | α = 0,95       | α = 0,90 |    | α = 0,95       | α = 0,90 |
| 3 | 0,941          | 0,988    | 7  | 0,507          | 0,637    |
| 4 | 0,765          | 0,889    | 8  | 0,468          | 0,590    |
| 5 | 0,642          | 0,760    | 9  | 0,437          | 0,555    |
| 6 | 0,560          | 0,698    | 10 | 0,412          | 0,527    |

## Výpočet odhadu střední hodnoty a její variability

Po vyloučení odlehlých hodnot vypočteme **odhad střední hodnoty** souboru dat. Pro většinu výsledků analytických metod lze za nejlepší odhad střední hodnoty považovat **aritmetický průměr X**:

$$X = (x_1 + x_2 + \dots + x_n) / n$$

**Parametrem variability odhadu střední hodnoty** (aritmetického průměru) je potom **směrodatná odchylka σ** (získaná z velmi velkého - teoreticky nekonečného počtu měření), respektive **odhad směrodatné odchylky s**. Pro menší počet výsledků ( $n \leq 10$ ) je vhodné zjednodušeně vypočítat odhad směrodatné odchylky z rozpětí  $R_n$  ( $R_n = x_{max} - x_{min}$ ):

$$s = R_n \cdot k_n$$

Hodnoty koeficientu  $k_n$  pro odhad směrodatné odchylky z rozpětí:

| n | k <sub>n</sub> | n  | k <sub>n</sub> |
|---|----------------|----|----------------|
| 2 | 0,8862         | 7  | 0,3698         |
| 3 | 0,5908         | 8  | 0,3512         |
| 4 | 0,4857         | 9  | 0,3367         |
| 5 | 0,4299         | 10 | 0,3249         |
| 6 | 0,3946         |    |                |

Jako relativní měřítko náhodné chyby se často používá **relativní směrodatná odchylka  $s_r$** , zpravidla vyjádřená v procentech:

$$s_r = s \cdot 100 / X \%$$

Směrodatná odchylka je statistickým parametrem měřícího postupu a v jednotlivém případě pouze udává, že při náhodném rozdělení (Gaussovo rozdělení) leží 68,3% všech naměřených hodnot v rozpětí  $\pm\sigma$  okolo aritmetického středu. Chceme-li výsledky vyjádřit s větší statistickou pravděpodobností  $P$ , musíme rozpětí zvětšit na  $\pm k\sigma$ , jak vyplývá z níže uvedené tabulky ( $P$  by přitom mělo být vždy uvedeno!).

| Chyba v rozmezí $\pm k\sigma$ | Statistická pravděpodobnost P | Chyba v rozmezí $\pm k\sigma$ | Statistická pravděpodobnost P |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0,675 . $\sigma$              | 50,0%                         | 2,58 . $\sigma$               | 99,0%                         |
| 1,00 . $\sigma$               | 68,3%                         | 3,00 . $\sigma$               | 99,7%                         |
| 1,64 . $\sigma$               | 90,0%                         | 3,29 . $\sigma$               | 99,9%                         |
| 1,96 . $\sigma$               | 95,0%                         | 4,00 . $\sigma$               | 99,99%                        |

## Hromadění chyb a nejistota

Je-li výsledek analýzy kombinací několika experimentálně zjištěných hodnot (naprostá většina výsledků), z nichž každá má svoji chybu (přesnost pipet, vah, odečítání objemu na byretě, přesnost - opakovatelnost rozkladu vzorku, odečtu výchylky na přístroji apod.), dochází k **hromadění chyb**. V praxi to znamená, že čím více operací při analýze provádíme, tím větší je pravděpodobnost, že celková chyba stanovení

bude větší (pokud dané operace nemají zanedbatelnou chybu samy o sobě). Jednotlivé chyby se "sčítají" dle zákona šíření chyb - chyba součtu či rozdílu je dána odmocninou ze součtu kvadrátů chyb dílčích hodnot, v případě součinu či podílu je relativní chyba dána odmocninou ze součtu kvadrátů relativních chyb dílčích hodnot.

V současném moderním pojetí analytické metrologie se operuje s pojmy **standardní nejistota - kombinovaná nejistota - rozšířená kombinovaná nejistota**. Zjednodušeně lze směrodatnou odchylku (jednoho kroku analytického postupu) považovat za standardní nejistotu. Kombinovaná nejistota je potom směrodatná odchylka výsledku celého analytického procesu, a to získaná buď ze zákona šíření chyb jednotlivých kroků analytického postupu, anebo z výsledků opakovaně provedených analýz téhož vzorku. Rozšířením kombinované nejistoty **faktorem pokrytí  $k$**  získáme rozšířenou kombinovanou nejistotu - interval, v němž se správná hodnota výsledku analýzy vyskytuje s předem zvolenou pravděpodobností (zpravidla pro pravděpodobnost  $P = 95\%$ ,  $k = 2$ ).

## Srovnání experimentálních výsledků

Výsledky, které mají malou (relativní) směrodatnou odchylku, jsou **precizní** (výsledky opakovaného stanovení padají blízko k průměrné hodnotě). Výsledky, jejichž střední hodnota je blízko očekávané (správné hodnoty) jsou potom **pravdivé**. V praxi se setkáváme se všemi kombinacemi možností - výsledky pravdivé a precizní (**spolehlivé**, ideální stav), výsledky správné ale nepřesné, výsledky nesprávné ale přesné a konečně výsledky nesprávné a nepřesné.

Často potřebujeme srovnat dva výsledky analýzy, například při analýze téhož vzorku dvěma různými metodami při ověřování jejich vhodnosti pro analýzu v rámci procesu validace. Vzhledem ke statistické povaze výsledků chemické analýzy nelze srovnávat dva výsledky jako absolutní čísla, ale je třeba brát v úvahu také míru jejich variability. Pro srovnání dvou experimentálních výsledků (průměrů  $X_A$  a  $X_B$ ) využíváme statistické testy na **shodnost** (Lordův, Studentův...). Pro malý soubor dat se používá Lordův test, který zahrnuje jak střední hodnotu výsledků, tak jejich rozpětí  $R_A$  a  $R_B$ .

$$u = \frac{|\bar{X}_A - \bar{X}_B|}{R_A + R_B}$$

získanou hodnotu porovnáme s kritickou tabelovanou hodnotou pro daný počet měření  $n$ . Výsledky jsou shodné, pokud platí  $u < u_{krit}$ . Je-li výsledná hodnota větší než kritická hodnota, je rozdíl dvou testovaných středních hodnot statisticky významný (na hladině pravděpodobnosti  $P$ ) a výsledky nejsou shodné.

Srovnáváme-li experimentálně získanou hodnotu  $X$  s definitivní hodnotou  $\mu$ , u které nepředpokládáme žádnou variabilitu (například připravíme-li si standard se známým obsahem analytu a zanedbatelnou nejistotou této hodnoty), použijeme opět statistický test, tentokrát test na **pravdivost**:

$$u = \frac{|\bar{X} - \mu|}{R}$$

a získanou hodnotu opět porovnáme s tabelovanou kritickou hodnotou v tabulce. Je-li  $u < u_{krit}$ , pak je výsledek pravdivý.

Tabulka kritických hodnot  $t_{krit}$  pro test shodnosti a správnosti (hladina pravděpodobnosti  $P = 0,95$ ) a počet stupňů volnosti  $\nu$ :

| n          | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $u_{krit}$ | 1,714 | 0,636 | 0,406 | 0,306 | 0,250 | 0,213 | 0,186 | 0,167 | 0,152 |

## Zpracování kalibrační závislosti

V řadě instrumentálních metod se setkáváme s pojmem kalibrace, což je proces přiřazení změřené hodnoty analytického signálu (proud, napětí, absorbance, atd.) známé hodnotě nezávisle proměnné (koncentrace, absolutní množství). Pro většinu analyticky využívaných metod přitom platí, že závislost je v určitém rozmezí lineární a také většinou prochází počátkem (při nulovém obsahu či koncentraci analytu je nulový také analytický signál). Pro kalibraci se zpravidla konstruuje tzv. kalibrační graf, tedy grafické znázornění výše zmíněné

závislosti. Vzhledem k tomu, že jednotlivé body v tomto grafu jsou změřeny experimentálně, mají každý svoji nejistotu. Pokud bychom každý z bodů měřili opakovaně, mohli bychom nejistotu vyjádřit například jako směrodatnou odchylku. Abychom omezili vliv chyby měření jednotlivých bodů, provádíme tzv. vyrovnání, kdy experimentální hodnoty (body) prokládáme křivkou, která odpovídá nějaké algebraické funkci  $y = f(x)$  a která prochází co nejpřesněji naměřenými body. Cílem přitom není nalézt funkci, která by jednotlivé body spojila, ale takovou funkci, s jejíž pomocí se nám podaří vyrovnat chyby měření jednotlivých bodů.

Lineární funkci lze popsat rovnicí  $y = ax + b$ . Odhady parametrů  $a$  (směrnice) a  $b$  (úsek na ose závisle proměnné - analytického signálu) lze z  $n$  dvojic měření ( $[x_1, y_1], [x_2, y_2]$  až  $[x_n, y_n]$ ) vypočítat metodou nejmenších čtverců. Hodnoty obou parametrů, směrnice i úsek na ose, jsou přitom zatíženy chybou, která závisí na počtu bodů  $n$  a na rozptylu bodů kolem regresní přímky (body, které neleží na přímce, zvyšují chybu odhadu parametru). Tyto chyby lze vyjádřit jako směrodatné odchylky. Je-li hodnota parametru  $b$  malá (srovnatelná s vlastní směrodatnou odchylkou), nebo je-li pro to fyzikální důvod, je vhodné úsek na ose otestovat, zda je statisticky významně odlišný od nuly, a to pomocí tzv. t-testu. Vyjde-li nevýznamná odlišnost od nuly, položíme tento úsek roven nule (přímka potom prochází počátkem) a přepočítáme směrnici (rovnice přímky má potom tvar  $y = ax$ ).

# Kvalitativní analýza

Kvalitativní analýza je jednou z oblastí analytické chemie, spočívající v důkazu hledaných prvků či sloučenin a v identifikaci vzorků neznámého složení. K tomu účelu nám mohou posloužit různé chemické reakce, při kterých vzniká sloučenina charakteristicky zbarvená, sraženina či jiný projev. Chemické reakce lze využít pro důkaz jednotlivých anorganických iontů, stejně tak lze v organické kvalitativní analýze identifikovat sloučeniny použitím reakcí charakteristických skupin látek (hydroxylová skupina, karboxyl, karbonyl, aminoskupina atd.). V současné kvalitativní analýze se využívá moderních instrumentálních metod jak pro analýzu prvkovou (například emisní spektrometrie), tak pro analýzu organických sloučenin (IR spektrometrie, NMR spektrometrie, hmotnostní spektrometrie aj.).

Jednoduché důkazové reakce, se kterými se v následujících úlohách seznámíte, mohou sloužit například pro identifikaci neznámé anorganické chemikálie ve vaší laboratoři (láhev bez štítku apod.). Pro důkazové reakce jsou ideální tzv. specifické reakce, kdy za daných podmínek reaguje pouze hledaný ion. Takových reakcí je ale málo a je tedy nutno dodržovat postup důkazu a v přítomnosti rušících iontů tyto předem oddělit nebo maskovat. Ve cvičení si nejprve vyzkoušíte všechny důkazové reakce uvedených iontů, budete pozorovat, co je pozitivní a co naopak negativní projev důkazu – u každé zkoušky je nutno provádět tzv. slepý pokus.

Slepý pokus je paralelně prováděný pokus za stejných podmínek a se stejnými činidly jako vlastní pokus, jediný rozdíl je v tom, že místo zkoumaného roztoku vzorku použijeme stejné množství destilované vody. Účelem slepého pokusu je poznat *negativní* výsledek reakce, a dále ověřit čistotu použitých činidel. Má-li být reakce dostatečně průkazná, musí být výsledek slepého pokusu zřetelně odlišný od vlastního pokusu.

Vaším úkolem je dokázat v předloženém vzorku (vzorcích) hledané ionty. Při analýze roztoku vzorku se doporučuje provádět ještě další, třetí pokus: místo vzorku se bere stejné množství roztoku příslušného iontu. Výsledek pokusu s naším vzorkem potom porovnáme s oběma extrémními výsledky (slepý a "plný" pokus) a tím si usnadníme rozhodování o přítomnosti nebo nepřítomnosti hledaného iontu. Tímto třetím pokusem současně ověříme správnou funkci činidla a máme-li správné reakční prostředí.

## Pracovní technika a pomůcky.

### *Kapkovací deska a filtrační papír.*

Většina reakcí se provádí v kapce zkoumaného roztoku vzorku v jamce na kapkovací desce. Vznik barevných produktů - rozpustných i sraženin - sledujeme na porcelánové kapkovací desce, bílé a světlé sraženiny či zákaly pozorujeme nejlépe na skleněné kapkovací desce proti černému, nebo alespoň tmavému pozadí. Promíchání kapky provádíme mírným foukáním přes pipetku. Zahřívání roztoku v kapce provádíme jen výjimečně, a to ponořením zahřátého Pt drátku. Jiným způsobem zahřívát kapkovací desky nelze doporučit, hrozí prasknutí desky.

V některých případech je výhodné provádět kapkové reakce na kousku filtračního papíru. Vznik sraženiny rozeznáme na filtračním papíře od rozpustného produktu při oplachování papíru pod tekoucí vodou: sraženina se na rozdíl od rozpustného produktu nedá vymýt.

Pro sledování tvaru krystalků sraženiny pod mikroskopem používáme podložní skličko. Skličko před použitím musí být dokonale čisté a suché. Na skličko kápneme minimální množství vzorku a činidla a promícháme (není nutno používat krycího skla). Zaostřování mikroskopu provádíme pohybem tubusu *od vzorku*. Pokud dojde k namočení objektivu do vzorku, otřeme jej opatrně navlhčenou vatou a osušíme!

### *Pipetky, kapátka a lopatička*

Přidávání roztoků vzorků a činidel provádíme pomocí kapátek nebo pipetek. Pipetky jsou skleněné trubičky, na jednom konci vytažené v zúženou část. Pipetky musí být před použitím čisté, vypláchnuté destilovanou vodou, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku nebo činidla. Doporučuje se uchovávat pipetky ve větší kádince s destilovanou vodou během pokusů. Kapátka jsou v širší části zakončena kouskem elastické hadičky, jejíž konec je zaslepen, a tvoří uzávěr většiny lahvíček s reagenčními roztoky.

Při kapkování se *nikdy* nesmíme dotknout kapátkem nebo pipetkou roztoku, ke kterému přidáváme kapku. Kapku necháme volně ukápnout přes vzduchovou mezeru mezi kapátkem a povrchem roztoku, ke kterému přikapáváme. V opačném případě hrozí kontaminace roztoku ve špičce pipetky nebo kapátka a zanesení nečistot do vzorku nebo činidel. Znečištění roztoku vzorku záměnou pipetky zabráníme, když jednu pipetku vyčleníme pouze pro přidávání roztoku vzorku a uchováваме ji ve zkumavce se vzorkem.

Reagencie v pevném stavu se přidávají pomocí špachtlí (mikrolžiček). Špachtli po použití opláchneme vodou a otřeme hadříkem.

## **Zkumavky, centrifugační zkumavky**

Některé operace (dělení skupin iontů, zahřívání aj.) provádíme ve zkumavce (dlouhé, tenkostěnné). Ve zkumavce pracujeme obvykle - pokud není v návodu uvedeno jinak - s objemy 1 - 2 ml (tj. cca 1 – 2 cm vrstva kapaliny). Zkumavky zahříváme buď přímo v plameni plynového kahanu, nebo na vodní lázni. Při zahřívání v plameni musíme dbát na některé zásady bezpečnosti. Sklo zkumavky jako špatný tepelný vodič se může lokálně přehřát a prasknout. Zahříváme proto vždy za současného intenzivního protřepávání obsahu zkumavky a jen po dobu několika sekund v plameni a potom zase několik sekund mimo plamen necháme teplo z ohřátého skla přejít na roztok vzorku. Destilující páry kondenzují v horní části zkumavky, kterou ohřejí. Nechceme-li si popálit prsty, použijeme zkumavkový držák. **Nikdy nemíříme ústím zkumavky na sebe nebo na jinou osobu,** ale vždy směrem do regálu. **Nikdy neohříváme hořlavé kapaliny přímo na plameni** (alkohol, benzen, kyselinu octovou), ale použijeme vodní lázeň. Vodní lázeň pro zahřívání zkumavek sestává z kádinky na 250 ml a kovové vložky pro zkumavky. Kádinka se naplní vodou a zahřívá se na síťce. Teplotu vody udržujeme blízko bodu varu. Vyvařenou vodu nezapomínat doplnit! Unikají-li toxické nebo dráždivé plyny či páry, provádíme zahřívání v digestoři se spuštěným odtahem.

Centrifugace slouží k oddělení sraženiny od roztoku odstředěním. Oddělení sraženiny se často urychlí zahříváním směsi, kdy dochází k tvorbě větších shluků pevné fáze (sraženina se sbalí). Skleněné centrifugační zkumavky jsou kónicky zúženy směrem ke dnu a smíme je zahřívát pouze na vodní lázni. Při zahřívání v plameni dochází k lokálnímu přehřátí spojenému s utajeným varem, jehož následkem obsah zkumavky vystřikuje a zkumavky snadno praskají. Vhodnější je nejprve připravit sraženinu v normální zkumavce (včetně zahřívání) a v centrifugační zkumavce provést pouze centrifugaci. Některé typy centrifug umožňují použití plastových centrifugačních zkumavek (tyto nezahříváme). Při centrifugaci vždy dbáme na **vyvážení centrifugy** druhou zkumavkou s přibližně stejným množstvím kapaliny (vody). Nevyvážená centrifuga vibruje a může se poškodit. Doba centrifugace se různí podle stupně koagulace sraženiny, její specifické hmotnosti a rychlosti otáčení. Obvykle několik minut (3 – 5) postačí k dobrému oddělení.

## **Porcelánová miska a kelímek**

Obojí používáme k odpaření roztoku vzorku, případně k přežhánání odparku. Porcelán je křehký materiál, který při větším teplotním šoku snadno praská. Zahřívání provádíme buď na vodní nebo vzdušné lázni, na síťce, nebo přímo v plameni. Při zahřívání přímo v plameni dbáme na pomalé a rovnoměrné ohřívání celého povrchu misky nebo kelímku. Kelímek vložíme do trianglu (tři keramické trubičky svázané drátem do rovnostranného trojúhelníku) a ten položíme na železný kruh, upevněný na stojanu. Rozžhavený kelímek při přemísťování uchopíme kleštěmi, jejichž hroty jsme předem nahřáli v plameni. Horký porcelán nikdy nepokládáme přímo na dlaždice stolu nebo na železný podstavec stojanu (prudkým ochlazením porcelán praská), ale pouze na azbestovou síťku. Porcelánové misky ohříváme v plameni jen výjimečně, držíme je v kleštích.

Vzdušnou lázeň realizujeme tak, že kelímek v trianglu, který leží na železném kruhu, nebo misku položenou přímo na železném kruhu umístíme nad síťku, ohřívanou plamenem kahanu. Mezi síťkou a dnem kelímku nebo misky zůstává mezera 1 - 2 cm.

## **Platinový drátek**

Platinový drátek průměru 0,5 mm a délky několik cm je zataven ve skleněné tyčince. Používá se hlavně pro plamenové zkoušky. Platinový drátek při těchto zkouškách nejprve vyčistíme střídavým ponořením do koncentrované kyseliny chlorovodíkové a přežhánáním v plameni, dokud barví plamen. Při žhánání v plameni drátek nevnášíme nikdy do středního, modrého kužele plamene (hrozí vznik karbidu platiny, zkřehnutí drátku a jeho zlomení), ale vždy jen na okraj plamene či nad modrý kužel. Do plamene a stejně tak do zkoumaného vzorku vnášíme drátek maximálně do poloviny jeho délky, jinak hrozí přehřátí skleněné tyčinky a po následném ochlazení v kapalině její prasknutí a uvolnění drátku. Platinový drátek je snadno ohebný a může se zlomit, neponožte jej proto až na dno zkumavek a uchovávejte jej v kádince otočené drátkem vzhůru. Při náhodném zlomení jej odevzdejte instruktorovi.

## **Čištění laboratorního nádobí**

Použitá nádobí omyjeme pod tekoucí pitnou vodou a opláchneme destilovanou vodou. Zde platí, že opakovaný oplach menším množstvím vody je účinnější než naplnění nádoby a vylití. Spotřeba destilované vody v analytické laboratoři je velká, snažte se jí šetřit (nikoli však nemístně). Některé sraženiny jdou rozpustit ve vhodném činidle (HCl, NaOH), poté vždy následuje oplach pitnou a destilovanou vodou.



## Úloha č. 1

- **Selektivní reakce kationů a anionů I** ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ )

- **Selektivní reakce kationů II** ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ )

### *Na<sup>+</sup>*

#### *Důkaz v plameni*

Sodné soli barví plamen intenzivně žlutě, ve spektru pozorujeme žlutou čáru (ve skutečnosti dvojitou: 589,6 a 589,0 nm). Reakce je vysoce citlivá, nepatrné stopy  $\text{Na}^+$  stačí k zabarvení plamene (i plamenné reakce dalších iontů mohou být ovlivněny stopami sodných solí z použitých chemikálií). Žluté čáry pozorujeme ve spektru stále, sledování spektra v tomto případě nemá smysl.

Provedení: Vyčištěný platinový drátek (očko) namočíme do roztoku vzorku a vneseme do plamene. Přítomnost  $\text{Na}^+$  ve vzorku uvádíme pouze tehdy, je-li zbarvení plamene po několika sekundách jasné a svítivě žluté.

#### *Mikroskopický důkaz s octanem uranylhořečnatým*

Koncentrovaný roztok octanu uranylhořečnatého v kyselině octové dává s  $\text{Na}^+$  málo rozpustnou, světle žlutou krystalickou sraženinu  $\text{NaMg}(\text{UO}_2)_3(\text{CH}_3\text{COO})_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ . Pod mikroskopem pozorujeme pomalou tvorbu charakteristických krystalů (stěny z rovnostranných trojúhelníků, některé krystaly připomínají svým tvarem židovskou hvězdu).

Ruší: Velký nadbytek  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ , celá řada těžkých kovů,  $\text{PO}_4^{3-}$  a  $\text{AsO}_4^{3-}$ . Lze je odstranit povařením 1 ml vzorku s přebytkem  $\text{MgO}$  a odstředěním. Neruší  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Al}^{3+}$ .

Provedení: Na čisté podložní sklíčko kápneme 1 kapku čirého roztoku a přikápneme jednu kapku činidla. Po několika minutách (2 - 5) pozorujeme pod mikroskopem vzniklé krystaly. Současně překontrolujeme čistotu činidla slepým pokusem.

### *K<sup>+</sup>*

#### *Důkaz v plameni*

Přítomnost  $\text{K}^+$  ve vzorku se projeví světle fialovým zbarvením plamene. Ve spektru se projeví jen při větší intenzitě emitovaného světla slabá červená čára při 766 a 770 nm.

Ruší: Všechny ostatní ionty barvící plamen, protože zbarvení plamene draslíkem je ze všech nejslabší. Intenzita zbarvení klesá v řadě: Na, Li, Ca, Ba, K. Nejvíce ruší intenzivní zbarvení sodíku, jehož žluté světlo se však dá do značné míry potlačit modrým kobaltovým sklem, přes které zbarvení plamene pozorujeme. Ve spektru není červená linie draslíku (pokud se objeví) ničím rušena.

Provedení: Vzhledem ke slabé intenzitě zbarvení plamene je vhodné pracovat s odparkem vzorku. Roztok v porcelánovém kelímku odpaříme do sucha a do vychlazeného kelímku přidáme 1 kapku konc.  $\text{HCl}$ . Vzniklou kašovitou hmotu nabíráme dobře vyčištěným Pt drátkem a vnášíme do plamene. Plamen pozorujeme přes kobaltové sklo (červenofialové zbarvení) a spektroskopem. Doporučuje se připravit si modelové vzorky obsahující: Na, K a směs Na + K a sledovat jejich zbarvení plamene přes kobaltové sklo.

#### *Důkaz dipikrylamínem*

Vznik oranžově červené sraženiny v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí. Sraženina je zpočátku jemně krystalická a světlejší, časem se tvoří větší krystalky tmněšího zbarvení. Pod mikroskopem pozorujeme hexagonální krystalky, převažuje tvar pravidelného kosočtverce. Jako činidlo se používá vodný roztok sodné soli s přísadkou  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Ruší:  $\text{NH}_4^+$  (vznik izomorfní sraženiny), kyselé prostředí (vznik žluté sraženiny dipikrylaminu),  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ , kationy těžkých kovů (srážejí se  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  přítomným v činidle). Amonné soli odkouříme, ostatní rušení odstraníme přidávkem nasyceného roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ke zkoumanému roztoku vzorku.

Provedení: Obsahuje-li vzorek  $\text{NH}_4^+$ , odpaříme 1 ml roztoku vzorku v porcelánové misce do sucha a odparek opatrně žiháme přímo v plameni do slabě červeného žáru (misku držíme zahřátými kleštěmi). Po ochlazení přidáme 1 ml destilované vody a 2 až 3 kapky nasyceného roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a po přelití do centrifugační zkumavky odstředíme.

Na podložní skličko dáme 1 kapku čirého roztoku, přikápneme 1 kapku činidla a pozorujeme pod mikroskopem. Dobře vyvinuté krystalky vzniknou po 2 - 3 min. Pozor: krystalky obdélníkového tvaru na okraji kapky vznikají krystalizací samotného činidla odpařováním vody, nezaměňovat s pozitivní reakcí!

## **$\text{NH}_4^+$**

### *Důkaz Nesslerovým činidlem*

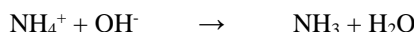
Nesslerovo činidlo je roztok tetrajodortu'natanu v NaOH. V alkalickém prostředí vzniká s amoniakem hnědá sraženina, obsahující skupiny -I a  $-\text{NH}_2$  kolísavého složení. Reakce je velmi citlivá, už stopy  $\text{NH}_4^+$  nebo  $\text{NH}_3$  dávají žluté zbarvení.

Ruší: Všechny kationy, které se srážejí v alkalickém prostředí. V jejich přítomnosti provedeme důkaz  $\text{NH}_4^+$  v plynné fázi jako  $\text{NH}_3$ .

Provedení: 1 kapka roztoku vzorku + 1 kapka roztoku činidla. Pozorujeme vznik hnědé sraženiny.

### *Důkaz jako $\text{NH}_3$ v plynné fázi*

Plynný  $\text{NH}_3$  se uvolňuje z roztoku  $\text{NH}_4^+$  v alkalickém prostředí:



Zahříváním roztoku vzorku po zalkalizování uniká plynný  $\text{NH}_3$ , který dokážeme indikačním pH papírkem nebo Nesslerovým činidlem.

Provedení: 3 kapky roztoku vzorku a 3 kapky 10% NaOH zahříváme opatrně v porcelánovém kelímku na síťce. Kelímek je zakrytý kouskem filtračního papíru s 1 kapkou Nesslerova činidla. V přítomnosti  $\text{NH}_4^+$  zbarví unikající amoniak vlhkou skvrnu na filtračním papíru do hněda (papír nesmí vyschnout, vlhčit destilovanou vodou), ovlhčený pH papírek zmodrá.

## **$\text{Mg}^{2+}$**

### *Důkaz magnezonem*

Čerstvě srážený hydroxid hořečnatý se vybarvuje některými barvivy velmi charakteristicky. Magnezon (4-nitrobenzenazorezorcín nebo 4-nitrobenzenoazo-1-naftol) tvoří s  $\text{Mg}^{2+}$  v alkalickém prostředí modrý chelát, který je stabilizován adsorpcí na  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ .

Ruší: velký nadbytek amonných solí a kationy "těžkých kovů". V přítomnosti velkého nadbytku solí  $\text{NH}_4^+$  se snižuje citlivost reakce a proto je nutno tyto soli odkouřit. Při vyšší koncentraci  $\text{Ca}^{2+}$  se alkalickým hydroxidem sráží  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , jehož bílá sraženina se v nepřítomnosti  $\text{Mg}^{2+}$  vybarví magnezonem fialově a může se tím ztížit rozhodování. Kationy "těžkých kovů" tvoří samy barevné hydroxidy nebo se jejich hydroxidy též vybarvují činidlem (např.  $\text{Cd}^{2+}$ ). Odstraní se čerstvě připraveným sulfidem amonným.

Provedení: 1 kapka roztoku vzorku + 1 kapka činidla + 1 - 2 kapky 10% NaOH. V přítomnosti  $\text{Mg}^{2+}$  vznikne chrpově modrá sraženina. Souběžně provádíme slepý pokus: v nepřítomnosti  $\text{Mg}^{2+}$  původně žlutý roztok po zalkalizování změni barvu na fialovou (roztok zůstane čirý).

Obsahuje-li vzorek "těžké kovy" (vznik sraženiny nebo zákalu s čerstvě připraveným sulfidem amonným) přidáváme k 1 ml roztoku vzorku po kapkách roztok sulfidu amonného, odstředíme a čirý a bezbarvý roztok (kontrola úplnosti srážení!) použijeme pro důkaz  $\text{Mg}^{2+}$ .

## **Ca<sup>2+</sup>**

### *Důkaz v plameni*

Ionty Ca<sup>2+</sup> barví plamen cihlově červeně. V přítomnosti chloridů se přechodně tvoří těkavější CaCl<sub>2</sub>, který se projeví v plameni jasnějšími karmínově červenými záblesky (záměna s Li možná!) bezprostředně po vnesení vzorku do plamene. S určitým zpožděním se objeví méně výrazné cihlové červené zbarvení plamene, které ve spektru vykazuje dva pásy: červený při 620 nm a zelený při 554 nm. Charakteristické je, že se oba pásy objevují a mizí současně.

Ruší: Na a Li mnohem intenzivnějším zbarvením plamene, které překryje zbarvení Ca. Ve spektru může kombinace Li+Ba předstírat přítomnost Ca, ovšem jasná a mnohem užší červená linie Li se neobjevuje a nemizí současně se zelenými liniemi Ba.

### *Důkaz kyselinou šťavelovou*

Vznik bílé krystalické sraženiny šťavelanu vápenatého v slabě kyselém prostředí nadbytku kyseliny šťavelové.

Ruší: většina kationů "těžkých kovů", neruší Ba<sup>2+</sup> a alkalické kovy.

Provedení: 1 kapka roztoku vzorku + 1 kapka roztoku kyseliny šťavelové - vznikne bílá krystalická sraženina. Provádíme na skleněné kapkovací desce. Sraženina, tvořená většími krystalky, je často špatně postřehnutelná. Jsou-li ve vzorku přítomny kationy "těžkých kovů", odstraníme je pomocí MgO.

## **SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>**

### *Důkaz Ba<sup>2+</sup> nebo Sr<sup>2+</sup> soli*

Vznik bílé krystalické sraženiny nerozpustné ve zředěných kyselinách. Konverze na jiné sloučeniny je možná pouze na suché cestě, např. redukcí kovovým hořčíkem nebo sodíkem při vyšších teplotách na BaS nebo SrS. Vzniklý sulfid (vzniká ze všech sloučenin síry!) se potom dokáže např. zčernáním stříbrného plíšku nebo nitroprusidem.

Ruší: S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> pomalým vylučováním síry po okyselení. Vznikne bílý koloidní roztok, který znemožňuje pozorování tvorby bílé sraženiny BaSO<sub>4</sub>.

Provedení: K 1 kapce roztoku vzorku přidáme 1 kapku 2 M HCl a 1 kapku 0,05 M BaCl<sub>2</sub>. Vznik bílé sraženiny nebo zákalu dokazuje přítomnost SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

## **PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>**

### *Důkaz molybdenanem*

Vznik žluté sraženiny (přechodně i žlutý roztok), nejlépe za horka, proměnlivého složení, obvykle (NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>P(Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>)<sub>4</sub>.xH<sub>2</sub>O v přítomnosti NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a v prostředí HNO<sub>3</sub> (nebo jiné minerální kyseliny).

Provedení: K 1 ml roztoku vzorku ve zkumavce přidáváme 2 M HNO<sub>3</sub> do kyselé reakce (1 ml) a potom přidáme 1 ml molybdenanového činidla. V přítomnosti fosforečnanů vznikne žlutá sraženina. Při nižších koncentracích fosforečnanu vzniká sraženina až po několikaminutovém zahřívání (např. na vodní lázni).

## **Cl**

### *Důkaz Denigesovým činidlem*

V prostředí konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se chloridy oxidují manganistanem na chlor, který uniká z reakční směsi a zachycuje se v kapce NaOH. Vzniklý chlornan oxiduje anilin a fenol na modrý indamin a indofenol.

Ruší: velký nadbytek redukujících látek (těž Br<sup>-</sup> a I<sup>-</sup>). Unikající páry bromu či jodu vybarví *suchou* část papíru hnědě či fialově a mohou tím znesnadnit pozorování modrého zbarvení. Proto vlhčíme papír 1 M NaOH, který Br<sub>2</sub> i I<sub>2</sub> odbarví.

Provedení: Do porcelánového kelímku dáme 1 ml konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , několik krystalků pevného  $\text{KMnO}_4$ , přidáme 5 kapek roztoku vzorku a kelímek ihned zakryjeme kouskem filtračního papíru, ovlhčeného 1 kapkou 1 M  $\text{NaOH}$  a 1 kapkou Denigesova činidla (vodný roztok čerstvě destilovaného fenolu a anilinu). V přítomnosti chloridů se vlhká část papíru vybarví modře. Při nižším obsahu chloridů kelímek opatrně zahříváme a dbáme na to, aby filtrační papír nevyschl (přikápnutím 1 M  $\text{NaOH}$ ).

#### *Důkaz tvorbou chromylchloridu*

V bezvodém prostředí konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  se z dichromanu tvoří těkavý červenohnědý  $\text{CrO}_2\text{Cl}_2$ , který jako chlorid kyseliny chromové ve vodě snadno hydrolyzuje na  $\text{H}_2\text{CrO}_4$  a  $\text{HCl}$ .  
Ruší:  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  vznikem  $\text{NOCl}$ , který spotřebuje chloridy a důkaz má negativní výsledek. Negativní výsledek dávají i nerozpustné nebo nedisociované chloridy, např.  $\text{AgCl}$  a  $\text{HgCl}_2$ . Červené nebo hnědofialové dýmy  $\text{Br}_2$ ,  $\text{NO}_2$  a  $\text{I}_2$  neruší, protože po zachycení v roztoku  $\text{NaOH}$  se odbarví.

Provedení: 1 ml roztoku vzorku odpaříme v porcelánovém kelímku, k odparku přidáme špetku pevného  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  a 5 kapek konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Kelímek ihned přikryjeme kouskem filtračního papíru navlhčeného 1 - 2 kapkami 1 M  $\text{NaOH}$  a opatrně zahříváme na vzdušné lázni. Přítomnost chloridů se projeví tvorbou červených dýmů, které vybarví *vlhký* papír do žluta (papír stále vlhčíme 1 M  $\text{NaOH}$ ).

### **$\text{NO}_3^-$**

#### *Důkaz difenylaminem*

Oxidační činidla oxidují difenylamin v kyselém prostředí na modré oxidační produkty, které však nejsou stálé a přecházejí přes fialové zbarvení do špinavě hnědé sraženiny. Kyselina dusitá má už ve slabě kyselém prostředí oxidační účinky, zatímco kyselina dusičná až ve značně koncentrovaném stavu. Důkaz  $\text{NO}_3^-$  difenylaminem musíme proto provádět v silně kyselém a vodu odnímajícím prostředí konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .  
Ruší: veškerá oxidační činidla, např.  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{MnO}_4^-$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  aj. Částečně ruší i  $\text{I}^-$  (konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  uvolňuje červenohnědý  $\text{I}_2$ ).

Provedení: Do čisté zkumavky dáme 1 kapku roztoku vzorku a otáčením zkumavky smočíme co největší povrch vnitřní stěny zkumavky. V blízkosti ústí zkumavky kápneme 1 kapku roztoku difenylaminu v konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Pozor, žíravina! Chránit oči brýlemi!) a sledujeme její stopu při stékání uvnitř zkumavky. V místě styku s roztokem vzorku se vytváří modrá stopa, která po chvíli změní zbarvení. Pozor, při přidávání roztoku difenylaminu se nedotýkejte kapátkem stěny zkumavky – zkontaminujete celý obsah lahvičky s difenylaminem.

#### *Důkaz tvorbou azobarviva po redukci na $\text{NO}_2^-$ zinkem*

V prostředí kyseliny octové se dusičnany redukují práškovým zinkem na dusitany, které se dokáží diazotační a kopulační reakcí za vzniku azobarviva.  
Ruší:  $\text{NO}_2^-$ , odstraní se močovinou v prostředí zředěné  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Provedení: Kapku roztoku vzorku na porcelánové kapkovací desce okyselíme 1 kapkou konc. kyseliny octové a přidáme na špičku lopatíčky prachového zinku. Foukáním přes pipetku promícháme a přidáme 1 - 2 kapky roztoku kyseliny sulfanilové, 1 kapku roztoku kyseliny chromotropové a zalkalizujeme 1 M  $\text{NaOH}$ . Jasně červené zbarvení dokazuje  $\text{NO}_3^-$  ve vzorku (v nepřítomnosti  $\text{NO}_2^-$ ).

### **$\text{Pb}^{2+}$**

#### *Důkaz kyselinou sírovou*

Ionty  $\text{SO}_4^{2-}$  způsobují tvorbu hutné bílé sraženiny  $\text{PbSO}_4$ . Jako srážecí činidlo je nejvhodnější 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Síran olovnatý je rozpustný v nadbytku  $\text{NaOH}$  (rozdíl od  $\text{BaSO}_4$ ). Přídavkem sulfidu amonného bílá sraženina zčerná za vzniku  $\text{PbS}$  ( $\text{BaSO}_4$  zůstane bílý).  
Ruší:  $\text{Ba}^{2+}$  tvoří také bílou sraženinu, která však nedává uvedené reakce.  $\text{Pb}^{2+}$  můžeme oddělit od  $\text{Ba}^{2+}$  např. 2 M  $\text{HCl}$  (vznikne □ bílá sraženina  $\text{PbCl}_2$ ) nebo 2 M  $\text{NH}_3$  (vznikne □ bílá sraženina  $\text{Pb}(\text{OH})_2$ ).

Provedení: K 1 kapce roztoku vzorku přidáme 1 - 2 kapky 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Vzniká bílá sraženina, která přidávkem 1 kapky sulfidu amonného zčerná, nebo přidávkem několika kapek 10% NaOH se rozpustí. Provádíme na skleněné kapkovací desce.

#### *Důkaz chromanem draselným*

Vznik žluté sraženiny PbCrO<sub>4</sub>, rozpustné ve 20 % NaOH (na rozdíl od BaCrO<sub>4</sub>).  
Ruší: celá řada kationů tvorbou žlutých až hnědých sraženin. Srážením 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> vyloučíme PbSO<sub>4</sub> a BaSO<sub>4</sub> ze vzorku a konverzí s K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> získáme žlutý PbCrO<sub>4</sub> (BaSO<sub>4</sub> nereaguje).

Provedení: Ke 3 kapkám vzorku přidáme po kapkách 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> až do úplného vysrážení, odstředíme a sraženinu promyjeme cca 1 ml 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ke sraženině přilijeme promývací kapalinu, roztřepeme, odstředíme a odlijeme) a ještě destilovanou vodou, ke které přidáme 2 - 3 kapky 1 M octanu sodného. Po odstředění slijeme promývací vodu, ke sraženině přidáme 5 kapek 5 % K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>, sraženinu zvlííme a zahříváme několik minut na vodní lázni. Po opětovném odstředění žlutá sraženina dokazuje přítomnost Pb<sup>2+</sup>. V přítomnosti většího množství Ba<sup>2+</sup> je sraženina pouze zřetelně nažloutlá, proto použijeme v tomto případě konverzi na PbS.

### **Cu<sup>2+</sup>**

#### *Důkaz hexakvanoželeznatanem*

Vznik červenohnědé sraženiny proměnlivého složení (převládá Cu<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] a Cu<sub>2</sub>K[Fe(CN)<sub>6</sub>]) v neutrálním nebo slabě kyselém prostředí. Sraženina se snadno rozpouští ve zředěných minerálních kyselinách a v amoniaku.

Ruší: Fe<sup>3+</sup> - vznik intenzivně zbarvené berlínské modři. Rušení lze odstranit amoniakálním dělením. Barevné sraženiny s [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> dávají i některé jiné kationy (např. Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>), důkaz Cu<sup>2+</sup> však ruší jen při velkém přebytku.

Provedení: k 5 kapkám roztoku vzorku přidáme konc. NH<sub>3</sub> do zřetelného přebytku (je cítit amoniak), směs odstředíme. Vznik modrého roztoku svědčí o přítomnosti mědi (možnost záměny s Ni<sup>2+</sup>!). K 1 kapce tohoto roztoku na porcelánové kapkovací desce přidáme konc. kyselinu octovou do světle modrozeleného zbarvení a 1 kapku K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. V přítomnosti Cu<sup>2+</sup> vznikne červenohnědá sraženina.

#### *Důkaz diethyldithiokarbaminanem (kupralem)*

Vzniká hnědá sraženina chelátu 1 : 2 v neutrálním, kyselém i alkalickém prostředí. Ve vodě nerozpustný chelát se dobře rozpouští v chloroformu, izoamylalkoholu a jiných organických rozpouštědlech.  
Ruší: málo rozpustné cheláty vznikají s velkým počtem prvků. Provedeme-li reakci s amoniakálním výluhem v přítomnosti EDTA, vzniká hnědý chelát, extrahovatelný do CHCl<sub>3</sub>, pouze s Cu<sup>2+</sup>.

Provedení: Amoniakální výluh získáme jako v předchozím důkazu. Ke 2 kapkám tohoto roztoku přidáváme po kapkách 0,1 M EDTA do změny modrofialového zbarvení na světle blankytně modré. Přidáme několik krystalů pevného kupralu a protřepeme. Vznikne hnědá sraženina, která po přidávku 1 ml CHCl<sub>3</sub> a protřepání se v něm rozpustí na hnědý roztok. Provádíme ve zkumavce.

### **Al<sup>3+</sup>**

#### *Důkaz alizarinem S (1,2-dihydroxyantrachinon-3-sulfonan)*

Vznik červeného chelátu ALL, povrchově adsorbovaného na sraženinu Al(OH)<sub>3</sub> v amoniakálním prostředí. Tato sraženina je nerozpustná ve zředěné kyselině octové (v tomto prostředí se však nesráží, vzniká pouze cihlově červený roztok chelátu). Činidlo je acidobazický indikátor, v kyselém prostředí je žluté, v alkalickém fialové.

Ruší: Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup> aj. Oddělíme je pomocí NaOH.

Provedení: K 1 ml 1 M NaOH přidáme 10 kapek roztoku vzorku. Z hlinitých solí vzniká přechodně hydroxid hlinitý, který se však v přebytku hydroxidu rozpouští na hlinitan. Rušící kationy se vysráží – jsou-li přítomny, po protřepání se směs odstředí. Na porcelánovou kapkovací desku se nanese 1 kapka čirého alkalického roztoku, přidá se 1 kapka činidla a přikapává se 2 M CH<sub>3</sub>COOH až se fialové zbarvení změní: v přítomnosti Al<sup>3+</sup> na cihlově červené, slepý pokus má žluté zbarvení.

## **Fe<sup>3+</sup>**

### *Důkaz thiokyanatanem*

V kyselém prostředí vznikají intenzivně červeně zbarvené rozpustné komplexy FeNCS<sup>2+</sup> vedle Fe(NCS)<sub>2</sub><sup>+</sup>.

Ruší: F<sup>-</sup> v nadbytku - maskovací činidlo.

Provedení: Na kapkovací desce se k 1 kapce kyselého roztoku vzorku přidá 1 kapka 20 % thiokyanatanu amonného. V přítomnosti Fe<sup>3+</sup> vznikne intenzivně červené zbarvení.

### *Důkaz hexakynoželesnatanem draselným*

V kyselém prostředí vzniká sraženina nebo koloidní roztok berlínské modři.

Ruší: Cu<sup>2+</sup> ve velkém nadbytku.

Provedení: Na kapkovací desce se přidá k 1 kapce roztoku vzorku po 1 kapce konc. HCl a 10 % K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. V přítomnosti Fe<sup>3+</sup> vznikne modrá sraženina.

### *Důkaz kyselinou 5-sulfosalicylovou*

Při pH 1 - 2 vzniká v nadbytku činidla fialový rozpustný chelát.

Ruší: F<sup>-</sup>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> - (maskovací činidla).

Provedení: Na kapkovací desce se k 1 kapce kyselého roztoku vzorku přidají krystalky pevného činidla. V přítomnosti Fe<sup>3+</sup> vzniká fialové nebo červené zbarvení.

## **Mn<sup>2+</sup>**

### *Důkaz oxidací na MnO<sub>4</sub><sup>-</sup> jodistanem*

Oxidace probíhá v kyselých roztocích za horka a vzniká fialový MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Reakce je velmi citlivá a musí se provádět se zředěným roztokem vzorku. Při vyšších koncentracích a nižší aciditě vzorku vzniká hnědá sraženina MnO<sub>2</sub> (burel).

Ruší: Cl<sup>-</sup> v nadbytku

Provedení: 1 kapku roztoku vzorku zředíme ve zkumavce cca 2 ml dest. vody a obsah zkumavky vylijeme. Ulpívající kapky na stěnách zkumavky postačují na důkaz. Přidáme 2 ml 2 M HNO<sub>3</sub>, na špičku lopatíčky pevný KIO<sub>4</sub> a zahříváme k varu. Po několika minutách se v přítomnosti Mn<sup>2+</sup> roztok začne barvit fialově. Pokud se zbarvení neobjeví ani po několika minutách, přidáme další KIO<sub>4</sub> a dále zahříváme. Pozor na záměnu se slabě růžovým zbarvením Co<sup>2+</sup>.

## **Zn<sup>2+</sup>**

### *Důkaz hexakynoželesnatanem*

V prostředí 1 M HCl vzniká sraženina hexakynoželesnatanů zinečnatých s proměnlivým obsahem draselných iontů, která je teoreticky bílá. Ve žlutém roztoku nadbytečného hexakynoželesnatanu se však jeví žlutě a v přítomnosti Fe<sup>3+</sup> (vznik berlínské modři ze znečištění chemikálií stopovými obsahy Fe), v konečném efektu pozorujeme obvykle žlutozelenou sraženinu. Sraženina je nerozpustná v 20 % HCl.

Ruší: Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>. Odstraníme dělením v 1 M NaOH.

Provedení: Ke 2 ml 1 M NaOH ve zkumavce přidáme 0,5 ml roztoku vzorku, po protřepání směs krátce povaříme, odstředíme (obsahuje-li sraženinu) a čirý roztok opatrně slijeme. K roztoku přidáme stejný objem konc. HCl, 1 M octanu sodného a činidla. Vznik žlutozelené sraženiny nebo zákalu dokazuje přítomnost zinku. V nepřítomnosti Zn<sup>2+</sup> vznikne čirý žlutozelený roztok (slepý pokus nutný, provádíme ve zkumavce).

## **Co<sup>2+</sup>**

### *Důkaz thiokyanatanem*

Vznik modrého rozpustného komplexu  $[\text{Co}(\text{NCS})_4]^{2-}$  s nadbytkem činidla. Komplex se extrahuje do polárních kyslíkatých rozpouštědel (např. do izoamylalkoholu).

Ruší:  $\text{Fe}^{3+}$  (maskuje se  $\text{F}^-$  za vzniku bezbarvého rozpustného komplexu),  $\text{Cu}^{2+}$  tvoří hnědou sraženinu (v nadbytku  $\text{NH}_4\text{SCN}$  se však daří vyextrahovat do izoamylalkoholu modrý Co - komplex).

Provedení: K 1 kapce neutrálního nebo slabě alkalického roztoku vzorku přidáme několik zrníček  $\text{NH}_4\text{SCN}$  (v přítomnosti  $\text{Fe}^{3+}$  přidáváme pevný NaF do odbarvení intenzivního červeného zbarvení za míchání opatrným foukáním přes pipetku, zabránit nadbytku NaF) a 2 kapky izoamylalkoholu. Foukáním přes pipetku se v přítomnosti  $\text{Co}^{2+}$  modré zbarvení extrahuje do vnější organické fáze.

### *Důkaz 1-nitrozo-2-naftolem*

Vznik červenohnědé sraženiny chelátu  $\text{CoL}_3$  v neutrálním, slabě kyselém nebo amoniakálním prostředí. Vyloučená sraženina se nerozpouští v 10 % HCl.

Ruší:  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ . Jejich cheláty se však v 10 % HCl rozloží.

Provedení: Na filtrační papír se kápne 1 kapka roztoku vzorku, 1 kapka 1 M octanu sodného a 1 kapka činidla. Po chvíli se přidá 1 kapka 10% HCl. V přítomnosti  $\text{Co}^{2+}$  zůstává hnědočervená skvrna na papíře (srovnávací pokus s  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  se doporučuje).

## **Ni<sup>2+</sup>**

### *Důkaz diacetyldioximem*

V amoniakálním prostředí vzniká růžově červená sraženina chelátu  $\text{Ni}(\text{DH})_2$ .

Provedení: K 1 ml 2 M  $\text{NH}_3$  přidáme 3 kapky roztoku vzorku a po protřepání odstředíme. Čirý roztok slijeme a přidáme k němu 1 - 2 kapky činidla. V přítomnosti  $\text{Ni}^{2+}$  vzniká růžově červená sraženina. Důkaz můžeme provést i na filtračním papíře: K 1 kapce roztoku vzorku se přidají 2 kapky roztoku činidla a papír se okouří amoniakem (nad hrdlem lahvičky s konc.  $\text{NH}_3$ ). Objeví se růžová skvrna, která se nedá spláchnout pod tekoucí vodou.

# Kvantitativní analýza – základní operace

Kvalitativní analýza neznámých vzorků je jen jednou z oblastí analytické chemie. Stěžejní činností analytického chemika je kvantifikace známých složek, zjištění jejich obsahu ve vzorku, tedy **kvantitativní analýza**. V souvislosti s vlastnostmi a charakterem **analytu** (tedy látky stanovované) a **vzorku** (hmota, v níž stanovovanou látku hledáme) je využívána celá řada metod analytické chemie k tomu, aby stanovení svými metrologickými vlastnostmi (správnost, přesnost, mez stanovitelnosti, opakovatelnost aj.) vyhovovalo požadavkům zadavatele analýzy a tedy i uživatele výsledků.

Moderní analytická chemie využívá řadu metod na rozličných fyzikálně-chemických principech, nicméně u všech se setkáváme se základními činnostmi, jako je vážení, odměřování objemu, ředění roztoků, kalibrace přístroje apod. S těmito základními operacemi (nejen) analytické chemie se setkáte také ve své praxi biologické, fyzikální či v ostatních oblastech chemie. Vzhledem k tomu, že kvalita výsledků vaší práce je mimo jiné závislá také na přesnosti a správnosti prováděných základních analyticko-chemických operací, je tato úloha zaměřena právě na získání správných návyků při vážení a odměřování objemu pipetou, byretou a odměrnou baňkou. Využijete je ve všech následujících úlohách kvantitativní analytické chemie a věříme, že vám napomohou i ve vašem dalším profesním životě.

## Váhy a vážení

### *Analytické váhy*

Analytické váhy patří k základnímu vybavení každé analytické laboratoře. Je to velmi jemné a citlivé zařízení, proto musíme analytické váhy chránit především proti otřesům, prachu, vlhkosti, před agresivními látkami, které způsobují korozi kovových částí vah, a proti změnám teploty. Proto bývají umístěny v samostatné místnosti (váhově) na masivních konzolách upevněných na nosné zdi. Ve váhově se udržuje konstantní teplota a nesmí se tam manipulovat ani s vodou či jinými látkami, uvolňujícími agresivní páry. Analytické váhy mohou být různé konstrukce, od nejstarších dvomiskových vah s ručním přidáváním závaží přes váhy jednomiskové s analogovou stupnicí až po nejmodernější váhy digitální. I přes zjednodušující se obsluhu těchto zařízení jsou to vždy přístroje velmi citlivé a jemné a proto je nanejvýš vhodné se k nim také tak chovat. Analytické váhy jsou konstruovány tak, aby byly schopny vážit s přesností na 0,1 mg. Všechny hmotnosti, získané vážením na analytických vahách, tedy budou uváděny (v gramech) na 4 desetinná místa. Pokud je na posledním místě nula, je nutno ji tam také uvést.

V našich laboratořích se používají vesměs poloautomatické dvomiskové váhy s tlumenými kyvy. Vahadlo je opatřeno třemi achátovými břity, které spočívají na achátovém ložisku. Ostrost břitů má bezprostřední vliv na citlivost vah, limituje mez važitelnosti a reprodukovatelnost vážení, proto se břity chrání aretací. Aretace je oddálení břitů od svého ložiska (achátové destičky) mechanickým nadzvednutím vahadla a závěsů misek po dobu, kdy se neváží. Aretace se ovládá knoflíkem uprostřed báze vah. Váhy jsou chráněny před prachem a vzdušným prouděním během vážení prosklenou, uzavíratelnou skříňkou. Ve středu vahadla pod středním břitem je upevněn jehlový ukazatel. Na jeho spodním konci je umístěna značka, která se optickým zařízením promítá na osvětlenou stupnici (+ 100 dílků nalevo a - 100 dílků napravo od středové nulové polohy). Stupnicí lze pohybovat otáčením knoflíku napravo od stupnice. Číslice na stupnici odpovídají miligramům, jednotlivé dílky desetinám miligramu.

Poloautomatické váhy mají na závěsu pravého ramene vahadla zařízení, které umožňuje zavěšovat kroužková zlomková závaží (10 - 990 mg). Zařízení se ovládá knoflíkem (10 - 90 mg) a mezikružím (100 - 900 mg) v pravém horním rohu skříňky. Na pravou misku vah se kladou jen gramová závaží (pomocí pinzety s umělohmotnými nebo mosaznými špičkami). Závaží jsou mosazná, pochromovaná a jsou umístěna v příslušné sádce podle schématu: 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 50 a 100 g. Na levou misku se klade vážený předmět. Vzduchové tlumiče pod závěsy misek umožňují rychlé, aperiodické ustálení rovnovážné výchylky.

### *Technické váhy*

Technické jednomiskové váhy slouží k rychlému odvažování činidel nebo k rychlému určení hmotnosti s přesností na 0,1 g. S výhodou se používají jako tzv. předvážky pro urychlení jinak zdlouhavého vyvažování na analytických vahách. Na osvětlené stupnici odečítáme celé gramy (udané číslici) a desetiny gramů (jednotlivé dílky). Před vlastním vážením zkontrolujeme nulovou polohu stupnice a případně ji korigujeme knoflíkem vpravo od stupnice. Osvětlení stupnice se zapíná knoflíkem na levé straně vah otáčením dozadu (transformátor pro napájení žárovky osvětlení musí být připojen na síťové napětí). Osvětlení stupnice zapínáme jen po dobu vážení!



## Postup při vážení

Na předvážkách nejprve určíme hmotnost váženého předmětu (váženky, kelímku ap.) s přesností na desetiny gramu a hmotnost si poznamenáme. Vybereme si analytické váhy a na těchto vahách provádíme **obojí vážení**: většina vážení má totiž diferenční charakter - napřed zvážíme nádobku a potom nádobku s látkou; hmotnost vážené látky určíme jako rozdíl obou vážení. Použijeme-li v obou případech stejné váhy a stejná závaží, kompenzují se do značné míry chyby, způsobené nepřesností závaží. U každých analytických vah je kartička, do které zapíšeme požadované údaje: datum, studijní obor a jméno. Překontrolujeme, jsou-li váhy připojeny na síť, dále jsou-li misky vah prázdné a je-li knoflík zařízení pro navěšování zlomkových závaží (kroužků) v nulové poloze. Provedeme odaretování vah **opatrným** otáčením knoflíku doleva, při tom se rozsvítí stupnice a sledujeme čárkovou značku na stupnici. Značka nesmí **nikdy** opustit stupnici, jinak hrozí poškození vah! Vyčkáme ustálení polohy značky (v blízkosti středu stupnice) a knoflíkem vpravo posuneme stupnici tak, aby se střed stupnice (nulová poloha) přesně kryl se značkou. Nepodaří-li se nám takto nastavit nulovou polohu, informujeme instruktora. Váhy opět **opatrně** zaaretujeme, otevřeme levá dvířka, na levou misku položíme vážený předmět a dvířka opět zavřeme. Po otevření pravých dvířek dáme na pravou misku pomoci pinzety příslušná gramová závaží podle hmotnosti, zjištěné na předvážkách, a dvířka zavřeme. Navěsíme ještě odpovídající zlomková závaží **pomalým** otáčením vnějšího knoflíku (mezikruží). Váhy zvolna odaretujeme, ale **ne úplně!** Pozorně sledujeme pohyb značky, která nesmí opustit stupnici. Nachází-li se značka v levé části stupnice, váhy zaaretujeme a otáčením vnitřního knoflíku přidáváme setiny gramu, až se značka ustálí uvnitř stupnice. V opačném případě musíme nejprve ubrat desetiny gramu a dále postupovat stejným způsobem. Teprve zůstává-li značka uvnitř stupnice, můžeme váhy **plně** odaretovat. Po ustálení polohy značky odečítáme hmotnost: celé gramy udávají závaží na misce, desetiny a setiny gramu odečteme z polohy příslušných knoflíků zařízení pro navěšování zlomkových závaží. K tomuto číslu připočteme miligramy a desetiny miligramů, odečtené ze stupnice, a to se znaménkem +, je-li značka v levé části stupnice, nebo se znaménkem -, je-li značka napravo od nuly. V tomto případě je výhodnější přesunout značku do levé části stupnice pootočením vnitřního knoflíku o jednu hodnotu zpět. Po odečtení hmotnosti (a zapsání do pracovního deníku) váhy zaaretujeme, odstraníme vážený předmět i závaží a oba knoflíky kroužkových závaží **pomalou** otočíme do nulové polohy. Než opustíme váhy, přesvědčíme se kontrolou nulové polohy, že všechna závaží byla odstraněna a na misku nebylo nic usypáno.

Navazování látek provádíme zpravidla na předvážkách. Ve většině případů nemusíme mít odváženo přesně spočítané nebo zadané množství chemikálie či vzorku – přesně známou hmotnost dokážeme přepočítat na koncentraci apod. (zpravidla v návodech uvádíme, že „odvážíme přesně asi X g látky“ – tzn., nemusí být přesně spočítané množství, ale musíme vědět přesně, kolik je odváženo). Do přesně zvážené nádoby (na analytických vahách) přidáváme na předvážkách pomocí lopatky vypočítané množství látky s přesností na 0,1 g a na analytických vahách zjistíme přesnou hmotnost. Pouze v případě, že musíme navázat přesně určité množství látky, musíme použít časově velmi náročný postup navazování přímo na analytických vahách.

Při vysypání navazované látky na misku vah musíme ji ihned po skončení vážení vymést pomocí vlasového štětečku napřed z misky (misku přitom opatrně přidržujeme) a potom ze skříňky. A opět zkontrolujeme nulovou polohu.

## Desatero pravidel pro vážení:

1. Analytické váhy používáme **pouze pro přesná vážení** (s přesností na 0,1 mg). Maximální zatížení analytických vah je 200g. V ostatních případech používáme technických vah (předvážek).
2. S výjimkou okamžiku vlastního vážení (odečítání polohy značky na světelné stupnici) musí být váhy **stále zaaretovány**.
3. Aretačním knoflíkem a knoflíkem i mezikružím pro zavěšování zlomkových závaží otáčíme **pomalou a s citem**. Prudší pohyb může způsobit poškození vah (vyhození vahadla a závěsů misek z aretačního zařízení a poškození břitů resp. shoení či "vystřelení" kroužkových závaží ze zavěšovacího mechanismu).
4. Dvířka vah otevíráme **pouze při vkládání** váženého předmětu (závaží) na misky a při jejich odstraňování.
5. Vážené předměty musí mít **teplotu místnosti**. Horké předměty necháme vychladnout v exsikátoru.
6. Závaží ani vážené předměty **nebereme do ruky**. Závaží přenášíme **výhradně pinzetou**, kelímky pomocí kleští. Váženky lze výjimečně uchopit špičkami prstů za jazýček po dobu nezbytně nutnou.
7. Při diferenčním vážení používáme zásadně **stejně váhy a stejná závaží**.
8. Odvažované látky se **nikdy nedávají přímo na misky**, ale použijí se vhodné nádoby (váženky, lodičky, hodinové sklíčko, kádinka ap.). Misky vah musí být stále čisté (hrozí koroze), usypané látky se ihned po vážení odstraní štětečkem z misky i ze skříňky.
9. Veškeré **závady se ihned nahlásí** instruktorovi.
10. Ve váhově **udržujeme čistotu a pořádek**. Jakékoliv otrěsy nebo nárazy poškozují váhy a ruší při vážení. Do váhově se nesmějí přinášet žádné roztoky a těkavé látky.

## Odměrné nádoby, odměřování objemů

Základní operací v odměrné analýze je odměřování objemů, což je obdoba určování hmotnosti ve vážkové analýze. K odměřování objemů používáme v analytické chemii kalibrovaného nádobí. Pro přípravu roztoků o přesné koncentraci používáme *odměrné baňky*, pro přesné odměřování objemů *pipety* a konečně pro přesné měření spotřeby odměrných roztoků při titraci *byrety*. K méně přesnému nebo přibližnému odměřování objemů slouží *odměrné válce* (roztoky pomocných činidel, jako jsou kyseliny či pufrы k úpravě prostředí pro titraci, není nutno přesně odměřovat pipetováním!). Odměrné nádoby je kalibrováno podle způsobu měření buď na *dolítí*, t.j. po doplnění odměrné nádoby (odměrná baňka) po značku je uvnitř nádoby vyznačený objem, nebo na *vylití*, t.j. vyteklý objem odpovídá přesně vyznačenému objemu. Přitom ulpí vlivem smáčivosti na stěnách nádoby (pipety, byrety) určité množství kapaliny ve formě tenkého filmu a též ve výtokové špičce (pipety) zbude malé množství kapaliny a obě tato množství *nepatří* k odměřenému objemu. Kalibrace na dolití je vyznačena zkratkou "In", kalibrace na vylití zkratkou "Ex". Spolu s tímto označením je na nádobí uvedena teplota odměřovaného roztoku, pro kterou platí tato kalibrace, u novějšího skla zpravidla 20°C. Nádoby kalibrované na dolití nelze použít k odměření objemu vylitím (na stěnách nádoby zůstane nedefinované množství kapaliny, které sníží odměřený objem) a naopak. Pro odměrné nádoby obecně platí, že se *nesmí zahřívát ani vysoušet v sušárnách!* Zásadně nedržíme odměrné nádoby rukou v místech, kde se nachází odměřovaný roztok, protože se teplem ruky roztok zahřívá a mění objem. Odměrné nádoby je kalibrováno s přesností, která odpovídá výrobní normě a třídě přesnosti a zpravidla se pohybuje v řádu desetin procenta deklarovaného objemu. V praxi to znamená, že pro běžně používané pipety, byrety a odměrné baňky je deklarovaný objem odměřen s přesností několika setin mililitru (viz tabulka níže).

### Odměrné baňky

slouží k přípravě roztoků určité přesné koncentrace (nejčastěji odměrných a standardních roztoků). Jsou to baňky hruškovitého tvaru s dlouhým úzkým hrdlem. Na hrdle je vyryta po celém obvodu jediná ryska, která vyznačuje, kam až je nutno baňku doplnit, aby obsahovala jmenovitý objem. Tuhé látky se zásadně nerozpouštějí přímo v baňce (nesmí se zahřívát!), nýbrž vždy předem v kádince. Přesnou navážku tuhé látky spláchneme do kádinky, přidáme rozpouštědlo (zpravidla destilovanou vodu) v množství zhruba 2/3 konečného objemu, mícháme tyčinkou a případně zahříváme. Dokonale rozpuštěnou látku převedeme *kvantitativně* pomocí nálevky do čisté a opláchnuté odměrné baňky, přičemž roztok přeléváme po tyčince, která se dotýká vnitřní stěny nálevky. Kádinku vypláchneme pomocí stříčky třikrát (celá vnitřní stěna kádinky musí být opláchnuta), do odměrné baňky opláchneme i tyčinku a nálevku zevnitř a její stonek po povytažení z hrdla baňky i zvnějšíku. Koncentrovanější roztoky je nutno během této operace několikrát promísit krouživými pohyby baňky. Má-li obsah baňky vyšší teplotu než laboratorní, baňku ochladíme pod tekoucí vodou na okolní teplotu (baňku přitom držíme prsty za hrdlo *nad ryskou*). Teprve potom můžeme baňku doplnit stříčkou několik milimetrů pod značku. Pro přesné doplnění po značku postavíme baňku na stůl a destilovanou vodu přidáváme po kapkách z menší pipety, až se spodní okraj menisku právě kryje s ryskou. Nakonec baňku zadržujeme a roztok dokonale promícháme několikanásobným obrácením baňky. Někdy zůstane část kapaliny u zátky, a proto již hladina kapaliny v baňce nedosahuje rysky – v tomto případě ale nikdy hladinu již po rysku dodatečně nedoplňujeme! Před odběrem roztoku po delším stání, kdy v hrdle kondenzuje voda a roztok proto mění koncentraci, je nutné provést promíchání.

### Pipety

používáme k přesnému odměřování alikvotních (t.j. úměrných) podílů roztoku vzorku nebo odměrných činidel. Jsou to skleněné trubice, většinou s válcovitě rozšířenou střední částí, opatřené buď jedinou ryskou (tzv. nedělené pipety), nebo více ryskami pro odměření jednotlivých dílčích objemů (tzv. dělené pipety). Pipety jsou kalibrovány na vylití.

Pipety musí být před použitím řádně vyčištěny, odmaštěny a vysušeny. Před pipetováním roztoku pipetu nejprve vypláchneme daným roztokem nejlépe tím způsobem, že jej nasajeme přibližně do poloviny jejího objemu, horní konec rychle uzavřeme ukazovákem, pipetu dáme do vodorovné polohy a otáčením kolem její osy opláchneme celý vnitřní povrch až kousek za značku. Nakonec roztok vypustíme do odpadu. Vypláchnutí pipety je nutné, obzvláště pokud není suchá, jinak si pipetovaný roztok zředíme! Pipetu držíme mezi palcem a prostředníkem v místech nad ryskou. Zdravotně nezávadné roztoky můžeme nasávat ústy, jinak použijeme pístovou násadku na pipety či balónek (pouze však k nasátí kapaliny - při nastavení hladiny po rysku a vypouštění z pipety odstraníme!). Při nasávání dbáme na to, aby špička pipety byla dostatečně hluboko ponořena v roztoku, chceme-li zabránit nežádoucímu prudkému vniknutí roztoku do úst. Odměřovaný roztok zvolna nasajeme asi 2-3 cm nad rysku a pipetu rychle uzavřeme *ukazováčkem (ne palcem!)*. Ukazováčkem nejcitlivěji

regulujeme pomalé odpouštění roztoku k rysce. Nedaří-li se nám pipetu dobře utěsnit, je nutno špičku ukazováčkem nepatrně navlhčit (naopak příliš vlhká pokožka brání jemné regulaci). Špičku pipety vyjmeme z roztoku a opřeme ji o vnitřní stěnu hrdla odměrné baňky (nebo jiné nádoby, ze které pipetujeme). Při odměřování musí být pipeta **vždy ve svislé poloze a značka ve výši oka**. Jemným uvolněním prstu odpouštíme přebytečný roztok, až se dolní okraj menisku přesně kryje s ryskou. Vyjmeme pipetu z hrdla baňky, dáme ji do vodorovné polohy (tím zrušíme hydrostatický tlak odměřované kapaliny, která se posune ze špičky pipety a nemůže z ní ukápnout) a zvenku osušíme kouskem filtračního papíru. Roztok z pipety vypouštíme tak, že se špička svisle postavené pipety dotýká vnitřní stěny nádoby a roztok necháme volně odtékat po stěně nádoby. Potom je nutno **vyčkat ještě 15 sekund** (jak předepisuje norma). Po tuto dobu se ztenčuje vrstva roztoku na stěnách pipety (pozorujeme zvyšování menisku ve špičce pipety) až na trvale ulpívající film. Špičku pipety **otřeme o stěnu nádoby** (nebo se dotkneme hladiny odpipetované kapaliny), až se meniskus ve špičce pipety dále nesnižuje. Tento stav - pevně ulpívající film a zbytek roztoku ve špičce pipety - musí být zachován, abychom přesně odpipetovali jmenovitý objem. **Vyfukování roztoku z pipety je hrubou chybou!** Pipety s poškozenou špičkou jsou znehodnocené a nelze je pro přesnou práci používat. Po skončení práce se pipeta několikrát vypláchne destilovanou vodou výše popsaným způsobem.

## Dělené pipety

mají kalibrační stupnici s počátkem buď v horní, nebo dolní poloze. Pipety s počátkem (nulou) v horní poloze jsou v současné době vyráběny téměř výhradně. V prvním případě odměříme požadovaný objem tak, že meniskus nastavíme na počátek stupnice a roztok odpouštíme, až je meniskus několik milimetrů nad zvolenou značkou, vyčkáme podle normy 7 sekund a teprve potom necháme meniskus klesnout na zvolenou rysku. V druhém případě nastavíme meniskus na zvolenou rysku a dále postupujeme jako u nedělené pipety (obsah pipety vypustíme). Čekací doba je ovšem i zde 7 sekund. Pro odměření objemu celé pipety (např. 5 ml u dělené pipety na 5 ml) je však vhodnější dát přednost pipetě nedělené.

## Byrety

jsou skleněné trubice o stejnoměrném průměru, opatřené stupnicí a v dolní části výpustním kohoutem buď zábrusovým, teflonovým nebo kuličkovým ventilem. Byreta s kuličkovým ventilem je určena pro práci s alkalickými roztoky, které by mohly způsobit „zapečení“ skleněného zábrusového kohoutu (trvalé slepení zabroušených ploch skleněného kohoutu vodním sklem, které vznikne působením alkálií na porušený povrch skla). Kuličkový ventil se otvírá stiskem hadičky v místě kuličky, čímž se vytvoří mezi kuličkou a pryžovou hadičkou kanálky, kterými může roztok z byrety vytékat. Byrety s teflonovým ventilem je možné používat jak pro kyselé, tak alkalické roztoky. Byrety jsou kalibrovány na vylití. Nejčastěji používáme byrety na 50 ml s dělením na 0,1 ml. Při odečítání objemu se snažíme odhadovat druhé desetinné místo (setiny mililitru) z polohy menisku mezi dvěma sousedními ryskami. Na byretě odečtený objem uvádíme **zásadně na dvě desetinná místa**. U byret na 10 ml odečítáme objem na 0,01 ml. Byrety se uchovávají naplněné odmašťovacími roztoky saponátu. Před použitím se tento roztok vyleje do výlevky, byreta se dvakrát propláchne destilovanou vodou (naplní se asi do poloviny vodou a podobně jako pipeta se ve vodorovné poloze otáčivým pohybem opláchne celá vnitřní stěna, část vody se propustí přes kohout, aby se i ten propláchl, a zbytek se vylije). Stejným způsobem se byreta vypláchne i odměrným roztokem. Takto připravenou byretu upevníme do stojanu v takové výšce, aby špička byrety zasahovala asi 1 cm do hrdla titrační baňky. Byretu plníme odměrným roztokem pomocí malé nálevky, kterou též napřed propláchneme stejným roztokem. Odměrný roztok odebíráme ze zásobních lahví do vyhrazené kádinky a z této plníme byretu. Přitom dbáme na to, aby v byretě (obzvláště mezi kohoutem a špičkou) nezůstaly uzavřeny vzduchové bubliny. Byretu plníme několik milimetrů nad počátek stupnice a **ihned odstraníme nálevku!** Meniskus nastavíme na počátek stupnice až těsně před vlastní titrací, přičemž odpustíme do podstavné kádinky přebytečné množství odměrného roztoku (**tento se dále již nepoužije ani nevrací do zásobní lahve!**). Nikdy nezapomeneme při tom otřít kapku na špičce byrety o vnitřní stěnu nádoby (v tomto případě podstavné kádinky).

Vlastní titraci provádíme tak, že titrační baňku s titrovaným roztokem, indikátorem a příp. dalšími látkami (viz příslušný pracovní návod) držíme pravou (šikovněji) rukou za hrdlo a rovnoměrným krouživým pohybem mícháme obsah baňky, zatímco druhou rukou ovládáme kohout byrety. Roztok činidla z byrety přidáváme zpočátku rychleji (obzvláště známe-li přibližnou polohu ekvivalenčního bodu), roztok však nesmí vystříkavat z baňky. Při tom stále mícháme krouživým pohybem baňky. V místě přítoku odměrného roztoku se titrovaný roztok barví na konečné zbarvení (lokální přetitrování), mícháním se však toto zbarvení ztrácí. Blízkost ekvivalenčního bodu se prozradí tím, že toto odbarvování (přesněji změna zbarvení indikátoru za ekvivalenci na původní zbarvení před ekvivalencí) se děje stále méně ochotně. V závěru titrace přidáváme činidlo po kapkách (za stálého míchání). V okamžiku, kdy předpokládáme, že jsme se poslední přidanou kapkou již co nejtěsněji přiblížili bodu ekvivalence, dotkneme se vnitřní stěnou hrdla titrační baňky špičkou byrety a stěny baňky

opláchneme vodou ze stříčky. Přidáme další kapku odměrného roztoku a takto postupujeme do dosažení předepsaného zbarvení indikátoru. Nakonec vyčkáme po čekací dobu (u byret činí **30 sekund**) a odečteme spotřebu. O tom, že jsme skutečně dosáhli předepsaného zbarvení indikátoru (viz pracovní návod) se přesvědčíme přidáním další kapky odměrného činidla. Každou titraci opakujeme nejméně třikrát tak, aby se spotřeby odměrného roztoku u těchto tří titrací nelišily více jak o **0,1 ml**. Z jednotlivých spotřeb vypočítáme průměrnou hodnotu, kterou použijeme pro další výpočty. Časově náročnou první titraci (neznáme-li ani přibližnou spotřebu) můžeme nahradit orientační titrací s rychlým dávkováním odměrného roztoku do konečného zbarvení, která nám určí přibližnou polohu ekvivalenčního bodu. V dalších titracích můžeme přidat rychle až 90% objemu, zjištěného orientační titrací, čímž se titrace podstatně zrychlí.

Baňka se správně ztitrovaným roztokem se může použít jako barevný vzor pro další titrace. Barevné změny jsou lépe pozorovatelné na bílém pozadí, proto jsou stojany pro byrety opatřeny základní deskou s bílým povrchem. Po skončení práce se roztok z byrety vylíje, byreta se vypláchne vodou a naplní roztokem saponátu **až nad stupnici. Nespotřebovaný odměrný roztok z byrety nikdy nevracíme zpět do zásobní láhve!**

### Způsob odečítání objemu

Kapaliny, smáčejíci povrch skla (např. vodné roztoky), vytvářejí meniskus, jehož spodní okraj se při odměřování objemů musí krýt s kalibrační ryskou odměrného nádobí (u neprůhledných roztoků je nutno použít horní okraj menisku, pipety a odměrné baňky je však nutno na tento způsob čtení překalibrovat). Při pozorování menisku je nutno snížit chybu, způsobenou paralaxou, na minimum (paralaxa obecně vzniká při odečítání výchylky analogového měřicího přístroje, není-li rovina pohybu ukazatele přístroje shodná s rovinou stupnice a odečítáme-li výchylku ukazatele pod různým úhlem). Spojnice oka a rysky na odměrném nádobí musí svírat s podélnou osou pipety, byrety nebo hrdla odměrné baňky vždy úhel 90°. Podélná osa proto musí být při odečítání ve svislé poloze a směr pozorování vodorovný. Při správném odečítání se celoobvodová ryska musí jevit jako úsečka. Spodní okraj menisku vidíme zřetelněji, podržíme-li za ním list bílého papíru šikmo asi pod úhlem 45°. Některé byrety nebo dělené pipety jsou při výrobě opatřeny Schellbachovým pruhem (natavený pruh bílého mléčného skla s úzkým, většinou modrým proužkem). V místě menisku se modrý proužek jeví vlivem lomu světla jako shora i zdola ostře zahrocený. V doteku obou hrotů se odečítá objem na stupnici. Schellbachův pruh ale neodstraňuje vliv paralaxy při odečítání, pouze dovoluje přesnější určení polohy menisku!

## Úloha č. 2 - Kalibrace pipety

Ve cvičení nejprve sledujte výklad a praktické ukázky správné techniky práce s odměrným nádobím (odečítání objemu, pipetování, doplnění odměrné baňky, odměřování objemu byretou, kvantitativní převádění, titrace). Vaším úkolem bude kalibrace nedělené skleněné pipety (10 ml), spočívající ve zvážení odpipetovaného množství destilované vody o známé teplotě (a hustotě) a přepočtení hmotnosti na objem. Vodu budete pipetovat do suché očíslované nádobky, předem zvážené na analytických vahách (při pipetování do plastové nádobky je nutné se dotknout špičkou pipety hladiny kapaliny - nesmáčivý plast neumožní vytečení posledních kapek z pipety!). Po napipetování vody zvažte nádobku na stejných analytických vahách a vypočtete objem vody. Abychom vyloučili vliv náhodné chyby při pipetování (či vážení), proved'te vážení pipetovaného objemu opakovaně (pipetujte do již zvážené nádobky s vodou, alespoň 6x) a vypočtete průměrný pipetovaný objem a absolutní odchylku od deklarovaného objemu. Ovládáte-li základní statistické nástroje k vyhodnocení souboru dat a získáte-li dostatečný počet dat, můžete aplikovat vyloučení odlehlých výsledků, výpočet odhadu směrodatné odchylky výběru dat a přepočet na relativní směrodatnou odchylku.

Do protokolu zpracujte vaše data ve formě přehledné tabulky s uvedením všech získaných experimentálních dat (hmotností, teploty vody atd.), proved'te test odlehlosti výsledků a srovnajte vámi kalibrovaný objem pipety s deklarovaným obsahem (test pravdivosti výsledků) a jeho udanou přesností a výsledek komentujte.

Tabulka hustoty vody (v g.cm<sup>-3</sup>) v závislosti na teplotě:

| $t$  | $\rho_t$  | $t$  | $\rho_t$  | $t$  | $\rho_t$  |
|------|-----------|------|-----------|------|-----------|
| 17,5 | 0,998 685 | 20,0 | 0,998 203 | 22,5 | 0,997 654 |
| 18,0 | 595       | 20,5 | 098       | 23,0 | 537       |
| 15,5 | 500       | 21,0 | 0,997 991 | 23,5 | 417       |
| 19,0 | 403       | 21,5 | 881       | 24,0 | 295       |
| 19,5 | 304       | 22,0 | 769       | 24,5 | 170       |

Dovolené odchylky objemu komerčních odměrných nádob - příklady

| <i>Objem / ml</i>  | <b>ČSN 70 4106, třída A</b> | <b>ČSN 70 4106, třída B</b> |
|--|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>Odměrné baňky, kalibrace na dolítí "IN" pro teplotu 20°C</b>                    |                             |                             |
| <b>25</b>  | 0,015                       | 0,030                       |
| <b>100</b>   | 0,05                        | 0,10                        |
| <b>500</b>   | 0,14                        | 0,28                        |
| <b>Byrety, kalibrace na vylití "EX" pro teplotu 20°C, čekací doba 30s</b>          |                             |                             |
| <b>10, dělení 0,05</b>   | 0,03                        | 0,05                        |
| <b>25, dělení 0,1</b>  | 0,05                        | 0,10                        |
| <b>50, dělení 0,1</b>  | 0,08                        | 0,10                        |
| <b>Dělené pipety, kalibrace na vylití "EX" pro teplotu 20°C, čekací doba 7s</b>    |                             |                             |
| <b>2, dělení 0,02</b>  | 0,01                        | 0,02                        |
| <b>5, dělení 0,05</b>  | 0,02                        | 0,04                        |
| <b>10, dělení 0,10</b>   | 0,03                        | 0,06                        |
| <b>Nedělené pipety, kalibrace na vylití "EX" pro teplotu 20°C, čekací doba 15s</b> |                             |                             |
| <b>5</b>   | 0,010                       | 0,020                       |
| <b>10</b>  | 0,015                       | 0,030                       |
| <b>25</b>  | 0,025                       | 0,050                       |

Návrh tabulky pro vypracování protokolu

| č. měření           | nádobka | s vodou | voda | teplota | hustota            | voda | deklarováno |
|---------------------|---------|---------|------|---------|--------------------|------|-------------|
|                     | g       | g       | g    | °C      | g.cm <sup>-3</sup> | ml   | ml          |
| 1                   |         |         |      |         |                    |      | ---         |
| 2                   |         |         |      |         |                    |      | ---         |
| 3                   |         |         |      |         |                    |      | ---         |
| ...                 |         |         |      |         |                    |      | ---         |
| ...                 |         |         |      |         |                    |      | ---         |
| Průměr              | ---     | ---     | ---  | ---     | ---                |      |             |
| Sm. odch.           | ---     | ---     | ---  | ---     | ---                |      |             |
| Rel. sm. odch.<br>% | ---     | ---     | ---  | ---     | ---                |      |             |

# Vázková analýza

(Gravimetrie)

## Princip:

Zkoumaná látka (analyt) se vyloučí ve formě málo rozpustné sloučeniny (vylučovací forma) a tato se převede žiháním nebo sušením na sloučeninu přesně definovaného složení, jejíž hmotnost se určí vážením (forma k vážení). Ze stechiometrického poměru hledané a vážené formy se vypočte obsah stanovované látky. Gravimetrické metody jsou zdoluhavé a náročné na praktickou zručnost. Jsou to však metody absolutní a používají se proto pro kontrolu a standardizaci ostatních analytických metod.

## Srážení

Účelem srážení je oddělit stanovovanou látku (analyt) z roztoku více složek **kvantitativně**, v čisté a dobře filtrovatelné formě. Při srážení se musí vytvořit nejprve zárodečná centra tuhé fáze (nukleace). Z nich se v průběhu dalšího srážení vytváří krystalická nebo amorfní sraženina, v závislosti na chemických vlastnostech dané látky a podmínkách srážení. Pro gravimetrické stanovení jsou vhodnější sraženiny krystalické, protože jsou čistší, lépe se filtrují a promývají. Amorfní sraženiny mají větší povrch částic, vykazují proto větší adsorpci nečistot a navíc mají tendenci vytvářet koloidní roztoky. Znečištění sraženiny způsobuje i okluze (mechanické stržení nečistot do rostoucích částíček sraženiny) a inkluze (uzavření matečního roztoku do rostoucích částíček sraženiny) při příliš rychlém srážení. Někdy je nutno znečištěnou sraženinu čistit přesrážením (sraženinu rozpustíme a znovu vysrážíme tentokrát z podstatně čistějšího roztoku). Dobře filtrovatelné sraženiny dosáhneme zpravidla při srážení za vyšší teploty a tím, že srážedlo přidáváme v okamžiku tvorby zárodečných center **velmi pomalu a za neustálého míchání**.

Roztok stanovované látky upravujeme podle návodu (ředíme, upravíme iontovou sílu či pH, zahřejeme ap.) zpravidla v kádince, jejíž velikost volíme tak, aby na konci všech operací byla naplněna max. do 2/3 objemu. Zahřívání provádíme plynovým kahanem na azbestové síťce, přitom je **kádinka přikryta hodinovým sklíčkem** a ve výlevce kádinky je šikmo zasunuta **skleněná tyčinka**, která brání vzniku utajeného varu. Po dosažení požadované teploty odstavíme kahan, sejmeme hodinové sklíčko (prsty si chráníme před popálením dvěma kousky podélně rozříznuté pryžové hadice) a **opláchneme ho do kádinky**. **Skleněnou tyčinku ponecháme v kádince až do ukončení celé operace** (do vyprázdnění a vypláchnutí kádinky). Roztok srážedla (musí být čirý, filtrovaný) přidáváme obvykle z pipety zpočátku **po kapkách za účinného míchání** skleněnou tyčinkou. Přitom se tyčinka nesmí otírat o stěny kádinky (**žádné "zvonění"**), protože v místě otěru vznikají přednostně zárodečná centra, na kterých vzniká sraženina, pevně ulpívající na stěnách kádinky. Srážíme do malého přebytku srážedla. O úplnosti srážení se přesvědčíme, když do vyčeřeného roztoku nad sraženinou přidáme několik kapek srážecího roztoku: roztok se nesmí ani slabě zakalit. Při správném postupu se sraženina poměrně rychle "sbalí", sedne ke dnu a zanechá nad sebou zcela čirý roztok. Některé typy sraženin je nutno nechat "zrát" (stáním překrystalizují na větší, lépe filtrovatelné krystalky), jiné se filtrují ihned za horka.

## Filtry, filtrační kelímky, filtrace

Oddělení sraženiny od matečního roztoku provádíme filtrací papírovým filtrem, skleněným nebo porcelánovým kelímkem.

### *Papírový filtr*

Kvantitativní filtrační papíry se vyrábějí v kruhovém tvaru různé velikosti a různé porózy z papíru s nízkým obsahem popela po spálení. Pro filtraci amorfních vločkovitých sraženin [např.  $\text{Fe}(\text{OH})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ] se používají řídké filtry, označené černou páskou nebo červeným tiskem na krabičce. Pro nejjemnější sraženiny (např.  $\text{BaSO}_4$ ) se používá hustý filtr, značený modrou páskou nebo dodávaný v modré krabičce. Středně husté filtry jsou ve žluté krabičce (bílá páska). Potřebný druh filtru je uveden u jednotlivých postupů gravimetrického stanovení. Kotouček filtračního papíru se nejprve přeloží na půlku, odtrhne se jeden růžek a znovu se přeloží na čtvrtku. Takto složený filtr se rozevře v kužel tak, že odtržený růžek se nachází vně kužele. Skleněnou filtrační nálevku držíme v levé ruce ve svislé poloze, přičemž ukazovákem uzavřeme konec stonku, naplníme ji asi do poloviny kužele destilovanou vodou a opatrně vsuneme rozevřený papírový kužel po stěně nálevky do její špičky. Papírový kužel přitom držíme vždy za trojitou vrstvu. Dbáme na to, aby pod filtrem nezůstaly vzduchové bubliny. Horní okraj filtru přitlačíme po celém obvodu k nálevce, aby dobře přilnul a byl vzduchotěsný.

Po uvolnění konce stonku voda z filtru odteče. U dobře vloženého filtru však zůstane pod filtrem a ve stonku **souvislý sloupec kapaliny**, který umožňuje svým hydrostatickým tlakem rychlejší filtraci. Odtržený rožek filtru zamezí vzniku vzduchového kanálku na rozhraní trojitě a jednoduché vrstvy papíru, který by způsobil odtečení sloupce kapaliny ze stonku. Papírový filtr musí být aspoň 5 mm pod okrajem nálevky. Připravený filtr upevníme pomocí kruhu s dřevěnou vložkou na stojan a pod filtr umístíme větší čistou kádinku pro zachycení matečního roztoku. Stonek nálevky se musí dotýkat špičkou vnitřní stěny kádinky v její horní třetině.

## **Filtrační kelímky**

Skleněné a porcelánové filtrační kelímky jsou kelímky s pórovitým dnem různé hustoty. Nejčastěji používané skleněné kelímky jsou označeny S3 (velikost pórů 30  $\mu\text{m}$ ) a S4 (8  $\mu\text{m}$ ). Používají se při gravimetrických stanoveních, při kterých se sraženiny před vážením pouze suší při teplotách 100 - 130°C. Porcelánové filtrační kelímky lze po vysušení i žíhat v ochranné místičce. Filtrace kelímky se provádí za sníženého tlaku (odsávání) a je proto rychlejší než filtrace papírovým filtrem. Kelímek se upevní pomocí pryžového těsnění do válcovité nálevky (tulipánu), která je spojena s odsávací lahví pomocí pryžové zátky. Odsávací láhev se připojí pomocí pryžové hadice k vodní vývěvě.

## **Filtrace**

Filtraci *filtračním papírem* provádíme následovně: Sejmeme z kádinky hodinové sklíčko, opláchneme ho do kádinky destilovanou vodou ze stříčky, tyčinku (která byla dosud stále v kádince) držíme šikmo nad filtrem a její konec přiblížíme k trojitě vrstvě papírového filtru. **Mateční louh** z kádinky opatrně sléváme po tyčince na filtr. Dbáme na to, aby se **sraženina nezvířila**, roztok nevystříkl z filtru a abychom tyčinkou neprotrhli filtrační papír. Filtr nenaplňujeme **nikdy výše než 5 mm** pod horní okraj papíru. Čirý mateční louh se filtruje velmi rychle.

Když jsme takto slili mateční louh, **promyjeme sraženinu v kádince dekantací**, tj. na sraženinu v kádince nalijeme předepsané množství promývacího roztoku (viz příslušný pracovní návod), sraženinu necháme usadit a opět filtrujeme pouze roztok nad sraženinou. Dekantace se provádí obvykle třikrát. Při poslední dekantaci se zvířená sraženina s promývacím roztokem převede po tyčince na filtr (po naplnění filtru sraženinou probíhá filtrace podstatně pomaleji). Tyčinka a stěny kádinky se opláchnou promývacím roztokem a znovu se roztok se zbytky sraženiny převede na filtr.

Na tyčince a na stěnách kádinky ulpělé zbytky sraženiny rozpustíme přidávkem minimálního množství vhodného činidla (podle pracovního návodu), přičemž pomocí tyčinky smočíme celý vnitřní povrch kádinky a všechny ulpělé zbytky sraženiny kvantitativně rozpustíme. Vzniklý roztok zředíme, provedeme opět sražení a zbytek sraženiny zfiltrujeme přes filtr s hlavním podílem sraženiny. Je-li sraženina v běžných činidlech nerozpustná (např.  $\text{BaSO}_4$ ), kádinku i tyčinku vytřeme kousky filtračního papíru, které spálíme spolu s filtrem s hlavním podílem sraženiny. Sraženinu na filtru nakonec ještě zbavíme posledních zbytků matečního louhu promýváním promývacím roztokem (vyžaduje-li to návod).

## **Sušení, spalování, žíhání**

Promyté, vlhké sraženiny je pro účely vázkové analýzy nutné převést na látky o konstantním a přesně definovaném složení, tj. na vážitelnou formu. Děje se tak žíháním nebo sušením sraženin. *Papírový filtr* se sraženinou se spaluje a sraženina se následně žíhá v glazovaných porcelánových kelímcích. Kelímek se před použitím musí vyčistit a **vyžít do konstantní hmotnosti**. Taktéž skleněný filtrační kelímek musí být vyčištěný a vysušený do konstantní hmotnosti. Zásadně musí být dodrženo pravidlo, že prázdné kelímky musí být žíhány resp. sušeny **za stejných podmínek**, za jakých budou žíhány resp. sušeny sraženiny.

Papírový filtr povytáhneme z nálevky za volný, min. 5 mm široký okraj na straně trojitě vrstvy (nejlépe nehtem palce), necháme odtéct roztok ze stonku a odkapat poslední kapky z filtru. Potom opatrně složíme filtr na čtvrtku (jednoduchou vrstvou papíru směrem k sobě), přehneme oba rožky a nakonec ještě otevřenou stranu: vznikne pětiúhelník. Tento vložíme do zváženého porcelánového kelímku špičkou napřed a mírně jej přimáčkneme ke dnu kelímku. Kelímek s filtrem usadíme na triangl (trojúhelník z keramických trubíček, spojených drátem), položený na železném kruhu, který je upevněn na stojanu s trojnožkou v takové výši nad plamenem plynového kahanu, aby se filtr zvolna vysoušel (asi 10 cm nad špičkou plynového plamene). Během sušení nesmí dojít k varu (prskání, praskání a vystřikování) zbytku roztoku ve filtru. Sušení lze též provést v sušárně nebo stáním přes noc v kelímku, zakrytém kouskem filtračního papíru.

Po sušení následuje fáze spalování papíru. Kelímek uložíme na trianglu **šikmo a zahříváme mírným plamenem** dno kelímku. Unikající dýmy a páry se **nesmějí vznítit**, při hoření se do plamene strhávají částice sraženiny a vznikají ztráty. Při spalování proto máme v ruce připraveno hodinové sklíčko, kterým kelímek

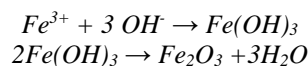
v okamžiku vzplanutí ihned přiklopíme do zahašení plamene. Spalování provádíme zvolna za nízké teploty a za dokonalého přístupu vzduchu (nakloněná poloha kelímku), jinak vzniká obtížně spalitelný grafitový uhlík. Během spalování se kelímek občas pootočí pomocí kelímkových kleští, jejichž **špičky** se v plameni krátce **předehtějí** (rozpálený kelímek by při doteku studenými kleštěmi popraskal). Kleště odkládáme na pracovní stůl **vždy špičkami nahoru**, aby se zabránilo jejich znečištění. Přestanou-li unikat dýmy, uložíme kelímek na trianglu do svislé polohy a začneme kelímek ohřívat na maximálně dosažitelnou teplotu. Přívod vzduchu do plynového kahanu zvětšíme tak, aby se plamen při průvanu ještě nezhášel. Dno kelímku by mělo být asi 2 cm nad modrým studeným kuzelem plamene. Od tohoto okamžiku počítáme dobu žihání, požadovanou návodem. Při žihání dbáme na to, aby se případný černý nálet uhlíku na vnitřních stěnách kelímku beze zbytku spálil. Pootáčíme kelímek kleštěmi (nahrát špičky!), aby se stěny kelímku s vyloučeným uhlíkem ohřívaly v mezerách trianglu.

Po uplynutí předepsané doby žihání odstavíme plamen, vyčkáme, až ustane červený žár kelímku a **nahřátými kleštěmi** vložíme kelímek do exsikátoru. Exsikátor nesmíme uzavřít víkem zcela, ponecháme úzkou mezeru, kterou se může vyrovnat přetlak ohřátého vzduchu s vnějším tlakem. U exsikátorů s kohoutem stačí otevřít kohout. Po cca 1 min. můžeme exsikátor uzavřít úplně. Vychlazení kelímku na teplotu místnosti trvá asi 30min. K vážení se kelímky přenášejí v uzavřeném exsikátoru, který se smí otevřít jen na dobu nezbytně nutnou k vyjmutí kelímku (náplň exsikátoru, sloužící k vysušení prostoru exsikátoru, při jeho dlouhodobém otevření zvlhne a ztrácí účinnost). Při přenášení se exsikátor uchopí oběma rukama za přírubu a palce přidržují víko. Víko se nesmí pokládat na stůl zabroušenou plochou, která je namazána těsnícím tukem.

## Úloha č. 3 - Stanovení železa v pigmentu jako $Fe_2O_3$

### Princip:

Barevný přírodní pigment na bázi oxidů železa je směsí různě hydratovaných oxidů, hydroxidů a případně uhličitánů železitých. Pro stanovení obsahu železa v něm gravimetricky je třeba nejprve vzorek rozpustit v kyselině. Z kyselého roztoku  $Fe^{3+}$  se amoniakem sráží  $Fe(OH)_3$  který se vyžihá na vážitelnou formu  $Fe_2O_3$ . Vaším úkolem je stanovit, kolik procent železa je obsaženo v železitém pigmentu.



$M(Fe) = 55,847 \text{ g.mol}^{-1}$ ,  $M(Fe_2O_3) = 159,692 \text{ g.mol}^{-1}$

### Pracovní postup:

Před vlastní analýzou připravíme porcelánový kelímek. Vybereme si čistý a neporušený kelímek, který je na neglazovaném dně popsán grafitovou tužkou, a jeho označení si zapíšeme. Kelímek umístíme do trianglu a nejprve mírným plamenem vyhřejeme, aby neprasknul. Po dostatečném zahřátí postavíme kahan pod kelímek na plný výkon a žiháme po dobu 1 hodiny. Během této doby provádíme srážení a filtraci. Po žihání odstavíme kahan, kelímek necháme několik minut chladnout a poté jej přeneseme nahřátými kleštěmi do exsikátoru (návod popsán výše).

Na analytických vahách odvážíme přesně asi 0,2 g vzorku železitého pigmentu do suché kádinky objemu 100 ml. Vzorek v kádince rozpustíme v 1 ml koncentrované HCl v digestoři za mírného zahřívání na elektrickém vařiči (kádinku zakryjeme hodinovým sklem). Po rozpuštění spláchneme hodinové sklo a stěny kádinky stříčkou **ještě v digestoři**, převedeme obsah kvantitativně do kádinky objemu 250 ml, zředíme na cca 150 ml destilovanou vodou, přidáme 10 ml 10%  $NH_4NO_3$  a zahříváme téměř k varu. Případnou hydrolyzu soli  $Fe^{3+}$  (projevuje se oranžovým až červenohnědým zbarvením roztoku, přecházejícím na červenohnědou sraženinu) potlačíme přidávkou malého množství 2M HCl. Před vlastním srážením musí být roztok žlutý a čirý.

Při prvních náznacích varu přerušíme zahřívání a srážíme 2M  $NH_3$ . Zpočátku můžeme přidávat větší dávky srážedla až do okamžiku, kdy se roztok začne barvit do oranžova. Dále už přidáváme srážecí roztok jen **po kapkách za intenzivního míchání**, dokud se obsah kádinky zřetelně nezakalí. Tato fáze srážení rozhoduje o kvalitě sraženiny. Další přidávky 2M  $NH_3$  můžeme zrychlit. Srážení ukončíme, je-li amoniak z roztoku zřetelně cítit. Při správném postupu se sraženina  $Fe(OH)_3$  rychle sbalí, tj. usadí se ke dnu ve formě jemných vloček a zanechá nad sebou bezbarvý čirý roztok.



Ještě za horka se čirý roztok filtruje přes řídký filtrační papír (červená krabička), sraženina se 3x dekantuje horkým 1%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  a po převedení na filtr se promývá stejným roztokem. Na stěnách kádinky a tyčinky pevně ulpívající sraženina se kouskem kvantitativního filtračního papíru důkladně setře a tento kousek papíru se přidá k hlavnímu podílu sraženiny na filtru po odkapání posledních kapek promývacího roztoku. Poté filtr se sraženinou složíme, vložíme do vyžíhaného a zváženého kelímku, necháme schnout na vyhrazeném místě do příštího cvičení, kdy jej spálíme a vyžeháme do konstantní hmotnosti (1 hod.). Vážíme červenohnědý až černý  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Z jeho hmotnosti a hmotnosti původního vzorku pigmentu vypočteme hmotnostní zlomek Fe ve vzorku (v %).

# Odměrná analýza

(titrace, volumetrie)

## Princip

Podstatou odměrné analýzy je chemická reakce (acidobazická, redoxní, srážecí nebo komplexotvorná), která proběhne mezi stanovovanou látkou a činidlem **kvantitativně, dostatečně rychle a jednoznačně podle známé stechiometrie**. Činidlo přidáváme ve formě roztoku o **známé látkové koncentraci** postupně po dávkách až do dosažení **ekvivalenčního bodu**, tj. do okamžiku, kdy k hledanému látkovému množství stanovované látky přidáme přesně ekvivalentní množství činidla. Bod ekvivalence musí být přitom zřetelně zjistitelný, např. barevnou změnou indikátoru (vizuální indikace) nebo dosažením určité hodnoty fyzikálně chemické veličiny indikujícího systému (např. absorbance, potenciálu ap.). Z naměřeného objemu roztoku činidla v bodu ekvivalence a jeho koncentrace vypočítáme látkové množství činidla, ze kterého s pomocí známých stechiometrických koeficientů vypočítáme hledané látkové množství stanovované složky.

Roztoky odměrných činidel přesné koncentrace nelze ve většině případů připravit navažováním nebo zředěním z obchodních preparátů, protože tyto výchozí látky nejsou obvykle dostatečně čisté nebo stálé. Proto se z nich připravují roztoky **přibližné** koncentrace, jejichž **přesnou** koncentraci stanovíme titrací na vhodný **primární standard** (tuhé látky stálého a přesně definovaného složení, čistota min. 99,9%, např.  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{PbCl}_2$  aj.). Stanovení přesné koncentrace odměrného roztoku nazýváme **standardizací**. Přitom lze postupovat dvěma způsoby:

- připravíme větší objem roztoku primárního standardu o určité, přesně známé koncentraci, z kterého odebíráme pro titraci vhodné alikvotní podíly (pipetou)
- pro každou titraci zvlášť navažujeme odpovídající množství primárního standardu (pracnější ale přesnější a spolehlivější postup).

Standardizaci provádíme pokud možno za stejných podmínek, za jakých budeme provádět vlastní stanovení (volíme tedy i stejný indikátor), minimalizuje se tím **titrační chyba** (postřehnutí změny zbarvení indikátoru vyžaduje jisté množství odměrného činidla, přidaného navíc ke směsi ztitrované přesně do ekvivalenčního bodu).

Při vlastním stanovení jsme někdy nuceni postupovat tak, že stanovovanou látku přidáváme k nadbytku titračního činidla (např. při pomalé nebo neúplné reakci, při titraci těkavé látky apod.) a přebytek činidla zpětně titrujeme jiným vhodným činidlem. Takovéto titrace se nazývají **zpětné titrace**.

Titraci každého vzorku provádíme **opakovaně**, zpravidla alespoň **3x** tak, aby se zjištěné spotřeby od sebe významně nelišily (rozdíly mezi jednotlivými titracemi v rámci 0,1 ml). Pro výpočty bereme průměrnou hodnotu z těchto (minimálně) tří titrací.

## Úloha č. 4 - Jodometrická titrace - stanovení vitamínu C v ovoci, vitamínovém preparátu

### Princip:

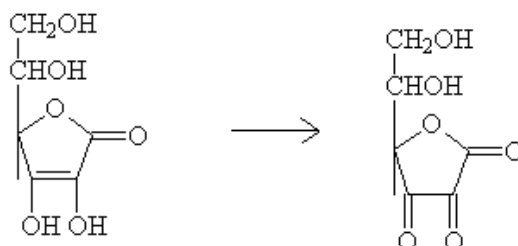
Jodometrické titrace patří mezi titrace oxidimetrické, kdy využíváme redoxních reakcí mezi elementárním jodem (resp. trijodidovým iontem  $\text{I}_3^-$ ) jako oxidovadlem a redukcí látkou (analytem). Elementární jod je ve vodě velmi málo rozpustný, využíváme jeho lepší rozpustnosti v přebytku jodidu, kdy vzniká trijodidový anion  $\text{I}_3^-$ . Jodem můžeme oxidovat například ionty cínaté, arsenitany, sulfidy, siřičitany, thiosíranu a další. Z organických látek lze stanovit například kyselinu askorbovou (vitamín C) nebo formaldehyd. Mezi jodometrická stanovení patří i stanovení oxidovadel (peroxid vodíku, dichroman, bromičnan, chlornan, aj.), založené na oxidaci jodidu na jod a jeho následné titraci roztokem thiosíranu sodného. Většina stanovení probíhá v kyselém prostředí (v alkalickém prostředí elementární jod disproportionuje).

Pro indikaci bodu ekvivalence lze využít vlastního zbarvení trijodidového iontu, který je ve zředěných roztocích žlutě zbarven. Mnohem citlivější je však použití škrobu, který s jodem poskytuje intenzivně modře

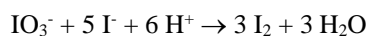
zbarvený komplex. V případě titrací thiosíranem (stanovení oxidovadel) se nejprve titruje roztokem thiosíranu do slabě žlutého zbarvení. Teprve poté se přidá roztok škrobu a dotitruje se do vymizení modrého zbarvení.

Vzhledem k těkavosti jodu nejsou jeho roztoky příliš stálé a je třeba je standardizovat. K tomu lze použít například oxid arsenitý po rozpuštění ve slabě alkalickém roztoku ( $\text{NaHCO}_3$ ). Často se také roztok jodu standardizuje na roztok thiosíranu, standardizovaný na vhodné oxidovadlo (dichroman draselný, bromičnan draselný aj.). Lze také využít reakce jodičnanu s jodidem v kyselém prostředí. Jodičnan draselný je standardní látkou a po přesném navážení lze jeho reakcí s nadbytkem jodidu v kyselém prostředí připravit ekvivalentní množství jodu.

Kyselina askorbová (vitamín C) se oxiduje v kyselém prostředí jodem na kyselinu dehydroaskorbovou:



Titrovat lze roztokem jodu na indikátor škrobový maz. Abychom se vyhnuli nutnosti standardizace odměrného roztoku jodu, využijeme k jeho přípravě standardní látku - jodičnan draselný. Jeho reakcí s jodidem v kyselém prostředí vznikne jod, který reaguje s kyselinou askorbovou. Poněkud netradičně budeme titrovat přímo roztokem jodičnanu a jodid a kyselé prostředí ve vzorku nám zajistí vznik jodu přímo v titrované směsi, kde bude ihned reagovat s kyselinou askorbovou. První nadbytečná kapka jodičnanu způsobí vznik nadbytečného jodu, který poskytne s přítomným škrobem modré zbarvení (modré zbarvení bude pouze v bezbarvém roztoku, pozor na různá další barviva v preparátu).



### ***Příprava odměrného roztoku jodičnanu 0,001 mol.l<sup>-1</sup>***

$$M[\text{KIO}_3] = 214,00 \text{ g.mol}^{-1}$$

Na analytických vahách odvážíme přesně asi 0,50 – 0,55 g jodičnanu draselného, spláchneme kvantitativně do kádinky a rozpustíme ve vodě. Po kvantitativním převedení do odměrné baňky objemu 100 ml doplníme vodou po rysku a promícháme. Z připraveného roztoku pipetujeme 10 ml do odměrné baňky na 250 ml, doplníme vodou po rysku a promícháme. Z navážky, objemu roztoku a ředění vypočteme přesnou koncentraci odměrného roztoku, kterou použijeme při výpočtu obsahu vitamínu C ve vzorcích.

### ***Stanovení vitamínu C ve vitamínovém preparátu***

$$M[\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6] = 176,13 \text{ g.mol}^{-1}$$

Provedení:

Tabletku vitamínového přípravku necháme rozpadnout v menším množství vody a poté převedeme do odměrné baňky a doplníme na 100 ml vodou. Po promíchání necháme hlavní podíl plniv tablety usadit a poté pipetujeme do titrační baňky 10 ml roztoku. Zředíme asi na 50 ml, přidáme 10 ml roztoku jodidu draselného (10%), 10 ml 2M HCl a 5 ml roztoku škrobu. Titrujeme roztokem jodičnanu draselného až do okamžiku vzniku modrého zbarvení. Ze spotřeby vypočítáme množství kyseliny askorbové a odhad směrodatné odchylky (v mg) v jedné tablete preparátu a srovnáme s deklarovaným obsahem.

### ***Stanovení vitamínu C v ovoci***

Vzorek ovoce je nejprve nutno připravit pro analýzu. Zde se spokojíme s přípravou ovocné šťávy a stanovení vitamínu C v ní. Pro stanovení jsou vhodné citrusové plody s vysokým podílem šťávy, případně jiné ovoce, ze kterého lze získat dostatečný objem šťávy, nutný k analýze (alespoň 50 ml). Obsah vitamínu C v pevných částech dužiny lze zanedbat a stanovení vitamínu ve slupkách nemá význam, protože se běžně

nekonzumuji. Jodometrické stanovení není specifické, reagují (titrují se) i další látky, oxidovatelné jodem. Jejich obsah v ovoci je však zanedbatelný a do výsledku vnáší jen malou (akceptovatelnou) chybu.

Provedení:

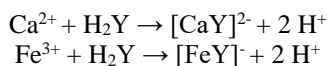
Ovoce rozřízneme nerezovým nožem a pomocí lisu na citrusy do kádinky vymačkáme dostatečné množství vzorku. V některých případech bude nutné použít více kusů ovoce (například citron 2ks). Šťávu v kádince v tom případě promísíme (homogenizujeme) a dále zbavíme větších kousků dužiny (například filtrací přes jemné sítko). Přítomný kal odstraníme odstředěním v centrifuze. Naplníme dostatečný počet zkumavek vzorkem (pozor, zkumavky plnit maximálně do 2/3 objemu a v centrifuze umístit naproti sobě vždy zkumavky se stejným objemem!) a po odstředění slijeme čirý vzorek zpět do čisté kádinky.

Ze vzorku pipetujeme 10 nebo 20 ml (podle získaného objemu šťávy tak, abychom mohli provést alespoň 3 opakované titrace - objem si však poznamenejme!), v titrační baňce zředíme asi na 50 ml a dále postupujeme stejně jako v případě vitamínového preparátu. Pozor na vlastní zbarvení ovocné šťávy při určování bodu ekvivalence! Ze spotřeby a pipetovaného objemu vzorku vypočteme obsah vitamínu C a odhad směrodatné odchylky a vyjádříme je v mg / 100 ml šťávy (tj. asi 100 g konzumního podílu ovoce).

## Úloha č. 5 - Chelatometrická titrace - stanovení Ca a Mg ve vodách a vápenatých schránkách živočichů

### Princip:

Chelatometrické titrace jsou zvláštní případ komplexometrických titrací, kdy reagují ionty kovů s činidlem za vzniku chelátů. Stanovovaný kation kovu reaguje s činidlem za vzniku málo disociovaného, ve vodě rozpustného komplexu, vždy v molárním poměru 1 : 1. Činidlem je nejčastěji kyselina ethylendiamintetraoctová  $H_4Y$ , ve zkratce EDTA, používaná ve formě disodné soli  $Na_2H_2Y$  s obchodním názvem Chelaton 3,  $(HOOC-CH_2)_2N-CH_2-CH_2-N(CH_2COONa)_2$ .



Při reakci se uvolňují protony, takže průběh reakce je ovlivněn hodnotou pH. Chelatometrické reakce se proto provádějí v přítomnosti tlumiče takové hodnoty pH, která spadá do oblasti optimální stability daného komplexu. Komplexy dvojmocných kationtů jsou stále v alkalickém a slabě kyselém prostředí, komplexy výšemocných kovů jsou stále i v kyselých roztocích (jednomocné kationty tvoří naopak jen velmi slabé komplexy a nelze je tudíž titrovat). Vhodnou volbou podmínek při titraci (pH, indikátor) lze stanovit i dva kationty vedle sebe nebo jeden kation v přítomnosti jiného.

Vizuální indikace bodu ekvivalence se provádí pomocí tzv. metalochromních indikátorů, které tvoří s kovovým kationtem slabý barevný komplex [MInd]. Ke konci titrace (v okamžiku, kdy je už veškerý volný kovový kation vázán do komplexu s EDTA) se začíná barevný indikátor uvolňovat z komplexu [MInd], ze kterého je vytěšňován chelatonem  $H_2Y^{2-}$  (vzniká stabilnější komplex  $[MY]^{z-4}$ ). Volná forma metalochromního indikátoru [HInd] (slabá kyselina) musí mít zřetelně odlišné zbarvení od svého komplexu [MInd]. Roztoky metalochromních indikátorů jsou obvykle nestálé, proto se indikátory přidávají v pevném stavu. Barevný přechod indikátoru v bodě ekvivalence je tím ostřejší, čím méně ho přidáme. Abychom mohli indikátor jemněji dávkovat, ředí se stonásobně přebytkem indiferentní soli NaCl nebo  $KNO_3$ .

Chelatometrické titrace se provádějí ve větších objemech titrovaného roztoku (100-150 ml) v titračních baňkách na 250 ml. Při tomto zředění nehrozí, že by vznikaly kineticky stabilnější komplexy indikátoru se stanovovaným kationtem, které způsobují neostrý barevný přechod v bodě ekvivalence. Chelaton 3 není standardní látka a jeho roztoky je nutno standardizovat, například na dusičnan olovnatý.

### **Standardizace 0,05 M chelatonu 3 na dusičnan olovnatý**

$$M[Pb(NO_3)_2] = 331,20 \text{ g.mol}^{-1}$$

Navážku  $Pb(NO_3)_2$ , potřebnou k přípravě 100 ml  $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$  roztoku, rozpustíme ve vodě, předem okyselené 2 - 3 kapkami  $2 \text{ mol.l}^{-1}$   $HNO_3$  [zabrání hydrolyze  $Pb^{2+}$ , která znemožňuje úplné rozpuštění  $Pb(NO_3)_2$ ]. Roztok

převědeme do odměrné baňky a doplníme po značku. Do titrační baňky pipetujeme 20 ml, zředíme vodou na 100 - 150 ml, přidáme 5 ml 10%ního roztoku urotropinu (nebo 0,5 g pevné látky) a indikátor xylenolovou oranž do slabě fialového zbarvení. Titrujeme 0,05M Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>Y do citrónově žlutého zbarvení. Vypočítáme přesnou látkovou koncentraci 0,05M Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>Y.

### ***Analýza vzorku vody - stanovení vápníku a hořčíku vedle sebe***

$$M(\text{Ca}) = 40,08 \text{ g.mol}^{-1}, M(\text{Mg}) = 24,31 \text{ g.mol}^{-1}$$

V silně alkalickém prostředí se hořčík vysráží jako Mg(OH)<sub>2</sub> a vápník titrujeme selektivně na indikátor murexid. V druhém alikvotním podílu vzorku titrujeme v amoniakálním tlumiči sumu Ca + Mg na eriochromčern T. Z rozdílu spotřeb na oba indikátory zjistíme spotřebu na Mg. Součet koncentrací Ca a Mg v mmol.l<sup>-1</sup> vyjadřuje celkovou tvrdost vody.

#### *Titrace Ca*

Ze vzorku vody do titrační baňky pipetujeme 25 ml, zředíme vodou na 100 - 150 ml, přidáme 5 ml 2M KOH a murexid do slabě růžového zbarvení. Titrujeme do modrofialového zbarvení. Ze spotřeby 0,05M Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>Y vypočítáme hmotnostní koncentraci Ca v mg.l<sup>-1</sup> a v mmol.l<sup>-1</sup>.

#### *Titrace Ca + Mg*

Opět pipetujeme 25 ml vzorku, zředíme na 100 - 150 ml, přidáme 5 ml amoniakálního tlumiče a eriochromčern T do slabě fialově červeného zbarvení. Titrujeme do jasně modré barvy. Z rozdílu spotřeb titrace sumy Ca + Mg a titrace Ca vypočítáme hmotnostní koncentraci Mg v mg.l<sup>-1</sup> a také v mmol.l<sup>-1</sup> a v protokolu uvedeme také celkovou tvrdost vody v mmol.l<sup>-1</sup>.

### ***Analýza vzorku vápenatých schránek - stanovení vápníku***

Princip stanovení obsahu Ca ve vápenatých schránkách živočichů (skořápky vajec ptáků, ulity plžů, mlžů aj.) je stejný jako stanovení ve vodě. Pevný vzorek je ale nejprve nutno připravit k analýze. Scořápky byly nejprve zbaveny měkkých organických zbytků vypráním v tenzidu a roztoku chlornanu. Po vysušení byly rozemlety v kulovém mlýnu a homogenizovány. Vaším úkolem je odvážený vzorek rozložit v kyselině a dále zpracovat výše uvedeným způsobem. Pro rozklad (mineralizaci) vzorků biologických materiálů se využívají různé postupy. Rozklad kyselinou dusičnou za zvýšené teploty je jednou z možností. Nezajišťuje úplné odstranění organických látek ze vzorku, což však v případě stanovení Ca není na závadu (zbývající organické látky vytvářejí žluté zbarvené sloučeniny, patrné v mineralizátu vzorku). Pro kompletní mineralizaci je třeba použít například spalování vzorku v muflové peci při teplotě asi 450 - 500°C nebo oxidace kyselinou dusičnou za tlaku při teplotě až 300°C.

#### *Provedení:*

Vzorek (0,2 - 0,3 g) navážíme přímo do suché 100 ml kádinky a přidáme 4 ml koncentrované HNO<sub>3</sub>. Přidávání kyseliny, zahřívání a ředění provádíme v digestoři a oči si chráníme brýlemi! Kádinku zakryjeme hodinovým sklem a po skončení bouřlivé reakce umístíme na elektrický vařič a mírně zahříváme, až se začne směs jemně vařit. Po vyčerení směsi odstavíme z vařiče a kádinku necháme zchladnout! Po zchladnutí opláchneme hodinové sklo do kádinky, stříčkou spláchneme stěny kádinky a obsah kvantitativně převědeme do odměrné baňky objemu 100 ml. Po vychlazení obsahu baňky doplníme po rysku a promícháme.

Z baňky pipetujeme ke stanovení Ca 20 ml a dále postupujeme jako při stanovení Ca ve vodách (přídavek roztoku KOH zvýšíme na 10 ml, abychom neutralizovali nadbytečnou kyselinu z mineralizace). Ze spotřeby odměrného roztoku chelatonu 3 a navážky vzorku vypočteme procentuální obsah Ca ve vzorku a odhad směrodatné odchylky a také přepočteme na obsah CaCO<sub>3</sub> v %.

# Úloha č. 6 – Kvalitativní analýza – Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

## Princip:

Chromatografie umožňuje účinnou separaci látek, která je nutná pro spolehlivou identifikaci a kvantifikaci jednotlivých složek sledované látky. Různé látky se liší svými adsorpčními vlastnostmi, rozdělovacími koeficienty, svými rozměry, náboji atd., což se využívá v chromatografii k jejich rozdělení na vhodném chromatografickém zařízení.

K rozdělení látek dochází na základě jejich různé pohyblivosti v systému dvou fází – stacionární (zakotvené) a mobilní (pohyblivé). Stacionární fází může být pevná látka (papír, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) ale i kapalná fáze zakotvená na pevném nosiči, mobilní fází pak bývá kapalina nebo plyn. Podle způsobu uspořádání chromatografického zařízení dělíme chromatografii na plošnou a sloupcovou, z hlediska určujícího mechanismu dělení látky mezi stacionární a mobilní fází pak chromatografii adsorpční, rozdělovací, iontově výměnnou atd.

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

*Tenkovrstvá chromatografie* (TLC, Thin Layer Chromatography) je případem plošné chromatografie s převládajícím adsorpčním mechanismem dělení analyzované směsi látek. Provádí se na tenké vrstvě sorbentu (celulóza, silikagel, alumina), který je nanesen na vhodné podložce (sklo, kovová fólie, plast). Vzorek se nanáší na začátek vrstvy (start) společně se standardy obdobně jako v případě papírové chromatografie. Po zaschnutí nanesených vzorků se vrstva vloží do vyvíjecí komory s vhodnou směsí rozpouštědel (mobilní fáze) tak, aby startovní linie byla nad hladinou, a komora se uzavře. Dodržují se obdobná pravidla jako u papírové chromatografie, vyvíjení chromatogramu probíhá tak dlouho, dokud se čelo vztlínající směsi rozpouštědel nepřiblíží k okraji desky (cca 1 – 2 cm). Poté se chromatogram vyjme, vysuší a vhodným způsobem detekce se určí jednotlivé skvrny. K detekci se používají stejné postupy jako v papírové chromatografii, často se používají vrstvy upravené fluorescenční látkou (fluoreskující při osvětlení UV zářením). Stanovované látky velmi často tuto fluorescenci zhasí, takže se pod UV lampou objevují na chromatogramu v podobě tmavých skvrn. Využívají se i další způsoby detekce, založené na postřiku chromatogramu vhodným činidlem, které se stanovovanou látkou vytváří barevnou sloučeninu.

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

V tenkovrstvé chromatografii (TLC) se stacionární fáze nanáší na destičky ze skla, hliníku či plastu, stacionární fáze musí proto dobře ulpívat na zvoleném podkladu a být ve formě jemných částic jednotné velikosti (mezi 1 – 5 μm). Mobilní fází je směs organických rozpouštědel, někdy ve směsi s vodnou fází. Nejčastěji se používá ethanol, aceton, chloroform, benzen a hexan.

Na TLC destičku je nanesen vzorek a destička je umístěna do vyvíjecí komory nasycené parami mobilní fáze tak, aby její spodní část zasahovala minimálně cca 0,5 cm do mobilní fáze. Linie startu a nadávkovaným vzorkem je umístěna nad hladinou mobilní fáze. Dochází ke vztlínání mobilní fáze vzhůru stacionární fází po povrchu destičky. Mobilní fáze rozpouští složky vzorku a unáší je vzhůru po povrchu destičky. Jelikož jednotlivé složky vzorku interagují se stacionární fází různě (tzn., jsou různě intenzivně brzděny oproti čelu mobilní fáze), dochází k jejich vzájemnému rozdělení. Separace probíhá, dokud čelo mobilní fáze nedosáhne cca 1 – 2 cm pod vrchní detekční okraj destičky (vyznačíme tzv. čelo).

Detekce rozdělených složek vzorku může probíhat několika způsoby:

- barevné sloučeniny lze sledovat vizuálně
- bezbarvé sloučeniny – osvětlení UV zářením (některé sloučeniny po vystavení destičky UV záření fluoreskují), pokud vzorek obsahuje látky, které nefluoreskují, jsou tyto často po separaci a expozici destičky UV záření viditelné jako tmavá skvrna na fluoreskující ploše (ta vznikne tak, že se do stacionární fáze přimíchají navíc fluoreskující látky (např. křemičitan zinečnatý) a tomuto jevu se říká zhášení fluorescence nebo se detekují použitím specifických činidel (destička se postříká specifickým činidlem, které s analytem vytvoří barevnou sloučeninu (např. ninhydrin pro aminokyseliny, acidobazické indikátory pro kyselé a zásadité sloučeniny, bromfluorescein pro nenasycené sloučeniny).

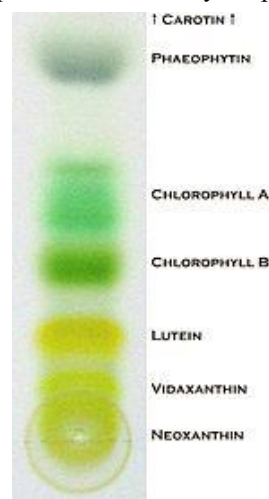
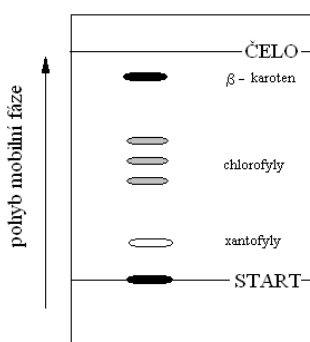
V TLC se nejčastěji využívá těchto dvou separačních principů – adsorpce (separované látky jsou poutány na povrch sorbentu) a rozdělovací rovnováhy (separované látky se rozdělují mezi dvě vzájemně nemísitelné kapaliny, tj. stacionární fáze je kapalina zakotvená na vhodném nosiči). Migrační chování jednotlivých separovaných látek vyjadřuje získaný chromatogram, kde pro každou separovanou látku můžeme definovat hodnotu retenčního (retardačního) faktoru:

$$R_F = \frac{b}{a}$$

kde: a je vzdálenost mezi čelem mobilní fáze (tj. linií, kam až dostoupila mobilní fáze během separace) a linií startu,

b je vzdálenost středu skvrny separované látky od linie startu.

Retardační faktory pro určitý separační systém (určitá stacionární fáze na TLC desce a mobilní fáze) se určují na základě vyhodnocení skvrn standardů (chemicky čisté látky). Metoda patří mezi metody kapalinové chromatografie.



Obr 18.1: Příklad TLC destičky s rozděleným rostlinným vzorkem .

### *Obečná charakteristika stanovovaných látek*

První zmínky o používání rostlinných barviv pocházejí ze starověké Číny a Indie. Výhradně přírodní barviva byla používána k barvení do poloviny 18. století, do doby, než chemický průmysl začal produkovat syntetické náhražky těchto barviv. V poslední době zájem o přírodní barviva opět stoupá vlivem zdravotních a environmentálních problémů souvisejících s používáním barviv syntetických.

Rostlinná barviva jsou organické látky různého složení mající pro rostliny životní význam. Rozdělujeme je na barviva rozpustná v tucích (lipochromy) a ve vodě (hydrochromy). K lipochromům patří zelené chlorofyly, žluté xantofyly a červené karoteny. Chlorofyly mají význam pro fotosyntézu, naproti tomu xantofyly a karoteny způsobují žluté, oranžové a červené zbarvení listů, květů a plodů. Mezi hydrochromy patří především anthokyany, které způsobují modré, červené, fialové až černé zbarvení zejména květů a plodů.

Výsledkem separace listových lipochromů (chlorofyl a, chlorofyl b, karotenoidy) s využitím plošné chromatografie je chromatogram s rozdělenými barvivy, kde mají jednotlivá listová barviva charakteristické zbarvení: chlorofyl a – zelené, chlorofyl b – modrozelené, xantofyly – žluté, karotenoidy – oranžové, feofytin – šedé.

## Pracovní postup

### *Příprava vzorků obsahujících rostlinná barviva k chromatografické separaci*

- a) Listy zelených rostlin (např. muškátu)
- Rozstříhat na menší kousky a rozetřít v třecí misce s malým množstvím propraného křemičitanového písku (příp. písku mořského) a s uhlíčanem vápenatým (na špetku nože) kaši. Poté směs přelit malým množstvím lihu a znovu rozetřít.
  - Směs zfiltrvat přes buničitou vatu do odpařovací misky (kádinky) a následně odpařit do sucha na vodní lázni.
  - Po zchladnutí rozpustit hmotu v několika kapkách lihu. Takto zahuštěný extrakt převést do mikrozkušavky.
- b) Kousek červené papriky
- rozetřít v třecí misce s 10 ml technického benzínu, převést do kónické baňky, ústí zlehka zazátkovat a umístit na 15 minut na třepačku.
  - Získaný extrakt zfiltrvat přes buničitou vatu do odpařovací misky a na vodní lázni zahustit na poloviční objem.
  - Poté převést do mikrozkušavky (paprika obsahuje přes 40 nepolárních barviv většinou na bázi karotenoidů, proto je potřeba použít méně polární vyvíjecí soustavu).

### *Příprava vyvíjecí soustavy a přípravy chromatogramů jednotlivých barviv*

U chromatografie na tenké vrstvě převládá rozdílné využití adsorpce na tenké vrstvě sorbentu – adsorpční chromatografie. Analyzovaná směs se nanese na povrch Silufolu, příp. Alufolu (na Start vyznačený tužkou), Silufol se poté umístí do mobilní fáze. Vyvíjení (vzlínání) probíhá v uzavřené tlustostěnné nádobě a k jeho přerušení dojde, jakmile rozpouštědlo dosáhne požadované výšky. Tato výška se označí tužkou (tvrdość HB) jako Čelo chromatogramu.

Kvalitativním parametrem pro identifikaci látky v dané vyvíjecí soustavě je hodnota retardačního faktoru RF. Vyvíjecí soustavu připravit do tlustostěnné nádoby tak, aby hladina mobilní fáze dosahovala do výšky 8 – 10 mm (cca 5 ml), ihned ji uzavřít víkem, aby se prostor uvnitř nádoby nasytil parami vyvíjecí soustavy.

Pro dělení použijeme vyvíjecí soustavu (dle pokynů vyučujícího):

- a) n-propanol : H<sub>2</sub>O : kyselina octová v poměru 85 : 14 : 1 (tj. 4,25; 0,7; 0,05 ml)  
b) benzen . diethylether 4 : 1  
c) benzín : H<sub>2</sub>O : 2-propanol v poměru 90 : 1 : 9 (tj. 4,5; 0,05 a 0,45 ml)

### *Dělení rostlinných barviv metodou TLC*

Chromatografickou fólii nastříhat na obdélníky (vysoké 8 cm, šířka pruhu se řídí šířkou vyvíjecí nádoby), na ně zakreslit měkkou tužkou (tvrdość HB) 1 – 1,5 cm od okraje Start, opatrně tak, aby nedošlo k porušení vrstvy silikagelu (což by ovlivnilo průběh analýzy). Těsně pod Start (příp. pod horní okraj obdélníku) udělat popisky pro pozdější identifikaci jednotlivých barviv. Na čáru Startu nanést kapilárou jednotlivá barviva. Na každý vzorek použít čistou kapiláru, aby se vzorky nekontaminovaly. Počkat, až se barvivo vsákne do povrchu silikagelu, nanesení vzorku opakovat, dokud nevznikne skvrna o velikosti 2–3 mm. Připravenou chromatografickou fólii vložit do vyvíjecí soustavy v mírném sklonu ke stěně vyvíjecí nádoby a vyvíjecí nádobu ihned uzavřít víkem.

Sledovat, jak mobilní fáze vzlíná, počkat cca 30 minut, nebo až MF vystoupí asi 1 cm pod horní hranu chromatografické fólie. Poté fólii vyjmout a tužkou zakreslit čáru migrace Čela mobilní fáze. Následně se pokusit obtáhnout skvrnu, kterou po sobě zanechalo barvivo na chromatografické desce, protože po usušení desky by nemusela být dostatečně zřetelná.



*Identifikace analyzovaných barviv a porovnání jejich chování v jednotlivých vyvíjecích soustavách*

Po ukončení vyvíjení chromatogramy opatrně vyjmout, obtáhnout měkkou tužkou vzniklé skvrny a zaznamenat jejich barvu (na světle i pod UV). Poté je nechat uschnout na vzduchu, příp. je umístit na 5 minut do sušárny vyhřáté na teplotu 60 °C. Po vysušení pravítkem změřit vzdálenost Čela mobilní fáze od Startu a vzdálenost středu skvrny od Startu, všechny hodnoty si zapsat.

*Vyhodnocení chromatografické analýzy a zpracování dat do protokolu*

Do protokolu vložit obrázky jednotlivých zkopírovaných chromatogramů s popisem a jejich vyhodnocením.