INSTRUMENTÁLNÍ ANALYTICKÁ CHEMIE – ÚPRAVY A ZMĚNY PRO OBOR UČITELSTVÍ

ÚLOHA č. 1
CHROMATOGRAFICKÉ DĚLENÍ ANIONTŮ NA IONEXECH

- *dle návodu ve skriptech*

ÚLOHA č. 2
PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

2.1.3. Nastavení podmínek pro metodu 3 – *metodu vybereme dle pokynů vyučujícího*

2.2. PŘÍPRAVA VZORKŮ K MĚŘENÍ

1. Připravíme kalibrační roztoky pro methanol o obsahu methanolu 0,02 %, 0,04 %, 0,06 % a 0,08 % (v/v), tj. mikropipetou přesně napipetujeme 20 µl, 40 µl, 60 µl a 80 µl methanolu do odměrných baněk na 100 ml a doplníme destilovanou vodou po rysku. Jednotlivé roztoky pro kalibrační závislost umístíme na 5 min do ultrazvukové lázně.
2. Připravíme směs čtyř alkoholů (methanol, ethanol, n-propanol a isobutanol) ve vodě, obsah jednotlivých látek 0,03 % (v/v), tj. do 100 ml odměrné baňky napipetujeme postupně 30 µl jednotlivých složek a doplníme destilovanou vodou po rysku. Roztok umístíme na 5 min do ultrazvukové lázně.
3. Připravíme směs čtyř alkoholů (methanol, ethanol, isopropanol a isobutanol) s acetonem ve vodě, obsah jednotlivých látek 0,05 % (v/v), tj. do 100 ml odměrné baňky napipetujeme postupně 50 µl jednotlivých složek a doplníme destilovanou vodou po rysku. Roztok umístíme na 5 min do ultrazvukové lázně.
4. Připravíme vzorek konzumního destilátu o neznámé koncentraci methanolu, do odměrné baňky na 100 ml napipetujeme 1 ml vzorku konzumního destilátu a doplníme destilovanou vodou po rysku (příp. dle množství vzorku do odměrné baňky na 10 ml napipetujeme 0,1 ml vzorku konzumního destilátu a doplníme destilovanou vodou po rysku). Roztok umístíme na 5 min do ultrazvukové lázně.
5. Připravíme vzorek konzumního destilátu o neznámé koncentraci methanolu s přídavkem standardu methanolu do odměrné baňky na 100 ml napipetujete 1 ml vzorku destilátu a 50 µl standardu methanolu, doplníme destilovanou vodou po rysku (příp. dle množství vzorku do odměrné baňky na 10 ml napipetujeme 0,1 ml vzorku konzumního destilátu a a 25 µl standardu methanolu, doplníme destilovanou vodou po rysku). Roztok umístíme na 5 min do ultrazvukové lázně.

2.4. METODY STANOVENÍ METHYLALKOHOLU V KONZUMNÍM DESTILÁTU

2.4.1. Metoda kalibrační přímky

Metoda založená na sestrojení grafické závislosti měřené veličiny na zvyšující se koncentraci kalibračních roztoků o známé koncentraci. Z této kalibrační křivky se hodnota hledané veličiny neznámého vzorku odečte. Použití metoda kalibrační křivky je oprávněné v případě, že všechny vzorky a standardy jsou si svými vlastnostmi rovnocenné, tzn. že můžeme zanedbat vliv matrice vzorku.

POSTUP:

Z jednotlivých chromatogramů pro stanovení methanolu si opíšeme následující položky pro vytvoření kalibrační závislosti v *Excelu*:

– retenční čas t_R v min,

– plochu píku A v mV·s,

– výšku píku h v mV,

– šířku píku w, příp. $w_{0,5}$ je třeba dopočítat

Ze získaných hodnot sestrojíme kalibrační závislost pro jednotlivé objemové koncentrace methanolu a z rovnice regrese vypočítáme obsah methanolu ve vzorku konzumního destilátu (je nutné počítat také s ředěním vzorku)

2.4.2. Metoda přídavku standardu

Metoda přídavku standardu předpokládá splnění podmínky linearity kalibrační závislosti mezi plochou píku a stanovovanou koncentrací. Její výhodou je eliminace vlivu matrice. Ke stanovovanému vzorku se přidá známé množství téže látky, u které se má stanovit neznámá koncentrace. Vždy se musí udělat nejméně dva nástřiky vzorku – při prvním se dávkuje přesné množství vzorku, při druhém se dávkuje přesné množství směsi.

Koncentraci obsahu methanolu v neznámém vzorku při přídavku jednoho standardu ke vzorku určíme podle následujícího vzorce:

a) v případě, že, matrice a celkový objem je konstantní – tzv. *metoda dvou roztoku*

$$c_{vz} = \frac{A_{vz}}{\left(A_{vz+st} - A_{vz}\right)} \cdot \frac{V_{st} \cdot c_{st}}{V_{vz}}$$

b) v případě, že celkový objem není konstantní – tzv. *metoda jednoho roztoku*

$$c_{vz} = \frac{V_{st}}{V_{vz}} \cdot \frac{c_{st}}{\frac{A_{vz+st}}{A_{vz}} \cdot \frac{\left(V_{vz} + V_{st}\right)}{V_{vz}} - 1}$$

kde: c_{vz} je koncentrace analytu ve stanovovaném vzorku,
c_{st} je koncentrace standardu,
V_{vz} je objem stanovovaného vzorku,
V_{st} je objem přidaného standardu,
A_{vz} je plocha píku stanovovaného vzorku,
A_{vz+st} je plocha píku stanovovaného vzorku a standardu.

ÚLOHA č. 3
RP-HPLC

CÍLE ÚLOHY

- seznámit se s principy vysokoúčinné kapalinové chromatografie

POUŽITÉ VYBAVENÍ:

Chemikálie:

Mobilní fáze: CH_3OH:voda 70:30 (v/v).
Zásobní roztoky: testovací směs a 0,01% roztok thiomočoviny s benzenem v methanolu.

Přístrojové vybavení:

HPLC systém Watrex (1 pumpa DeltaChrom™ P102 pump s průtokem 0,01–9,99 ml min^{-1} s maximálním pracovním tlakem 42 MPa, chyba 0,2 % na 1 ml min^{-1}, fotometrický detektor DeltaChrom™ UV250 detektor, řídící software EZStart, chromatografická kolona Watrex 250x4,0 mm Reprosil 100 C18 kolona 5μm (příp. chromatografická kolona Watrex 250x4,0 mm Reprosil 100 C8 kolona 5μm), dávkovač DeltaChrom ™ Manual Injection Kit s objemem 20 μl), ultrazvuková lázeň.

SCHÉMA PRACOVNÍHO POSTUPU:

3.1. Seznámení s metodou
3.2. Popis a základní schéma kapalinového chromatografu
  3.2.1. Vyhodnocení chromatografického záznamu
3.3. Provedení chromatografického stanovení v chromatografické soustavě s reverzní fází (tzv. reverse phase HPLC)
  3.3.1. Příprava chromatografu k měření a sběru dat
  3.3.2. Příprava testovací směsi a roztoku thiomočoviny.
  3.3.3. Optimalizace podmínek stanovení, ověření funkčnosti a stavu chromatografické kolony.
  3.3.4. Stanovení mrtvého objemu kolony V_M pomocí inertní látky (thiomočovina)
  3.3.5. Statistické vyhodnocení
3.4. Vyhodnocení chromatografické separace

3.3. PROVEDENÍ CHROMATOGRAFICKÉHO STANOVENÍ

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie RP-HPLC je druhem kapalinové chromatografie s reverzní fází, což znamená, že mobilní fází (MF) je většinou organické rozpouštědlo a stacionární fází (SF) je pevná látka. Mobilní fáze je pak tlačena skrz nepohyblivou a nemísitelnou stacionární fázi. Principem HPLC je různá afinita vzorku ke stacionární fázi. Čím vyšší má vzorek afinitu ke stacionární fázi, tím větší je jeho zádrž a pozdější eluce, dochází tedy k separaci látek.

Vzorek je kolonou nuceně transportován postupným přitékáním mobilní fáze. Tento proces se nazývá eluce.

Výsledkem měření pomocí metody HPLC je chromatogram, z něhož zjišťujeme retenční čas jednotlivých analytů, popřípadě koncentraci, atd

Nejdůležitější kvalitativní charakteristikou látek rozdělujících se mezi stacionární a mobilní fází je kapacitní faktor, pro jehož výpočet je nezbytné znát mrtvý čas dané kolony. Mrtvý čas t_0 je čas, za který projde kolonou nezadržovaná látka, tzn. látka, která prakticky neinteraguje se stacionární fází (SF). Je-li tedy SF velmi polární (nemodifikovaný silikagel), můžeme mrtvý čas ztotožnit s retenčním časem velmi nepolární kapaliny, tj. markeru (např.hexanu), je-li SF velmi nepolární (C18), pak markerem může být velmi polární molekula, např. aceton.
Při znalosti průtokové objemové rychlosti (F, ml·min^{-1}), lze vypočítat V_M mrtvý objem kolony z času

t_M.

3.3.1. Příprava chromatografu k měření a sběr dat

- Zapneme zařízení, a to v pořadí detektor, pumpa, počítač (nutné nažhavení detektoru po dobu 30 minut). Veškeré MF je nutné odplynit na ultrazvukové lázni po dobu minimálně 20 minut.
- Jakmile je detektor nažhavený, přistoupíme k ekvilibraci kolony.
- Zkontrolujeme, zda je nasávací hadička s filtrem ponořena pod hladinou MF.
- Vezmeme stříkačku (30 ml se šroubovacím zakončením) a nasadíme na výpustní ventil pumpy. Otevřeme opatrně ventil a pomalu natahujeme mobilní fázi z odměrné baňky, to zajistí odstranění bublin z koloběhu mobilní fáze. Před sejmutím stříkačky z výpustního ventilu vždy ventil opět uzavřeme. Natáhnutí mobilní fáze opakujeme alespoň 2x. Poté ještě hadičku zkontrolujeme pohledem a případné bublinky sklepeme a znovu natáhneme stříkačkou. ***!POZOR!*** Při vniknutí bublin do kolony může dojít k jejímu poškození.
- Na pumpě nastavíme požadovaný průtok (0,5 $ml \cdot min^{-1}$) pro stanovení a teprve nyní můžeme spustit pumpu tlačítkem "RUN". Počkáme, až je tlak na pumpě konstantní.
- Pak spustíme program EZStart, v úvodní nabídce vybereme metodu test254.met (najdeme ji na cestě c:\Ezstart\Methods\test254.met). Pomocí této metody necháme ekvilibrovat kolonu a také při ní budeme provádět jednotliví měření.
- Spustíme Preview na horní liště programu, které slouží k ekvilibraci kolony.
- Počkáme, až se ustálí základní linie (base line) po dobu 40 minut, což odpovídá 20 kolonovým objemům.
- Ekvilibraci ukončíme červeným tlačítkem "RUN STOP".

3.3.2. Příprava testovací směsi a roztoku thiomočoviny

Příprava testovací směsi:

Testovací směs připravíme napipetováním 2 ml acetonu, 0,5 ml benzenu a 0,5 ml toluenu do odměrné baňky na 25 ml, doplníme methanolem po rysku. Připravenou směs umístíme na 20 min do ultrazvukové lázně.

Příprava 0,02% roztoku thiomočoviny:

Do odměrné baňky na 100 ml připravíme navážením 0,02% roztok thiomočoviny a 0,5 ml benzenu rozpuštěním v methanolu. Připravenou směs umístíme na 20 min do ultrazvukové lázně.

3.3.3. Optimalizace podmínek stanovení, ověření funkčnosti a stavu chromatografické kolony.

Dávkování vzorku dávkovacím kohoutem

- Před zahájením vlastního měření je doporučeno několikrát propláchnout dávkovací kohout destilovanou vodou, methanolem nebo mobilní fází. Promývat dávkovací kohout budeme pomocí injekční stříkačí s nasazovací jehlou. ***!POZOR!*** Zasunutá jehla nesmí propíchnout septum dávkovacího kohoutu, zasunujeme ji tedy velmi opatrně a poté, co ucítíme odpor, se s jehlou vrátíme o několik mm zpět.
- Vzorek dávkovaný na kolonu musí být čirý, částice nebo zákal mohou nevratně znehodnotit kolonu.
- Vzorky obsahující rozpuštěné plyny (např. metanolické roztoky) je třeba před nástřikem důkladně odvzdušnit v ultrazvukové lázni.

Naplnění smyčky dávkovače a nástřik vzorku na kolonu

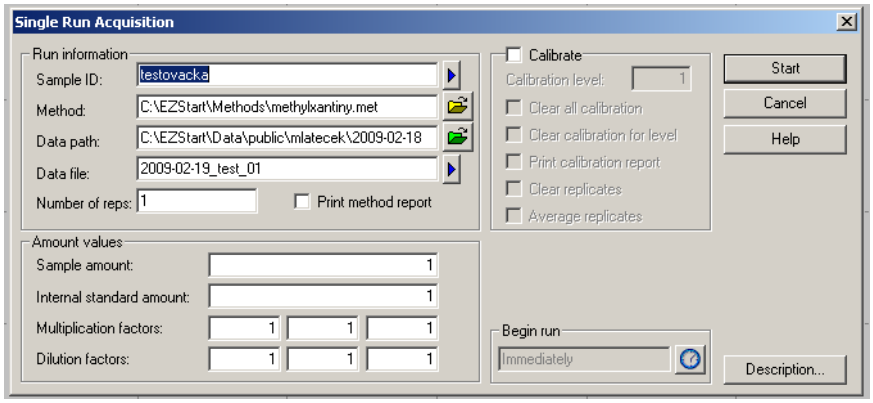
- Po ekvilibraci kolony můžeme nastříknout testovací roztok. Testovací roztok se měří při 254 nm. Aceton má funkci inertního analytu, tudíž se vůbec nezachytává na stacionární fázi, proto se čas jeho eluce bere jako mrtvý retenční čas. Toto slouží k výpočtu kapacitních faktorů. Dávkovací zařízení je opatřeno kohoutem s polohou 1 (load) a 2 (inject). V poloze 1 (levá poloha) plníme smyčku, aniž by docházelo k unášení analytu mobilní fází, v poloze 2 (pravá poloha) je analyt unášen mobilní fází. Než dojde k nástřiku, musí být dávkovací zařízení vždy v poloze 1.
- Při plnění dávkovací smyčky o objemu 20 µl se páčka dávkovače přepne do pohotovostní horní polohy 1 (levé polohy), do dávkovacího otvoru se **jemně** zasune jehla injekční stříkačky (***POZOR!***

Nezasouvat násilím na doraz) a tlakem na píst injekční stříkačky se naplní dávkovací smyčka dávkovače (na konci odpadní kapiláry odkápne 3–5 kapek).

- Páčka se přepne do pravé spodní polohy a jehla se vytáhne. Tím se uvnitř dávkovače přepne směr toku mobilní fáze tak, že prochází smyčkou.

Měření vzorku

- Zkontrolujeme zda je páčka dávkovače v pohotovostní horní poloze 1 (levá poloha)
- Vezmeme stříkačku (např. Hamilton) s obsahem 25 µl a několikrát ji propláchneme destilovanou vodou. Nabereme do stříkačky objem 2.5 µl z testovacího roztoku tak, aby ve stříkačce nebyla žádná bublinka.
- Zasuneme stříkačku rovně do dávkovacího zařízení skrz septum.
- Před nadávkovám vzorku je potřeba spustit program pro sběr naměřených dat.
- Ke spuštění programu použijeme modrou šipku na horní liště, po jejím spuštění se objeví okno, ve kterém musíme vyplnit název vzorku (sample ID), cestu pro uložení naměřených hodnot (data path) a název souboru, pod kterým se jednotlivé měření uloží (data file). V řádku Method také zkontrolujeme, zda máme správně zvolenou metodu.



- Pro další informace slouží Description, kde si můžeme popsat kolik dávkujeme vzorku, na jakou kolonu, jakou mobilní fázi používáme a jaký je průtok
- Měření spustíme tlačítkem Start. Než dojde k nástřiku jakéhokoliv vzorku, musíme počkat, až se na obrazovce objeví *waiting for trigger* což znamená, že je software připraven a čeká na nástřik vzorku.

- Až je na liště vidět nápis *waiting for trigger*, pohybem pístu stříkačky nadávkujeme 2,5 µl testovací směsi. Ihned po nadávkování otočíme páčku dávkovače do polohy 2, teprve poté vytáhneme stříkačku z dávkovacího zařízení.
- Před ukončením anylýzy nejprve vrátíme páčku dávkovače do polohy 1 a teprve poté analýzu ukončíme červeným tlačítkem „RUN STOP“.
- Testovací směs proměříme 3x při průtoku 0,4 ml·min^{-1} (pro kolonu C8) nebo 0,5 ml·min^{-1} (pro kolonu C18).

3.3.4. Stanovení mrtvého objemu kolony V_M pomocí inertní látky (thiomočovina)

- Nastříknutím látky, která není zadržovaná sorbetem, se stanoví tzv. mrtvý čas t_M, tj doba, za kterou kolonou projde látka zcela inertní vůči sorbetu. Při znalosti průtokové objemové rychlosti (F, ml/min), lze vypočítat mrtvý objem kolony V_M. Odečteme čas t_M a s použitím údaje F vypočteme mrtvý objem kolony V_M.
- Měření thiomočoviny provedeme stejným způsobem jako měření testovací směsi.
- Směs thiomočoviny s benzenem proměříme při průtocích 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 a 1,0

$ml \cdot min^{-1}$, vždy nadávkujeme 5 µl stanovované látky.

- Sestrojíme van Deemterovu křivku závislosti výškového ekvivalentu teoretického patra H na lineární rychlosti MF, kde minimum křivky odpovídá optimální průtokové rychlosti, při které kolona vykazuje největší účinnost a tedy minimálně rozšiřuje zóny analytů. (Délka kolony C18 je 250 mm, délka kolony C8 je 100 mm)

3.4. VYHODNOCENÍ CHROMATOGRAFICKÉ SEPARACE

1. **Provedeme identifikaci látek testovací směsi, zdůvodníme pořadí jednotlivých analytů v chromatogramu.**
2. **Z chromatogramů určíme pomocí programu EZStart-offline pro jednotlivé látky retenční časy t_R, výšky h a šířky signálů ($w_{0,5}$).**
3. **Vyhodnotíme chromatografický záznam a stanovíme faktory, které mají vliv na chromatografické stanovení (rozlišení, účinnost kolony, kapacitní poměry separovaných látek, atd.).**
4. **Vypočítáme mrtvý objem kolony V_M.**
5. **Sestrojíme van Deemterovu křivku. Vyhodnotíme a zdůvodníme jakým způsobem ovlivňuje zvyšující se průtok zónu analytů.**
6. **Provedeme statistické vyhodnocení jednotlivých stanovení.**
7. **Zdůvodnění případných problémů během analýzy.**

ÚLOHA č. 4
IZOTACHOFORÉZA

CÍLE ÚLOHY:

- seznámit se s principy s izotachoforézy
- kvantitativně stanovit kyselinu citronovou v ovoci, džusech a potravinářských doplňcích (vitamínových preparátech)

SCHÉMA PRACOVNÍHO POSTUPU:

4.1. Seznámení s metodou ITP
  4.1.1. Popis a základní schéma instrumentace ITP
  4.1.2. Způsoby vyhodnocení ITP
4.2. Stanovení kyseliny citronové pomocí metody přídavku standardu (přídavek více standardů)
  4.2.1. Obecná charakteristika kyseliny citronové
  4.2.2. Příprava zásobního roztoku a úprava vzorku
  4.2.3. Měření jednotlivých vzorků
4.3. Vyhodnocení analýzy

4.2. STANOVENÍ KYSELINY CITRONOVÉ POMOCÍ METODY PŘÍDAVKU STANDARDU (PŘÍDAVEK VÍCE STANDARDŮ)

4.2.1 Obecná charakteristika kyseliny citronové

Kyselina citrónová je významným konzervačním činidlem, které je přidávano do potravin z důvodu prodloužení jejich trvanlivosti. Obsah této látky je deklarován státními normami a její použité množství by mělo být uvedeno na obalech výrobků. Pomocí izotachoforetického analyzátoru lze kontrolovat obsahy této konzervačních látky.

KYSELINA CITRONOVÁ E 330

- skupina - regulátor kyselosti, antioxidant
- charakteristika - nachází se v ovoci a zelenině (především v citrusových plodech), průmyslově se získává z citrónové šťávy nebo kvašením melasy
- využití - v potravinářství jako konzervační a dochucovací látka, zabraňuje množení bakterií a plísní v ovocných sirupech a nealkoholických nápojích, zpomaluje žluknutí a stabilizuje barvu ovocných výrobků
- účinky na lidský organismus - ve velkém množství brání vstřebávání vápníku

4.2.2. Příprava standardů a úprava vzorku

PŘÍPRAVA VEDOUCÍHO A KONCOVÉHO ELEKTROLYTU

1. VEDOUCÍ ELEKTROLYT: 10 mM HCl + 20 mM β-alanin + 0,1 % HPMC (pH = 3,6) Do kádinky na 100 ml naplněné asi 50 ml destilované vody napipetujeme tolik konc. HCl, aby její výsledná koncentrace po převedení obsahu kádinky do 250 ml odměrné baňky byla 10 mM, přidáme vypočítanou navážku 0,02 M β-alaninu. Po rozpuštění všech látek přidáme 20 ml 0,1 % HPMC a roztok kvantitativně převedeme do odměrné baňky o objemu 250 ml. V případě nutnosti upravíme elektrolyt před doplněním po rysku odplyněním v ultrazvukové lázni. Doplníme odměrnou baňku po rysku.

2. KONCOVÝ ELEKTROLYT: 5 mM kyselina glutamová. Koncový roztok připravíme navážením kyseliny glutamové do 100 ml odměrné baňky, doplníme po rysku. Důkladného promíchání dosáhneme odplyněním v ultrazvukové lázni. pH neupravujeme, je adjustováno protiiontem z vedoucího elektrolytu.

PŘÍPRAVA ROZTOKŮ KYSELINY CITRONOVÉ

K přípravě roztoků kyseliny citronové použijeme zásobní roztok 10 mM kyseliny citronové, případně vypočítáme navážku zásobního roztoku kyseliny citronové do 100 ml odměrné baňky, kterou navážíme a rozpustíme v přibližně 50 ml destilované vody, kvantitativně převedeme do odměrné baňky na 100 ml a doplníme po rysku.

Z tohoto roztoku připravíme do tří odměrných baněk na 25 ml následující roztoky, které doplníme destilovanou vodou po rysku:

Objem V pipetovaného množství vzorku (ml)	Koncentrace standardu roztoku kys.citronové (mmol/l)
2,5	0,0
2,5	0,3
2,5	0,6
2,5	0,9

4.2.3. Měření jednotlivých vzorků

Podle návodu k obsluze uvedeném v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení připravíme přístroj k měření. Zvolíme optimální metodu a pomocí programu ITPWin provedeme analýzu – *dle pokynů vyučujícího*.

Do grafu vynášíme délku zóny v závislosti na koncentraci přídavku kyseliny citronové. Množství neznámého vzorku získáme zpracováním lineární regrese.

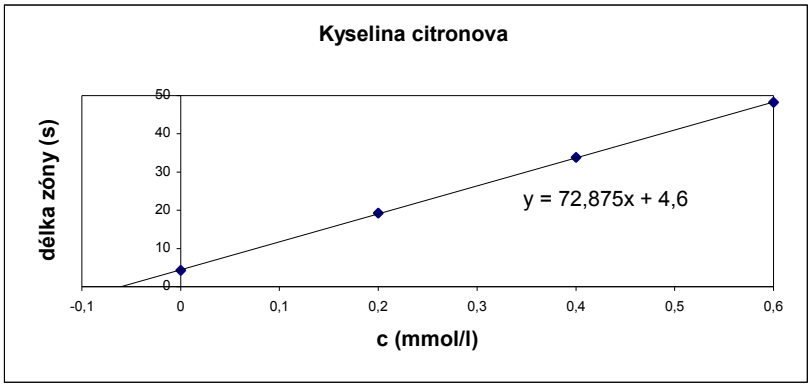
Rovnice měření: $$c_{vz} = \frac{c_{st}}{V_{vz}} \cdot \frac{b_0}{b_1}$$

Kde: b_0 je úsek,

b_1 je směrnice,

c_{vz} je koncentrace vzorku v mmol/l,

c_{st} je koncentrace standardu v mmol/l.



Obr. 4.3: Příklad sestrojení grafu pro stanovení kyseliny citronové metodou přídavku standardu

4.3. VYHODNOCENÍ ANALÝZY

Do závěru uvedeme:

1. **Graf závislosti délky zóny na koncentraci přídavku kyseliny citronové.**
2. **Množství neznámého vzorku získáme zpracováním lineární regrese. Obsah kyseliny citronové v neznámém vzorku uvedeme zaokrouhlený na platný počet míst.**
3. **Srovnáme deklarovaný obsahu kyseliny citronové v džusu nebo vitamínovém přípravku s obsahem námi zjištěným (pokud není uveden na obalu výrobku, pokusíme se ho zjistit z dostupných zdrojů) a diskuse výsledků uvedeme v závěru.**
4. **Zdůvodnění možného chybného stanovení, zhodnocení případných problémů během analýzy.**

ÚLOHA č. 5

VÍCESLOŽKOVÁ FOTOMETRICKÁ ANALÝZA

- *dle návodu ve skriptech*

ÚLOHA č. 6

SPEKTROFOTOMETRIE

- *dle návodu ve skriptech*

ÚLOHA č. 7

EXTRAKČNÍ FOTOMETRIE

- *dle návodu ve skriptech*

ÚLOHA č. 8
ATOMOVÁ ABSORPČNÍ A EMISNÍ SPEKTROMETRIE

8.1. PŘÍPRAVA VZORKU MULTIVITAMÍNOVÉHO PŘÍPRAVKU

Celou tabletu zalijeme ve 100 ml kádince 10 ml 10% roztoku kyseliny dusičné. Kádinku s multivitamínovým přípravkem mírně zahříváme, až se tableta rozpadne. Poté obsah kádinky zředíme na 60 ml horkou destilovanou vodou a za horka přefiltrujeme přes papírový filtr do odměrné baňky o objemu 100 ml. Do baňky přitom musíme dostat kvantitativně veškerý roztok z kádinky, tzn. kádinku je nutno několikrát vypláchnout malým množstvím vody a přefiltrovat. Filtr následně promyjeme malým množstvím destilované vody ze střičky. Odměrnou baňku poté doplníme vodou po značku a promícháme

Takto získaný roztok multivitamínového přípravku vhodně naředíme 1% roztokem HNO_3 tak, aby koncentrace analytů (Zn i K) ležely asi uprostřed kalibrační závislosti, tj. pro stanovení draslíku K napipetujeme 5 ml roztoku multivitamínového přípravku do 50 ml odměrné baňky a doplníme 1% HNO_3 po rysku, pro stanovení zinku Zn napipetujeme 1 ml roztoku multivitamínového přípravku do 100 ml odměrné baňky a doplníme po rysku 1% HNO_3. Důležité je vše řádně promíchat.

Stejným způsobem provádíme i přípravu slepého stanovení (blank), včetně zahřívání (pouze obsah v kádince zředíme studenou destilovanou vodou ze střičky) a filtrace. Takto získaný roztok blanku naředíme pro stanovení K a Zn stejným způsobem jako multivitamínový přípravek

ÚLOHA č. 9
FOTOMETRICKÁ TITRACE

9.1. STANDARDIZACE 0,01 M ROZTOKU CHELATONU III NA NAVÁŽKU REKRYSTALOVANÉHO CHLORIDU OLOVNATÉHO S FOTOMETRICKOU INDIKACÍ BODU EKVIVALENCE

9.1.3. Orientační titrace s vizuální indikací

Účelem této titrace je seznámení s obsluhou mikrobyrety a určení oblasti, kde dochází k barevnému přechodu. Při následné titraci s fotometrickým měřením je možné se soustředit na přesné určení barevné změny a stanovení spotřeby Chelatonu III v ekvivalenčním bodě.
Návod k obsluze mikrobyrety PK2500 je uveden v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení.

Příprava roztoku k orientační titraci
Mikrobyretu naplníme odměrným roztokem Chelatonu III podle odstavce pro práci s mikrobyretou PK2500 v kapitole Přístroje a přístrojové vybavení..
Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetujeme přesně 10 ml připraveného roztoku standardu, 10 ml destilované vody, špachtlí přidáme malé množství směsi xylenolové oranže s KNO_3 tak, aby roztok byl zřetelně slabě fialový. Kyvetu s roztokem postavíme na ploténku magnetické míchačky, zapneme míchání a obsah mírnými otáčkami dobře promícháme. Po promíchání přidáme tři kapky 10% roztoku urotropinu (tlumivý roztok).
K míchačce přistavíme stojan s naplněnou mikrobyretou.

Titrace
Při vlastní titraci budeme přidávat z mikrobyrety odměrný roztok po 0,2 ml a za stálého míchání vizuálně pozorovat roztok až do přechodu barvy z fialové do čistě žluté. Nadávkovaný objem odečteme na stupnici mikrobyrety.

9.1.4. Fotometrická titrace

Příprava roztoku k fotometrické titraci

Mikrobyretu naplníme odměrným roztokem Chelatonu III.

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetujeme přesně 10 ml připraveného roztoku standardu, 10 ml destilované vody, špachtlí přidáme malé množství směsi xylenolové oranže s KNO_3 tak, aby roztok byl zřetelně slabě fialový. Kyvetu s roztokem postavíme na ploténku magnetické míchačky, zapneme míchání a obsah mírnými otáčkami dobře promícháme. Po promíchání přidáme tři kapky roztoku 10% urotropinu (tlumivý roztok). Pokud jsme přidali správné množství, pak při vlnové délce 580 nm je absorbance roztoku před započetím titrace v rozmezí 0,5 až 0,7.

Titrace

Při vlastní titraci budeme přidávat z mikrobyrety odměrný roztok nejprve po 0,2 ml a zaznamenávat absorbanci. Jakmile se budeme blížit k předpokládanému bodu ekvivalence, snížíme objem přidávaného činidla dle potřeby až na 0,005 ml a méně (nejmenší objem, který lze dávkovat mikrobyretou je 0,002 ml).

Titraci opakujeme třikrát.

9.2 TITRAČNĚ FOTOMETRICKÉ CHELATOMETRICKÉ STANOVENÍ KATIONTU Cu^{2+} V NEZNÁMÉM VZORKU PŘI 460 nm

9.2.1. Fotometrická titrace neznámého vzorku obsahujícího Cu^{2+}

Reakce probíhá při mírně zásaditém pH nepřekračujícím hodnotu 8. Tohoto pH dosáhneme přídavkem amoniakálního tlumiče.

Měď tvoří s murexidem chelát žluté barvy (CuInd). Při titraci roztokem Chelatonu III se nejprve na Chelaton III vážou volné ionty Cu^{2+}, chelát CuY^{2-} je modrý. V okolí bodu ekvivalence dojde k barevné změně způsobené reakcí

$$CuInd + H_2Y^{2-} \rightarrow CuY^{2-} + 2H^+ + Ind^{2-}$$

Volný indikátor má při daném pH modrofialovou barvu.

STECHIOMETRIE:

$$Cu^{2+} + H_2Y^{2-} \rightarrow CuY^{2-} + 2H^+$$

1 mol $Na_2H_2Y \approx$ 1 mol Cu^{2+} M(Cu) = 63,546 $g.mol^{-1}$

Stechiometrické relace pro objemy titračního činidla uvádí následující tabulka:

0,01 M Na_2H_2Y	Cu^{2+}
1 ml	635,5 µg
0,1 ml	63,55 µg
0,01 ml	6,355 µg
0,001 ml	0,635 µg

Příprava vzorku

Neznámý vzorek ve 100 ml odměrné baňce doplníme po značku destilovanou vodou a dobře promícháme

Orientační titrace s vizuálním pozorováním barevné změny

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetujeme 10 ml roztoku vzorku s neznámým obsahem mědi, 10 ml destilované vody, 2 kapky 2 M HNO_3 a špachtlí přidáme takové množství murexidu, aby se roztok zbarvil do středně syté oranžové barvy. Kyvetu pak umístíme na plotýnku magnetické míchačky a po zapnutí míchání její obsah řádně promícháme. Poté přidáme 5 kapek amoniakálního tlumiče a roztok opět promícháme. Roztok je žlutozelený.

K míchačce přistavíme stojan s mikrobyretou, kterou jsme naplnili roztokem odměrného činidla. Při vlastní titraci budeme přidávat z mikrobyrety odměrný roztok po 0,2 ml a pozorovat za stálého míchání zbarvení roztoku až do přechodu žlutého do čistě fialového. Nadávkovaný objem odečteme na stupnici mikrobyrety. Přesvědčíme se, že za těchto podmínek (malé objemy) vizuálně nelze určit přesně bod ekvivalence.

Nastavení fotometru

Před každou titrací provedeme pro určenou vlnovou délku nastavení fotometru při vložené srovnávací kyvetě s destilovanou vodou.

Příprava roztoku k fotometrické titraci

Do kyvety fotometru o objemu 30 ml s míchadlem napipetujeme 10 ml roztoku vzorku s neznámým obsahem mědi, 10 ml destilované vody, 2 kapky 2 M HNO_3 a špachtlí přidáme takové množství murexidu, aby se roztok zbarvil do středně syté oranžové barvy. Pokud jsme přidali správné množství, pak při vlnové délce 460 nm je absorbance roztoku před započetím titrace v rozmezí 0,4 až 0,5. Kyvetu pak umístíme na plotýnku magnetické míchačky a její obsah řádně promícháme. Poté přidáme 5 kapek amoniakálního tlumiče a roztok opět promícháme. Roztok je žlutozelený a měl by vykazovat absorbanci mezi 0,6–0,8.

Fotometrická titrace

Při vlastní titraci budeme přidávat z mikrobyrety odměrný roztok nejprve po 0,2 ml a zaznamenávat absorbanci. Jakmile se budeme blížit k předpokládanému bodu ekvivalence, snížíme objem přidávaného činidla dle potřeby až na 0,005 ml a méně (nejmenší objem, který lze dávkovat mikrobyretou je 0,002 ml).

Titraci opakujeme třikrát.

ÚLOHA č. 10

CHELATOMETRIE A IONTOVĚ SELEKTIVNÍ ELEKTRODY

- *dle návodu ve skriptech*

ÚLOHA č. 11

ANALÝZA SLITIN

- *dle návodu ve skriptech*
- *sestavení aparatury pro elektrogravimetrické stanovení „B“*

ÚLOHA č. 12

MANGANOMETRIE

- *dle návodu ve skriptech*
- *stanovení provádíme s využitím programu LabView, jednotky jsou nastaveny ve V a ne v mV, jak je uvedeno ve skriptech*
- *POZOR! Nezapomínejte na přepínání dávkovaného množství při dávkování 0,02M $KMnO_4$ (po 1 ml, po 0,1 ml)*
- *dříve než ukončíte měření, nezapomeňte vždy uložit naměřené hodnoty – je nutné přepsat cestu k uložení výsledků*

ÚLOHA č. 13

ALKALIMETRIE A KONDUKTOMETRIE

13.1.1. Potenciometrická standardizace 0,1 M odměrného roztoku NaOH na kyselinu šťavelovou

PŘÍPRAVA TITRÁTORU K MĚŘENÍ - KALIBRACE PŘÍSTROJE

! ***POZOR*** Zkontrolujeme zásobní láhev s odměrným roztokem. Ta musí obsahovat nejen dostatečné množství činidla pro práci (na tu postačí přibližně 100 ml), ale je třeba dbát na to, aby nasávací hadička i po skončení práce byla pod hladinou činidla a aby nasávala bez bublinek!

Černým tlačítkem na zadní straně přístroje zapneme automatický titrátor. Pokud jsme práci zahájili výměnou odměrného činidla, umístíme na magnetickou míchačku kádinku, do stojanu nad ni vsuneme titrační špičku a stiskem tlačítka **F1** (rince) přístroje provedeme propláchnutí.

! ***POZOR:*** **VELMI OPATRNĚ** vyjmeme elektrodu z ochranného obalu.

Podržíme tlačítko **F3** po dobu 3–5 s, dokud se nedostaneme do nabídky nastavení konfigurace. Dalším krátkým stiskem **F3** se dostaneme do nabídky automatických metod titrací. Šipkami nahoru a dolů (**F4** a **F5**) vybereme metodu **„exact weak“** (titrace slabé kyseliny). Výběr metody potvrdíme stiskem klávesy **F1** a **STOP**.

Krátkým stiskem tlačítka **F3** měníme způsoby titrace (*EQ* – automatická titrace do bodu ekvivalence, *EP* – automatická titrace do koncového bodu, *MAN* – manuální titrace). Vybereme **EP** a pomocí šipek (**F4** a **F5**) nastavíme hodnotu koncového bodu na pH = 8.8 (fenolftalein).

Stiskem tlačítka **F2** se dostaneme do režimu kalibrace. Na displeji se zobrazí hodnota prvního přednastaveného pufru (pH = 7.00). Opláchneme elektrodu destilovanou vodou, opatrně osušíme, vložíme do tohoto pufru a stiskneme **START**. Vyčkáme, dokud se neobjeví hodnota druhého pufru (pH = 4,01). Elektrodu opláchneme, opatrně osušíme a vložíme do tohoto pufru. Opět stiskneme **START** a počkáme do konce kalibrace. Po vyjmutí z pufru elektrodu opět opláchneme a umístíme do kádinky s měřeným roztokem.

STANDARDIZACE 0,1 M NaOH NA KYSELINU ŠŤAVELOVOU - TITRACE

Na vahách odvážíme s přesností na desetinu mg takové množství dihydrátu kyseliny šťavelové, aby po převedení navážky do odměrné baňky na 100 ml, doplnění baňky po značku vodou a odpipetování 10 ml tohoto roztoku kyseliny šťavelové do titrační baňky byla při titraci spotřeba odměrného roztoku 0,1 M NaOH asi 10 ml.

Navážku dihydrátu kyseliny šťavelové rozpustíme v kádince asi v 50 ml destilované vody, převedeme kvantitativně do odměrné baňky na 100 ml a baňku doplníme destilovanou vodou po značku.

Do vysoké kádinky na 150 ml vložíme teflonové míchadlo, odpipetujeme 10,00 ml připraveného roztoku kyseliny šťavelové a odměrným válcem přidáme 90 ml destilované vody. Kádinku umístíme na magnetickou míchačku.

Elektrodu i titrační špičku uchytíme do držáku, který při držení stisknutého kulatého tlačítka opatrně posuneme dolů, a vnoříme elektrodu se špičkou do kádinky s měřeným vzorkem tak, aby elektroda i špička byly dostatečně ponořeny. Elektroda musí být pod hladinou roztoku ponořena cca 2,5 cm tak, aby byla ponořena i její referentní část. Ponoření titrační špičky pak eliminuje kapkovou chybu.

Spustíme míchání a stiskneme **START**. Titraci provedeme třikrát, koncové spotřeby zapisujeme a spočítáme titr NaOH.

13.2. KONDUKTOMETRICKÁ TITRACE

PŘÍPRAVA VZORKU A JEHO TITRACE

Vzorek v odměrné baňce doplníme destilovanou vodou po značku a roztok dobře promícháme. Do titrační kádinky na 250 ml napipetujeme 5,00 ml roztoku vzorku, vložíme míchadélko a přidáme tolik destilované vody, aby objem roztoku v kádince byl přibližně 200 ml. Do roztoku ponoříme titrační špičku a vodivostní elektrodu - teplotní čidlo připojené ke konduktometru, zapneme míchání.

Dle pokynů vyučujícího budeme přidávat odměrný roztok po 0,1 ml přídavcích pomocí programu LabView. Po každém přídavku 0,1 M NaOH se hodnota *měrné vodivosti*, *konduktivity* κ na konduktometru zaznamená vtomto programu v $\mu S.cm^{-1}$ (příp. $mS.cm^{-1}$).

Titraci ukončíme po přídavku trojnásobného množství odměrného roztoku NaOH, než je množství odpovídající V_{ekv}.

ÚLOHA č. 14

PRŮTOKOVÁ CHRONOPOTENCIOMETRIE

14.2.1. Příprava kalibračních roztoků

Předem vypočítanou navážku kyseliny askorbové rozpustíme v destilované vodě tak, abychom získali 500 ml základního roztoku kyseliny askorbové o koncentraci 100 mg/dm^3.

Z tohoto roztoku připravíme do pěti 50 ml odměrných baněk kalibrační roztoky kyseliny askorbové o koncentraci 20 mg/dm^3, 30 mg/dm^3, 40 mg/dm^3, 50 mg/dm^3 a 60 mg/dm^3, které doplníme po rysku roztokem elektrolytu R-020T. Jako metodu vyhodnocení použijeme metodu kalibrační křivky.

Jako slepý vzorek (blank) použijeme roztok elektrolytu R-020T.

14.2.2. Příprava vzorku k analýze

Vitamínové preparáty:

Tabletu vitamínového preparátu rozpustíme přibližně ve 30 ml destilované vody a přefiltrujeme do odměrné baňky na 100 ml (doplníme po rysku destilovanou vodou). V případě nutnosti upravíme odplyněním v ultrazvukové lázni.

Do odměrné baňky na 50 ml napipetujeme 10 ml vzorku vitamínového preparátu a doplníme po rysku destilovanou vodou. Z takto připraveného roztoku odpipetujeme do odměrné baňky na 50 ml 10 ml roztoku (příp. 15 ml roztoku, reálný vzorek je před analýzou potřeba vhodně upravit) a doplníme elektrolytem R-020T. Roztok je tímto připraven k analýze, každý vzorek proměříme 5x.

14.2.3. Měřenímkalibračních roztoků a vzorku obsahujícího vitamín C, sestavení kalibrační závislosti

POZOR - DŮSLEDNĚ DODRŽUJTE VŠECHNY KROKY!

A. PŘÍPRAVA PŘÍSTROJE K MĚŘENÍ

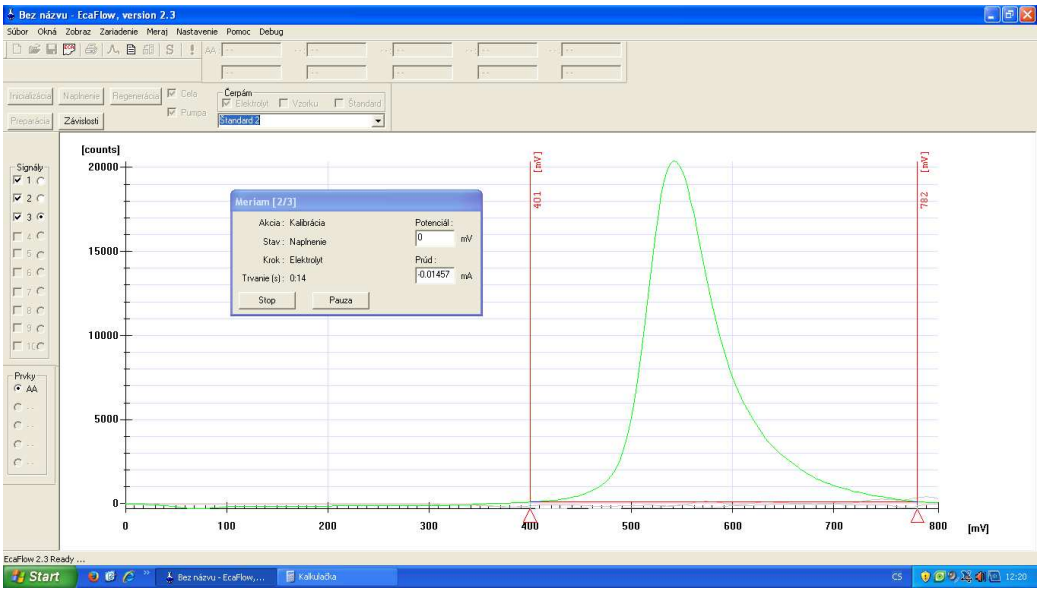
1. Zapneme přístroj EcaFlow 150GLP.
2. Zapneme počítač.
3. Spustíme program EcaFlow Autosampler.
4. V okně **NASTAVENÍ** zvolíme číslo metody – metodu č. 36 Ascorbic acid (NASTAVENÍ – VŠEOBECNÉ).
5. Změníme hodnotu průtoku na **6 ml/min** (NASTAVENÍ – MĚŘENÍ) a stiskneme „**OK**“.
6. Barevně označené hadičky ponoříme do příslušných roztoků:

MODRÁ	ČERVENÁ	ŽLUTÁ
Roztok elektrolytu R-020T (základní elektrolyt, který najdeme v aplikačním listu metody)	Blank	Standard o známé koncentraci (20 mg/dm^3)

7. Přítlačné ramínko čerpadla zasuneme do pracovní polohy (zacvakne).
8. Zkontrolujeme, zda máme kádinku pod držákem filtru, potom klikneme na možnost **NAPLNĚNÍ**, systém se automaticky naplní příslušnými roztoky.
9. Odstraníme kádinku a zapojíme hadičku cely.
10. Stiskneme možnost „**PREPARÁCIA**“, tím spustíme přípravu elektrody na měření (proces trvá 1−12 minut).

B. PŘÍPRAVNÉ MĚŘENÍ

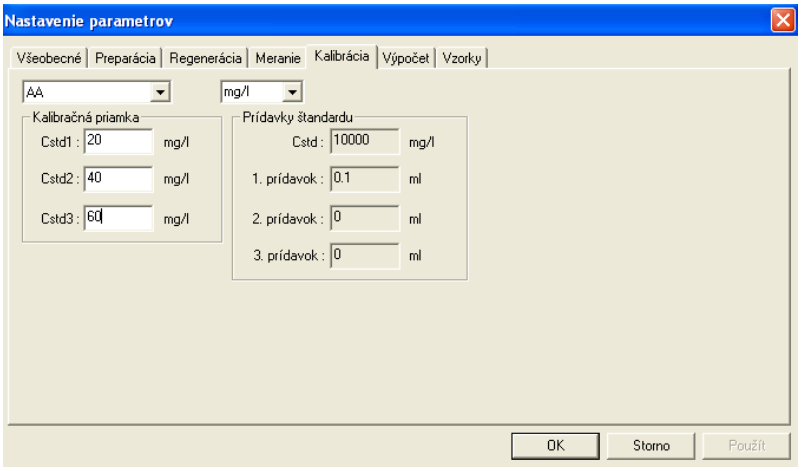
1. Přepneme na bezkalibrační mód měření (NASTAVENÍ – VŠEOBECNÉ).
2. Přepneme na měření pozadí „**před každým měřením**“ (NASTAVENÍ – VŠEOBECNÉ).
3. Definujeme standard 20 mg/dm^3 jako přípravné měření. Zadáme 1 opakování a zaškrtneme možnost „**analyzuj**“ (NASTAVENÍ – VZORKY – PŘIDAT).
4. Vše potvrdíme „**OK**“.
5. Stiskneme možnost **SPUSTIT** a následně **START**.
6. Naměřenou křivku porovnáme se vzorovým záznamem (na obr. 14.1 nebo v aplikačním listě). Pokud záznam vyhovuje, přistoupíme k analýze vzorku.



Obr. 14.1: Vzorový záznam signálu

C. ANALÝZA STANDARDŮ A VZORKU

1. Definujeme standardy 20 mg/dm^3, 30 mg/dm^3 a 40 mg/dm^3 (standardy 50 mg/dm^3 a 60 mg/dm^3 je nutné definovat jako vzorky), definujeme také připravené vzorky na analýzu, tj. pojmenujeme analyzovaný vzorek (příp. zadáme ředění), zadáme počet opakování 3 a zaškrtneme možnost „**analyzuj**“, příp. odškrtneme pravým tlačítkem myši připravený vzorek, aby se opětovně neanalyzoval (NASTAVENÍ – VZORKY – PŘIDAT).
2. Přepneme na techniku „**kalibrační přímky**“ (NASTAVENÍ – VŠEOBECNÉ).
3. Přepneme na „**s každým novým vzorkem nebo standardem**“ (NASTAVENÍ – VŠEOBECNÉ).
4. V levém prázdném okně nastavíme možnost AA, zadáme jednotky „**mg/l**“ a koncentrace standardních roztoků (dle obr. 14.2 – nastavení parametrů) (NASTAVENÍ – KALIBRACE).



Obr. 14.2: Příklad nastavení parametrů

5. Žlutou hadičku zasuneme do standardu č.1, stiskneme možnost **SPUSTIT** ! a následně stiskneme **START**, tímto odstartujeme kalibraci. Přístroj nejprve nasaje elektrolyt a poté se objeví upozornění na výměnu elektrolytu za standard č.1, odklikneme OK a tím spustíme analýzu.

6. Následně se objeví upozornění na výměnu standardu, nejprve provedeme výměnu standardu ponořním žluté hadičky a poté odklikneme OK.
7. Po ukončení kalibrace na grafu vhodně nastavíme kurzory pro jednotlivé standardy.
8. Pokud je vzorek zlehka zakalen, odpojíme hadičku cely, do držáku filtru připojíme filtr a opět připojíme hadičku. Žlutou hadičku ponoříme do analyzovaného vzorku, stiskneme možnost **SPUSTIT** a následně START.
9. Po ukončení měření na grafu vhodně nastavíme kurzory u analyzovaného vzorku.
10. Označíme možnost ZÁVISLOSTI a zkontrolujeme přesnost měření.
11. V okně „**show results**“ nalezneme naměřené hodnoty.
12. Dle pokynů vyučujícího si uložíme jednotlivá měření pro vyhodnocení do předem vytvořené složky (*výstupní veličiny*: přechodový čas τ v s, odezva signálu v mV)

D. UKONČENÍ PRÁCE S PŘÍSTROJEM

1. Hadičky vyjmeme z jednotlivých roztoků a zasuneme je do kádinky s destilovanou vodou.
2. Odpojíme hadičky cely a injekční stříkačkou z nich vysajeme zbytek tekutiny.
3. Filtr necháme zapojený v držáku filtru a umístíme pod něj kádinku, klikneme na možnost NAPLNĚNÍ a promyjeme hadičky i filtr.
4. Ukončíme program EcaFlow Autosampler.
5. Hadičky umístíme do prázdné kádinky a odpojíme filtr.
6. Odpojíme ramínko čerpadla (vycvaknout).
7. Pod držák filtru vrátíme prázdnou kádinku.
8. Přístroj vypneme a zavřeme víko.

Poznámka:
Pokud jsou píky symetrické, jako kvantitativní ukazatel obvykle používáme výšku v maximu píku. Pokud chceme pracovat přesněji, měříme plochu píku.. Pro zjištění plochy nejjednodušeji postupujeme tak, že pík aproximujeme trojúhelníkem, protože pak pro výpočet plochy plochy můžeme použít vzorec pro výpočet obsahu trojúhelníku.
Přesnější postupy jsou mechanická integrace (planimetrie) nebo vážení vystříhaných píků.

ÚLOHA č. 15

ARGENTOMETRIE

- *dle návodu ve skriptech*

ÚLOHA Č. 16

KVALITATIVNÍ ANALÝZA – DŮKAZY KATIONTŮ A ANIONTŮ

***CÍLE ÚLOHY**:*

- cílem kvalitativní analýzy je určení přítomnosti jednotlivých složek v analyzovaném vzorku
- důkazy jednotlivých iontů (kvalitativní analýza) obvykle předchází následující stanovení (kvantitativní analýzu)

SCHÉMA PRACOVNÍHO POSTUPU:

16.1. Ověření důkazů analytických reakcí kationtů - selektivní reakce kationtů
- 16.1.1. Analytické reakce Li^+, Na^+, K^+, NH_4^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Ba^{2+}.
  - 16.1.1.1. Plamenové reakce.
  - 16.1.1.2. Důkazy činidly
- 16.1.2. Analytické reakce skupiny málo rozpustných chloridů (Ag^+, Pb^{2+}, Hg_2^{2+}).
- 16.1.3. Analytické reakce skupiny sulfidů srážejících se v kyselém prostředí (Hg^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}) – orientace ve vzorku vybranými skupinovými činidly (HCl, H_2SO_4, H_2S, $(NH_4)_2S$, NH_3, NaOH).
- 16.1.4. Analytické reakce skupiny hydroxidů a zbývajících sulfidů srážejících se hydrogensulfidem amonným (Al^{3+}, Cr^{3+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}).

16.2. Ověření důkazů analytických reakcí aniontů - selektivní reakce aniontů.
- 16.2.1. Analytické reakce skupiny málo rozpustných barnatých solí - SO_4^{2-}, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, $BaCl_2$ jako skupinové činidlo, redoxní skupinové reakce aniontů ($KMnO_4$, I_2).
- 16.2.2. Analytické reakce skupiny málo rozpustných stříbrných solí rozpustných v 2M HNO_3 - CrO_4^{2-}, PO_4^{3-}, $B(OH)_4^-$, CO_3^{2-}, $BaCl_2$ a $AgNO_3$ jako skupinová srážecí činidla, redoxní skupinové reakce aniontů ($KMnO_4$, I_2, HI).
- 16.2.3. Analytické reakce skupiny aniontů tvořících stříbrné soli málo rozpustné v 2M HNO_3 (Cl^-, Br^-, I^-, S^{2-}, HS^-),
- 16.2.4. Analytické reakce skupiny aniontů NO_2^-, NO_3^-, ClO_4^-).

16.3. Vyhodnocení kvalitativního rozboru neznámých vzorků kationtů a aniontů.

PRINCIP:

Jedním z úkolů chemie je důkaz a stanovení základních anorganických kationtů či aniontů. Pro důkaz volíme vhodnou analytickou reakci, která musí být sledovatelná, dostatečně rychlá, citlivá a co nejvíce specifická. Nejčastěji se používají reakce spojené se vznikem sraženin, změnou zbarvení či vývojem charakteristického plynu. Ve vodných roztocích se kvalitativní analýza provádí obvykle přímo, u ostatních materiálů je potřeba nejprve získat vhodný vzorek pro analýzu (kovy a slitiny rozpouštíme, horniny a minerály tavíme či pečeme a následně rozpouštíme, organické materiály spalujeme či mineralizujeme).

Podle mechanismu lze při důkazu základních iontů používat reakce acidobazické, srážecí, redoxní nebo komplexotvorné. Podle rozsahu látek, které lze reakcí dokázat rozlišujeme reakce skupinové, selektivní a specifické. Skupinové reakce jsou charakteristické pro určitou skupinu látek. Selektivní reakce dovolují za předepsaných podmínek charakterizovat omezený počet složek. Vhodnou kombinací několika selektivních reakcí pak můžeme dokázat určitý ion. Specifické reakce udávají za předepsaných podmínek přítomnost jediné látky či iontu.

Při dělení a důkazech látek rozlišujeme tedy tři typy reakcí:

1. Reakce skupinové – jsou takové, při kterých reaguje celá skupina látek stejně. Vyčleňují tedy ze vzorku poměrně širokou skupinu látek. Skupinové reakce jsou hlavním vodítkem kvalitativní analýzy a dovolují charakterizovat přítomnost určité skupiny iontů v roztoku, na něž potom zkoušíme selektivní reakce. Srážecí skupinové reakce také slouží k oddělování jednotlivých skupin iontů. Skupinové reakce slouží k tomu, abychom nepřehlédli přítomnost některé složky v roztoku a usnadňují volbu selektivních činidel.

Tab.: Příklady činidel pro skupinové reakce

činidlo	*skupina kationtů*	*činidlo*	*skupina aniontů*
zředěná HCl	nerozpustné chloridy	Ba^{2+}	nerozpustné soli
zředěná H_2SO_4	nerozpustné sírany	Ag^+	nerozpustné soli
1M $H_2C_2O_4$	Ca^{2+}	$KMnO_4$ (kys.)	redukující anionty
Na_2CO_3	těžké kovy	I_2	redukující anionty

$(NH_4)_2S$	těžké kovy	KI (kys.)	oxidující anionty
H_2S	sulfidy neroz. v kyselinách	HCl	těkající plyny
KOH	neamfoterní hydroxidy		
NH_3 (aq)	zásadité soli, roz. amosoli		
K_2CrO_4			
Na_2HPO_4			
KI			

2. Reakce selektivní – tyto reakce rozdělují vyčleněnou skupinu látek na menší podskupiny (podtřídy), jsou to reakce, při kterých s určitým selektivním (výběrovým) činidlem reaguje stejným způsobem jen několik iontů téže analytické třídy.

3. Reakce specifické – jsou charakteristické pouze pro jednu určitou látku,.tj. se specifickým činidlem reaguje charakteristickým způsobem jen jediný ion vedle řady dalších přítomných iontů.

POSTUP PROVEDENÍ JEDNOTLIVÝCH SELEKTIVNÍCH REAKCÍ:

16.1. OVĚŘENÍ DŮKAZŮ ANALYTICKÝCH REAKCÍ KATIONTŮ

16.1.1. ALKALICKÉ KOVY A KOVY ALKAL. ZEMIN – analytické reakce Li^+, Na^+, K^+, NH_4^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Ba^{2+}.

Kationty alkalických kovů Li^+, Na^+, NH_4^+ jsou vesměs bezbarvé, jejich soli dobře rozpustné a netvoří stabilní komplexy.
Výběr selektivních reakcí je poměrně chudý, navíc jsou rušeny přítomností těžkých kovů.
Podobně lze charakterizovat kationty kovů alkalických zemin Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}.
Selektivními chemickými reakcemi je emise některých atomů v plameni - charakteristické zbarvení a charakteristické čáry ve spektru (Li, Na. K, Ca, Sr, Ba). Některé reakce Li^+ se podobají reakcím Mg^{2+}. Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+} vydělíme ze vzorku spolu s Pb^{2+} srážením SO_4^{2-} v alkoholickém prostředí.

16.1.1.1. PLAMENOVÉ REAKCE

Plamenové zkouška využívají schopnosti některých prvků zabarvit nesvítivý plamen. Platinový drátek (lze nahradit i jiným kovem) zvlhčíme ve zředěné HCl, vyžíháme a naneseme vzorek analyzované látky. Drátek vložíme do spodní části oxidačního plamene a sledujeme zabarvení plamene.

Poznámka: *Plamen Bunsenova kahanu se skládá ze tří zón. Malá vnitřní zóna je tmavá a obsahuje dosud neshořelý plyn a vzduch. Má poměrně nízkou teplotu. Střední zóna je zřetelně modře zbarvená. Hovoří se o ní jako o svítivém, redukčním plameni. Sestává z hořícího plynu s obsahem CO. Vnější zóna představuje nesvítivý, oxidační plamen. Tvoří bezbarvou koronu, kde dochází k úplnému shoření plynu na CO_2. Má nejvyšší teplotu a vyznačuje se přítomností volného O_2.*

1. Li^+

3 kapky roztoku vzorku a 1 kapka konc. HCl do porc. kelímku (pracujeme v digestoři), necháme odpařit. Po ochlazení přidáme několik kapek izoamylalkoholu, který necháme krátce působit. Čirý roztok vneseme do plamene platinovým drátkem → KARMÍNOVĚ ČERVENÉ zbarvení plamene.

2. Na^+

a) 3 kapky vzorku necháme odpařit v porcelánové misce, k odparku přidáme 1 kapku konc. HCl. Takto připravený vzorek vneseme Pt -drátkem do plamene → INTENSIVNĚ ŽLUTOORANŽOVÉ zbarvení plamene.

b) *roztok odstředíme (popř. povaříme s MgO). Na podložní sklíčko vneseme 1 kapku čirého roztoku a 1 kapku octanu uranylo-hořečnatého. Pod mikroskopem pozorujeme vzniklé krystaly.*

3. K^+

a) čirý roztok odpaříme v kelímku do sucha. Do vychládlého kelímku přidáme 1 kapku konc. HCl. Vzniklou kašovitou hmotu vneseme vyčištěným Pt-drátkem do plamene. Zbarvení plamene pozorujeme přes kobaltové sklo (výraznější zbarvení) → ČERVENOFIALOVÉ zbarvení plamene.

b) ***DŮKAZ DIPIKRYLAMINEM***

Na podložní sklíčko dáme 1 kapku roztoku vzorku + 1 kapku dipikrylaminu a pozorujeme pod mikroskopem. Krystaly vznikají po 2 -3 min.

Obsahuje-li vzorek NH_4^+ → odpaříme 1 ml vzorku v porcelánové misce do sucha a odparek žíháme přímo v plameni do slabě červeného žáru (pomocí kleští). Po ochlazení přidáme 1 ml destilované vody a vneseme do centrifugační zkumavky, přidáme MgO. Protřepeme, povaříme a odstředíme.

4. Ca^{2+}

a) důkaz plamenem → CIHLOVĚ ČERVENÉ zbarvení plamene

b) ***DŮKAZ KYS. ŠŤAVELOVOU***

1 kapku vzorku a 1 kapku kys. šťavelové na podložní sklíčko nebo skleněnou kapkovací destičku → vznik BÍLÉ KRYSTALICKÉ SRAŽENINY. Těžké kovy odstraníme pomocí MgO.

5. Ba^{2+}

a) důkaz plamenem → ZELENÉ zbarvení plamene

b) ***DŮKAZ KYS. SÍROVOU***

1 kapku vzorku a 1 kapku 1 M H_2SO_4 → vznik BÍLÉ JEMNĚ KRYSTALICKÉ SRAŽENINY

c) ***DŮKAZ CHROMANEM DRASELNYM***

V slabě kyselém (CH_3COOH), neutrálním nebo alkalickém (NH_3, NaOH) prostředí → vznik ŽLUTÉ SRAŽENINY.

16.1.1.2. DŮKAZY ČINIDLY

1. NH_4^+

a) ***DŮKAZ NESSLEROVÝM ČINIDLEM***

1 kapku vzorku a 1 kapku Nesslerova činidla → tvoří se HNĚDÁ SRAŽENINA

b) ***DŮKAZ JAKO NH_3 V PLYNNÉ FÁZI***

3 kapky roztoku vzorku a 3 kapky 10% NaOH zahříváme opatrně v porcelánovém kelímku na síťce. Kelímek zakryjeme kouskem filtračního papíru s 1 kapkou Nesslerova činidla → tvoří se HNĚDÁ SKVRNA (filtrační papír musí být stále ovlhčený), ovlhčený pH papírek MODRÁ.

2. Mg^{2+}

a) ***DŮKAZ MAGNEZONEM***

1 kapku roztoku vzorku a 1 kapku magnezonu (4-nitrobenzenazoresorcin nebo 4-nitrobenzenazo-1-naftol) a 1 - 2 kapky 10% NaOH → vzniká CHRPOVĚ MODRÁ SRAŽENINA. Při slepém pokusu bez přítomnosti Mg^{2+} se žlutý roztok mění na fialový. Obsahuje-li roztok těžké kovy (vznik sraženiny nebo zákalu s čerstvým NH_4HS) - přidáváme k 1 ml vzorku po kapkách roztok NH_4HS , odstředíme).

b) ***DŮKAZ THIAZOLOVOU (TITANOVOU) ŽLUTÍ***

Provedeme analogicky jako pokus s magnezonem → vzniká ČERVENÁ SRAŽENINA. Slepý pokus dává žlutý až oranžový roztok.

16.1.2. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY MÁLO ROZPUSTNÝCH CHLORIDŮ (Ag^+, Pb^{2+}, Hg_2^{2+})

Pb^{2+}, Ag^+, Hg_2^{2+} se po přídavku 2 M HCl srážejí ve formě málo rozpustných chloridů (vesměs bílé sraženiny):

- $PbCl_2$ lze z promyté sraženiny digerovat horkou vodou (po ochlazení se tvoří opět krystaly), $PbCl_2$ je vhodné před srážením chloridů vysrážet 1 M H_2SO_4.
- AgCl amoniakem (1:1) - po okyselení 2 M HNO_3 se opět vyloučí bílá sraženina,
- Hg_2Cl_2 působením amoniaku zčerná.

1. Hg_2^{2+}

a) ***DŮKAZ AMONIAKEM***

K 5 kapkám vzorku přidáváme 2 M HCl po kapkách tak dlouho, až se vytvoří sraženina → BÍLÁ sraženina, kterou odstředíme. Čirý roztok opatrně slijeme. Ke sraženině přikápneme několik kapek konc. NH_3 a obsah zkumavky protřepeme → bílá sraženina ZČERNÁ, později ZEŠEDNE. Můžeme provést i na kapkovací destičce nebo na filtračním papíře. K 1 kapce vzorku přidáme 1 kapku 2 M HCl a 1 kapku konc. NH_3.

b) ***DŮKAZ KATALYTICKOU OXIDACÍ HLINÍKU (Hg_2^{2+}, Hg^{2+}, Hg)***

Na kapkovací destičku postupně dáme 1 kapku vzorku a 1 kapku 2 M HNO_3. V tomto roztoku smočíme špičku pipetky a poškraábeme její ostrou hranou vyhlazený kousek hliníkového plíšku Pozitivní reakce → tvorba BÍLÉHO POVLAKU v místě vrypů během 10 min. Po setření se povlak tvoří znovu.

2. Ag^+

a) ***REDOXNÍ DŮKAZ***

Na filtrační papír dáme po 1 kapce amoniakálního roztoku AgCl , 0,05 M $Mn(NO_3)_2$ a 1 M NaOH. Skvrna ZČERNÁ, tj. důkaz Ag^+ ve vzorku. Slepý pokus: v nepřítomnosti Ag^+ skvrna zvolna hnědne, ale nezčerná (oxidace $Mn(OH)_2$ vzdušným kyslíkem).

b) ***MIKROSKOPICKY***

K 5 kapkám vzorku přidáváme po kapkách 2 M HCl do úplného vysrážení, odstředíme a sraženinu promyjeme cca 2 ml 2 M HCl. K promyté a odstředěné sraženině přidáváme po kapkách konc. NH_3 a příp. nerozpuštěný zbytek odstředíme. Kapku čirého roztoku pipetkou naneseme na podložní Sklíčko, necháme volně na vzduchu odpařovat. Vznikající sraženinu pozorujeme pod mikroskopem

3. Pb^{2+}

a) ***DŮKAZ KYS. SÍROVOU***

K 1 kapce roztoku vzorku přidáme 1 - 2 kapky 1 M H_2SO_4 → vzniká BÍLÁ SRAŽENINA, která přídavkem 1 kapky hydrogensulfidu amonného ZČERNÁ nebo přídavkem několika kapek 10 % NaOH se rozpustí. Provádíme na skleněné kapkovací desce.

b) ***DŮKAZ CHROMANEM DRASELNÝM***

Ke 3 kapkám roztoku vzorku přidáváme po kapkách 1 M H_2SO_4 až do úplného vysrážení, odstředíme a sraženinu promyjeme asi 1 ml 1 M H_2SO_4 a také destilovanou vodou, ke které přidáme2 - 3 kapky 1 M octanu sodného. Po odstředění slijeme promývací vodu, ke sraženině přidáme 5 kapek 5 % K_2CrO_4, sraženinu zvíříme, zahříváme několik minut ve vodní lázni a opět odstředíme. Vznik ŽLUTÉ SRAŽENINY dokazuje přítomnost Pb^{2+}. V přítomnosti většího množství Ba^{2+} je sraženina pouze zřetelně nažloutlá, proto provedeme v tomto případě konverzi na PbS.

16.1.3. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY SULFIDŮ SRÁŽEJÍCÍCH SE V KYSELÉM PROSTŘEDÍ (Hg^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Sn^{2+}) - orientace ve vzorku vybranými skupinovými činidly (HCl, H_2SO_4, H_2S, $(NH_4)_2S$, NH_3, NaOH).

V prostředí okyseleném 2 M HCl (po odstranění málo rozpustných chloridů) se plynným H_2S nebo sulfanovou vodou srážejí sulfidy HgS, CuS (oba černé), CdS (žlutý), Sb_2S_3 (oranžově červený), SnS (hnědý), SnS_2 (špinavě žlutý) a PbS (černý) – i když srážení $PbCl_2$ není úplné.

Roztokem NH_4HS lze ze sraženiny digerovat SnS_2.

Potíže činí důkaz Cd^{2+} - důvodem je nedostatek selektivních reakcí. Optimální důkaz vede přes amoniakální výluh, ve kterém jsou rozpustné aminokomplexy Cd(II) a Cu(II). Cu(II) se odstranní redukcí kovovým Fe v kyselém prostředí a Cd^{2+} se dokáže sulfanem - žlutá sraženina.

Snadno hydrolyzující ionty Bi^{3+}, Sb^{3+}, Sn^{2+} a Sn(IV) udržíme v roztoku jen v silně kyselém prostředí - případný zákal hydrolytických produktů odstraníme *otupením* kyselosti octanem sodným. Důkladně promytou sraženinu poté opět rozpustíme v HCl pro další použití.

Vhodným dělením je i využití *amfoterních vlastností* hydroxidů $Sb(OH)_3$, $Sn(OH)_2$ a $Sn(OH)_4$ - ty se rozpouštějí v nadbytku alkalického hydroxidu (např. oddělení Sb^{3+} od Bi^{3+}).

Sloučeniny Sn^{2+} jsou na vzduchu nestálé a obsahují vždy Sn(IV) jako produkt oxidace vzdušným O_2.

1. Hg^{2+}

a) ***DŮKAZ CHLORIDEM CÍNATÝM***

Přibližně 100 mg pevného $SnCl_2.H_2O$ přidáme ke 2 ml konc. HCl ve zkumavce a zahříváme do úplného rozpuštění (roztok musí být čirý). K horkému roztoku přikapáváme roztok vzorku (příp.

filtrát po odstranění nerozpustných chloridů) → přítomnost Hg^{2+} se projeví BÍLOU, rychle ŠEDNOUCÍ SRAŽENINOU.

b) ***DŮKAZ KATALYTICKOU OXIDACÍ HLINÍKU*** - " viz důkaz Hg_2^{2+}

c) ***DŮKAZ JODIDEM DRASELNÝM***

1 kapka roztoku vzorku a 1 kapka 10 % KI → vzniká ČERVENÁ SRAŽENINA, která se dalším přídavkem KI rozpouští. Je-li přítomen Bi^{3+} - na porcelánovou kapkovací desku se k 1 kapce 10 % $CuSO_4$ přidá 1 kapka 5 % KI, špetka pevného Na_2SO_3 a 1 - 2 kapky 2 M HCl do ODBARVENÍ vyloučeného jodu. K BÍLÉ sraženině CuI přidáme kapku vzorku → ČERVENÁ SRAŽENINA .

2. Cu^{2+}

a) ***DŮKAZ KYANOŽELEZNATANEM***

K 5 kapkám roztoku vzorku přidáme konc. NH_3 do zřetelného přebytku (amoniak je cítit), směs odstředíme → MODRÝ roztok svědčí o přítomnosti mědi (možnost záměny s Ni^{2+}). K 1 kapce tohoto roztoku na porcelánové kapkovací desce přidáme konc. kyselinu octovou do světle modrozeleného zbarvení a 1 kapku $K_4[Fe(CN)_6]$ → v přítomnosti Cu^{2+} vzniká ČERVENOHNĚDÁ SRAŽENINA

b) ***DŮKAZ DIETHYLDITHIOKARBAMINANEM (KUPRALEM)***

Amoniakální výluh získáme stejně jako v předchozím důkazu. K 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 přídavku 1 ml $CHCl_3$ a protřepání se v něm rozpustí na hnědý roztok. Provádíme ve zkumavce.

3. Cd^{2+}

K 1 ml roztoku vzorku přidáváme konc. NH_3 do zřetelného zápachu po amoniaku (po protřepání) a odstředíme. Čirý roztok opatrně slijeme do čisté zkumavky, přídavkem 1 M H_2SO_4 okyselíme do zřetelně kyselé reakce (kontrola pH papírkem, v přítomnosti Cu^{2+} poslouží jako indikátor i přechod z modrofialového zbarvení do světle blankytně modrého, příp. až do odbarvení při nižších koncentracích mědi). Přidáme špetku práškového železa a obsah zkumavky zahříváme několik minut na vodní lázni. Po odstředění čirý roztok slijeme a ještě okyselíme 2 - 3 kapkami 1 M H_2SO_4.

Přídavkem sulfanové vody vznikne v přítomnosti Cd^{2+} JASNĚ ŽLUTÁ SRAŽENINA (nahnědlé zbarvení svědčí o nedokonalém odstranění Cu^{2+} či Ag^{+} nebo o nedostatečné kyselosti roztoku, začíná se srážet FeS).

4. Sn^{2+}, Sn^{4+}

K 1 ml konc. HCl v porcelánovém kelímku přidáme 1 - 2 kapky zkoumaného roztoku. V přítomnosti Cu^{2+} přidáme ještě špetku prachu Fe. Obsah kelímku promícháme zkumavkou, naplněnou vodou, která musí být zvnějšku zcela čistá. Zkumavku s kapkou tohoto roztoku na vnější straně vnášíme do nesvítivého plamene a po chvilce pozorujeme JASNĚ MODROU luminiscenci na stěnách zkumavky (pozor: zkumavka může po delším ohřívání prasknout!).

16.1.4. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY HYDROXIDŮ A ZBÝVAJÍCÍCH SULFIDŮ SRÁŽEJÍCÍCH SE HYDROGENSULFIDEM AMONNÝM (Al^{3+}, Cr^{3+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}).

Al^{3+} a Cr^{3+} netvoří ve vodném prostředí sulfidy, v amoniakálním prostředí se srážejí jejich hydroxidy (bílý, resp. zelený).

Ostatní kationty se srážejí jako sulfidy, převážně černé barvy, ZnS je bílý a MnS růžový.

Reakce Al^{3+} a Cr^{3+} jsou málo selektivní a nevýrazné - provádíme proto pečlivě.

Pro jejich oddělení od ostatních kationtů této skupiny využíváme amfoterního charakteru jejich hydroxidů.

Do alkalického výluhu při současné oxidaci Cr(III) na Cr(VI) H_2O_2 přejdou ionty Al^{3+}, Cr^{3+} a Zn^{2+}.

V amoniakálním výluhu můžeme dokazovat Ni^{2+}.

1. Al^{3+}

a) ***DŮKAZ ALIZARINEM S (1,2-DIHYDROXYANTRACHINON-3-SULFONAN)***

K 10 kapkám 10% NaOH přidáme 1 - 2 kapky roztoku vzorku a po protřepání se směs

odstředíme. Na porcelánovou kapkovací desku naneseme 1 kapku čirého alkalického roztoku, přidáme 1 kapku alizarinu S a přikapáváme 2 M CH_3COOH až se FIALOVÉ zbarvení změní → v přítomnosti Al^{3+} na CIHLOVĚ ČERVENÉ, slepý pokus má zbarvení žluté.

b) ***DŮKAZ KVERCETINEM***

Ke kapce alkalického výluhu vzorku (viz předchozí důkaz) na skleněné kapkovací desce Přidáme 1 kapku 2 M CH_3COOH a kapku kvercetinu (činidla) a pozorujeme při osvětlení UV lampou (je nutné stínit před viditelným světlem) v přítomnosti Al^{3+} ZELENOU FLUORESCENCI, zatímco slepý pokus žádnou fluorescenci nevykazuje.

2. Cr^{3+}

DŮKAZ VZNIKEM PEROXIDU CHROMU (VI)

K 1 ml 10 % NaOH přidáme 5 kapek roztoku vzorku a 1 kapku 5 % H_2O_2, obsah zkumavky krátce povaříme a odstředíme. Žlutozelený čirý roztok (je-li Cr^{3+} přítomen ve vzorku) slijeme do zkumavky, k části roztoku přidáme1 kapku 5 % H_2O_2, 1 ml izoamylalkoholu a okyselíme po kapkách 1 M H_2SO_4 do vzniku modrého zbarvení, které ihned vytřepeme do izoamylalkoholu → MODRÝ EXTRAKT dokazuje přítomnost chromu ve vzorku.

3. Fe^{3+}

a***) DŮKAZ THIOKYANATANEM***

Na kapkovací desce k 1 kapce kyselého roztoku vzorku přidáme 1 kapku 20% thiokyanatanu amonného → v přítomnosti Fe^{3+} vznikne INTENZIVNĚ ČERVENÉ ZBARVENÍ.

b) ***DŮKAZ KYANOŽELEZNATANEM DRASELNÝM***

Na kapkovací desce přidáme k 1 kapce roztoku vzorku po 1 kapce konc. HCl a 10 % $K_4[Fe(CN)_6]$ → v přítomnosti Fe^{3+} vznikne MODRÁ SRAŽENINA.

c) ***DŮKAZ KYSELINOU 5-SULFOSALICYLOVOU***

Na kapkovací desce k 1 kapce kyselého roztoku vzorku přidáme krystalky pevného činidla → v přítomnosti Fe^{3+} vznikne FIALOVÉ nebo ČERVENÉ ZBARVENÍ.

4. Mn^{2+}

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_3, na špičku lopatičky pevný KIO_4 a zahříváme k varu. Po několika minutách se v přítomnosti Mn^{2+} roztok začne barvit FIALOVĚ. Pokud se zbarvení neobjeví ani po několika minutách, přidáme další KIO_4 a dále zahříváme. Pozor na záměnu se slabě růžovým zbarvením Co^{2+}.

5. Co^{2+}

a) ***DŮKAZ THIOKYANATANEM***

K 1 kapce neutrálního nebo slabě kyselého roztoku vzorku přidáme zrníčko NH_4SCN (v přítomnosti Fe^{3+} přidáváme pevný NaF do odbarvení intenzivního červeného zbarvení za míchání opatrným foukáním přes pipetku, čímž se snažíme zabránit nadbytku NaF) a 1 kapku izoamylalkoholu → foukáním přes pipetku se v přítomnosti Co^{2+} modré zbarvení EXTRAHUJE do vnější organické fáze.

b) ***DŮKAZ 1-NITROSO-2-NAFTOLEM***

Na filtrační papír kápneme 1 kapku roztoku vzorku, 1 kapku 1 M octanu sodného a 1 kapku činidla. Po chvíli přidáme 1 kapku 10 % HCl. V přítomnosti Co^{2+} zůstává HNĚDOČERVENÁ SKVRNA na papíře (srovnávací pokus s Cu^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{3+} se doporučuje).

6. Ni^{2+}

DŮKAZ DIACETYLDIOXIMEM

K 1 ml 2 M NH_3 přidáme 3 kapky vzorku a po protřepání odstředíme. Čirý roztok slijeme a přidáme 1 - 2 kapky činidla → v přítomnosti Ni^{2+} vznikne RŮŽOVĚ ČERVENÁ SRAŽENINA. Důkaz můžeme provést i na filtračním papíře: k 1 kapce roztoku vzorku se přidame 2 kapky roztoku činidla a papír okouříme amoniakem (nad hrdlem lahvičky s konc. NH_3) → objeví se RŮŽOVÁ SKVRNA, která se nedá spláchnout pod tekoucí vodou.

16.2. OVĚŘENÍ DŮKAZŮ ANALYTICKÝCH REAKCÍ ANIONTŮ

16.2.1. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY MÁLO ROZPUSTNÝCH BARNATÝCH

SOLÍ - SO_4^{2-}, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, $BaCl_2$ jako skupinové činidlo, redoxní skupinové reakce aniontů ($KMnO_4$, I_2).

Barnaté soli jsou rozpustné v minerálních kyselinách (výjimkou je $BaSO_4$).
Tuto vlastnost lze využít pro důkaz SO_4^{2-}, ale BaS_2O_3 se rozpouští za rozkladu na SO_2 a koloidní síru, která mléčně zakalí zkoumaný roztok a znemožní pozorování sraženiny $BaSO_4$.
Je-li ve vzorku $S_2O_3^{2-}$ - použijeme jako srážecí činidlo $SrCl_2$.
Důkaz SO_4^{2-} je pro nedostatek citlivých a selektivních reakcí spojen s určitými obtížemi, je nutné přesně dodržovat pracovní postup.
$S_2O_3^{2-}$ - po okyselení vzniká mléčný zákal, to je vhodné pro důkaz přímo ve vzorku.
SO_3^{2-} - snadno se oxidují vzdušným O_2 na sírany , to se projevuje slabým mléčným zákalem.Vznik sraženiny BaF_2 pozorujeme často až po určité době při intenzivním protřepávání.
SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$ - způsobují odbarvování roztoku jodu. Je však nutná kontrola pH před přídavkem jodu. V silně alkalickém prostředí roztoku SiO_3^{2-} se jod odbarvuje disproporcionací i v nepřítomnosti redukujících látek.

1. SO_4^{2-}

DŮKAZ Ba^{2+} nebo Sr^{2+}

Na skleněnou kapkovací desku naneseme 1 kapku roztoku vzorku a 1 kapku 2 M HCl a 1 kapku 0,05 M $BaCl_2$ → vytvoří se BÍLÁ SRAŽENINA nebo BÍLÝ ZÁKAL

V přítomnosti $S_2O_3^{2-}$:

K 10 kapkám neutrálního vzorku ve zkumavce přidáváme po kapkách 0,1 M $SrCl_2$ do úplného vysrážení, odstředíme, slijeme promývací vodu a sraženinu promýváme 2 ml dest. H_2O a znovu odstředíme - bílý nerozpuštěný zbytek sraženiny na dně centrifugační zkumavky je $SrSO_4$.
To dokážeme tak, že sraženinu minimálním množstvím vody převedeme do porcelánové misky, na síťce vodu odpaříme, suchou sraženinu seškrábeme lopatičkou do mikrozkumavky s baničkou a promísíme s trojnásobným množstvím práškového Mg. Baničku zahříváme přímo v nesvítivém plameni (v DIGESTOŘI!). Během zahřívání shoří nadbytečný hořčík jasným plamenem. Potom do červena rozžhavenou baničku ponoříme do připravené kádinky s 20 ml vody zalkalizované 1 ml konc. NH_3. Baničk praskne, rozpadne se a obsah se vylouží. Do kádinky přidáme několik krystalků $Na_2Fe(CN)_5NO$ → okolí se zbarví ČERVENOFIALOVĚ (viz důkaz HS^-).

2. $S_2O_3^{2-}$

a) ***DŮKAZ V KYSELÉM PROSTŘEDÍ***

Na kapkovací desku naneseme 1 ml 2 M HNO_3 (nebo jiné zředěné minerální kyseliny) a 3 kapky roztoku vzorku → pozvolna vzniká BÍLÝ MLÉČNÝ ZÁKAL až SRAŽENINA (varem žloutne) a uniká CO_2.

b) ***DŮKAZ CHLORIDEM ŽELEZITÝM***

Na kapkovací desku naneseme 1 kapku roztoku vzorku a 1 kapku 0,3 M $FeCl_3$ → vzniká INTENZIVNĚ FIALOVÉ ZBARVENÍ, které zvolna mizí.

3. SO_3^{2-}

a) ***DŮKAZ MALACHITOVOU ZELENÍ A FUCHSINEM***

K 1 kapce směsi barviv přidáme špetku pevného $NaHCO_3$ a přikapáváme roztok vzorku → roztok se ODBARVÍ.

b) ***DŮKAZ JAKO SO_2 V PLYNNÉ FÁZI***

Na filtrační papír postupně naneseme po 1 kapce: 0,1 M $ZnCl_2$ a 10 % $K_4[Fe(CN)_6]$ a 5 % $Na_2Fe(CN)_5NO$. Tímto papírkem zakryjeme kelímek, do kterého dáme po 5 kapkách 1 M H_2SO_4 a roztok vzorku. Po několika minutách se objeví na papíře ČERVENÉ SKVRNY, které se zvýrazní, podržíme-li vlhký papír v parách amoniaku (nezreagovaný $ZnFe(CN)_5$ NO se odbarví).

V přítomnosti $S_2O_3^{2-}$ a S^{2-}:

K roztoku vzorku v kelímku přidáme 5 kapek 0,1 M H_2SO_4.

V nepřítomnosti S^{2-} můžeme postupovat i takto:

Na filtrační papír nebo tečkovací destičku naneseme postupně po 1 kapce 0,1 M $ZnCl_2$, 10 % $K_4[Fe(CN)_6]$, 5 % $Na_2Fe(CN)_5NO$ a několik kapek slabě alkalického roztoku vzorku → dojde ke ZČERVENÁNÍ SRAŽENINY , ale pouze v nepřítomnosti těžkých kovů.

16.2.2. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY MÁLO ROZPUSTNÝCH STŘÍBRNÝCH SOLÍ ROZPUSTNÝCH V 2M HNO3 - CrO_4^{2-}, PO_4^{3-}, $B(OH)_4^-$, CO_3^{2-}. $BaCl_2$ a $AgNO_3$ jako skupinová srážecí činidla, redoxní skupinové reakce aniontů ($KMnO_4$, I_2, HI).

Rozlišovací a identifikační znak - různé zbarvení stříbrných solí: např.

- Ag_2CrO_4, Ag_3AsO_4 - červenohnědý, resp. čokoládově hnědý,
- Ag_3PO_4, $AgAsO_2$ - žluté,
- Ag_2CO_3 - nažloutlý,
- $AgBO_2$ - bílý,
- roztoky CrO_4^{2-} (neutrální a alkalické) - žluté, s klesajícím pH se zbarvení prohlubuje do oranžové vznikajícími ionty $Cr_2O_7^{2-}$.

Důkaz PO_4^{3-} molybdenanem - komplikuje se v přítomnosti AsO_4^{3-}, který dává stejnou reakci, ale i AsO_2^- může rušit, pokud použijeme jako molybdenanové činidlo roztok molybdenanu amonného v konc. HNO_3 - tato konc. HNO_3 může za horka As(III) přeměnit na As(V), proto je nutné přesně dodržet pracovní postup.

1. CrO_4^{2-}

DŮKAZ PEROXIDEM VODÍKU

Do zkumavky postupně vneseme 2 kapky roztoku vzorku, 10 kapek izoamylalkoholu, 1 kapku 5 % H_2O_2 a několik kapek 1 M H_2SO_4 do vzniku MODRÉHO ZBARVENÍ, které ihned vytřepeme do organické fáze.

2. PO_4^{3-}

DŮKAZ MOLYBDENANEM

Ke 3 kapkám roztoku vzorku ve zkumavce přidáváme 2 M HNO_3 do kyselé reakce. Potom přidáme několik kapek molybdenanového činidla → vznikne ŽLUTÁ SRAŽENINA nebo přechodně i žlutý roztok. Při ***nižších*** *koncentracích* fosforečnanu se roztok zbarví žlutě, méně často vznikne sraženina, až po několikaminutovém zahřívání ve vodní lázni, popř. přímo nad plamenem

Postup v přítomnosti AsO_4^{3-}:

Do zkumavky vneseme 1 ml 1 M H_2SO_4 , 3 kapky roztoku vzorku a špetku prachu Zn, vše necháme vařit několik minut ve vodní lázni. Po odstředění musí čirý a bezbarvý roztok ještě reagovat kysele (v opačném případě přidáme konc. HCl) a nesmí dávat pozitivní reakci na AsO_4^{3-} (1 kapka tohoto roztoku a 1 kapka 10 % KI - nesmí vzniknout žluté zbarvení, jinak musíme přidat Zn a pokračovat v zahřívání). K tomuto roztoku přidáme sulfanovou vodu do úplného vysrážení As_2S_3. Po odstředění z čirého roztoku vyvaříme přebytečný H_2S a přidáme několik kapek molybdenanového činidla → vznikne ŽLUTÝ ROZTOK, přecházející ve žlutou sraženinu.

Slepý pokus s AsO_4^{3-}: bezbarvý roztok.

3. $B(OH)_4^-$

DŮKAZ TVORBOU TĚKAVÝCH ESTERŮ, PLAMENOVÁ REAKCE

1 ml roztoku vzorku odpaříme v porcelánové misce do sucha, po ochlazení přidáme k odparku 1 ml ethanolu a 5 kapek konc. H_2SO_4 (provádíme v *DIGESTOŘI*, *OCHRANNÉ BRÝLE*). Směs promícháme skleněnou tyčinkou, necháme několik minut stát a potom zapálíme → v temnějším prostoru (*NEOSVĚTLENÁ DIGESTOŘ*) → sledujeme MODRAVÝ NESVÍTIVÝ PLAMEN hořícího alkoholu, který v přítomnosti kyseliny borité získá ve špičce ZELENÉ ZBARVENÍ, které je nejvýraznější v poslední fázi hoření.

4. CO_3^{2-}

DŮKAZ TVORBOU CO_2

K 1 ml slabě alkalického roztoku vzorku přidáváme po kapkách 20 % HCl → v přítomnosti CO_3^{2-} pozorujeme VÝVOJ BUBLINEK PLYNU, které se při vyšší koncentraci CO_3^{2-} a při klepnutí na zkumavku projeví zašuměním. Kapka roztoku $Ba(OH)_2$ podržená na skleněné tyčince v ústí zkumavky se ZAKALÍ.

V přítomnosti SO_3^{2-} nebo $S_2O_3^{2-}$:

K 1 ml roztoku vzorku po kapkách přidáváme 0,02 M MnO_4^- do trvalého zbarvení, okyselení provádíme H_2SO_4 (1:1).

16.2.3. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY ANIONTŮ TVOŘÍCÍCH STŘÍBRNÉ SOLI MÁLO ROZPUSTNÉ V 2M HNO_3(Cl^-, Br^-, I^-, S^{2-}, HS^-).

V prostředí 2 M HNO_3 se stříbrnými kationty se srážejí bílé sraženiny AgCl a AgSCN, nažloutlý AgBr, žlutý AgI a černý Ag_2S:

- Cl^-, Br^-, SCN^- - v kyselých, neutrálních i alkalických roztocích jsou na vzduchu stálé,
- I^-- jsou stálé pouze v neutrálních a alkalických roztocích, zatímco kyselé roztoky zvolna žloutnou jodem, který vzniká oxidací vzdušným kyslíkem,
- roztoky HS^-, S^{2-} - uvolňují hydrolýzou velmi slabou kyselinu H_2S (plynná, charakteristický odporný zápach),
- roztoky HS^-, S^{2-} - reagují alkalicky a zvolna se oxidují vzdušným kyslíkem za vzniku žlutých až červených polysulfidů HS_x^-. Po okyselení se síra z polysulfidů uvolní jako mléčný zákal.

1. Cl^-

a) ***DŮKAZ DENIGESOVÝM ČINIDLEM***

Do porcelánového kelímku dáme 1ml konc. H_2SO_4 a přidáme několik krystalků pevného $KMnO_4$. Kelímek umístíme do trianglu na vzdušné lázni. Přidáme 5 kapek roztoku vzorku, kelímek zakryjeme kouskem filtračního papíru, ovlhčeného 1 kapkou 1 M NaOH a 1 kapkou Denigesova činidla (vodný roztok čerstvě destilovaného fenolu a anilinu) a kelímek opatrně zahříváme. Dbáme na to, aby filtrační papír nevyschl (přikápnutím 1 M NaOH). V přítomnosti chloridů se vlhká část papíru vybarví MODŘE.

Jsou-li přítomny Br^- a I^- *: přidáme více pevného $KMnO_4$.*

b) ***DŮKAZ TVORBOU CHROMYLCHLORIDU***

1 ml roztoku vzorku odpaříme v porcelánovém kelímku, k odparku přidáme špetku pevného $K_2Cr_2O_7$ a 5 kapek konc. H_2SO_4. Kelímek přikryjeme kouskem filtračního papíru ovlhčeného 1 - 2 kapkami 1 M NaOH a opatrně zahříváme na vzdušné lázni → přítomnost chloridů se projeví tvorbou ČERVENÝCH DÝMŮ , které vybarví vlhký papír do ŽLUTA.

2. Br^-

DŮKAZ OXIDACÍ NA BROM

K 1 ml 2 M HCl (ve zkumavce) přidáme 3 kapky roztoku vzorku a 10 kapek chloroformu. Po kapkách přidáváme roztok chloraminu T (čerstvý) a po každém přídavku protřepeme → v přítomnosti Br^- se vodný roztok začne barvit do ŽLUTOHNĚDA a po protřepání přejde zbarvení do $CHCl_3$.

V přítomnosti I^-:

V přítomnosti I^- vzniká nejdříve I_2 (hnědé zbarvení vodné fáze, po extrakci fialové zbarvení chloroformu). Dalšími přídavky chloraminu T (!! po každé kapce protřepat) se I_2 postupně oxiduje na bezbarvý BrO_3^-, proto se musí chloramin přidávat po jednotlivých kapkách.

Postup v přítomnosti SCN-:

K 1 ml 2 M HCl přidáváme 3 kapky roztoku vzorku, 1 kapku 5 % H_2O_2 a obsah zkumavky krátce povaříme (v DIGESTOŘI - uvolňuje se jedovatý dikyanid !!). Pozor !! Příliš dlouhým zahříváním se může vyvařit i vznikající brom. Po ochlazení přidáme chloroform a dále je postup stejný.

Je-li současně přítomen i I^-, *uvolní se přídavkem peroxidu jod, který se při krátkém povaření částečně odstraní. I v tomto případě je další postup stejný.*

3. I^-

DŮKAZ OXIDACÍ KYSELINOU DUSITOU NA I_2

Na kapkovací desku dáme 1 kapku roztoku vzorku, 1 kapku 2 M CH_3COOH a na špičku lopatičky $NaNO_2$ → v přítomnosti I^- vznikne ihned ŽLUTÉ až ČERVENOHNĚDÉ zbarvení. Pokus lze provést i ve zkumavce, přidáním několika kapek chloroformu získáme FIALOVÝ EXTRAKT jodu.

Je-li ve vzorku přítomen $S_2O_3^{2-}$ *: Přidáme více $NaNO_2$ a několik kapek 2 M CH_3COOH.*

4. HS^-, S^{2-}

a) ***DŮKAZ TVORBOU PbS***

K 1 kapce roztoku vzorku přidáme kapku roztoku Pb^{2+} → ČERNÁ SRAŽENINA.

b) ***DŮKAZ NITROPRUSSIDEM***

1 kapka roztoku vzorku + 1 kapka 2 M NH_3 + pevný $Na_2Fe(CN)_5NO$. $2H_2O$ → FIALOVÉ zbarvení (na porcelánové kapkovací desce).

16.2.4. ANALYTICKÉ REAKCE SKUPINY ANIONTŮ NO_3^-, NO_2^- a ClO_4^-

NO_3^-, ClO_4^- (anionty silných kyselin) - ve vodném roztoku značně stálé, netvoří žádné stabilní komplexy a prakticky žádné málo rozpustné sraženiny. Všechny NO_3^- jsou ve vodě dobře rozpustné (analogie k iontům Na^+), proto se špatně dokazují.
ClO_4^- - objemové ionty, nízká povrchová hustota, charakteristická tvorba iontových asociátů se stejně objemnými kationty, např. bazických barviv.
Bílý $AgNO_2$ rozpustný v 2 M HNO_3 - je do této skupiny zařazen pro svou příbuznost k NO_3^-.
Roztoky NO_2^- (soli slabé kyseliny) - mají oxidační vlastnosti už v slabě kyselém prostředí kyseliny octové, např. oxidují I^- na I_2, proto nemohou být ionty NO_2^- a I^- v jednom vzorku. Vzdušným kyslíkem se zvolna oxidují na NO_3^-.

1.NO_3^-

a) ***DŮKAZ DIFENYLAMINEM***

Do čisté zkumavky dáme 1 kapku roztoku vzorku a otáčením zkumavky smočíme co největší povrch stěny zkumavky. V blízkosti ústí zkumavky kápneme 1 kapku roztoku difenylaminu v konc. H_2SO_4 (*pozor!! žíravina*) a sledujeme její stopu při stékání uvnitř zkumavky. V místě styku s roztokem vzorku se vytváří MODRÁ STOPA, která po chvíli změní zbarvení.

b) ***DŮKAZ TVORBOU AZOBARVIVA PO REDUKCI NA NO_2^- ZINKEM***

1 kapku roztoku vzorku na porcelánové kapkovací desce okyselíme 1 kapkou konc.kyseliny octové a přidáme na špičku lopatičky prachového zinku. Foukáním přes pipetku promícháme a přidáme 1 - 2 kapky roztoku kyseliny sulfanilové, 1 kapku roztoku kyseliny chromotropové a zalkalizujeme 1 M NaOH → vznikne JASNĚ ČERVENÉ ZBARVENÍ (v nepřítomnosti NO_2^-).

Rušící NO_2^- *- odstraníme močovinou v prostředí 1 M H_2SO_4 :*

5 kapek roztoku vzorku okyselíme 1 M H_2SO_4 do zřetelně kyselé reakce (červené zbarvení pH papírku), přidáme močovinu (půl lopatičky) → únik bublinek CO_2 a N_2 prozradí přítomnost NO_2^-. Po několika minutách ověříme úplnost odstranění NO_2^-, tj. přidáme 1 kapku tohoto roztoku a 1 kapku roztoku KI - roztok nesmí ani slabě zežloutnout (je-li reakce pozitivní, zkontrolujeme kyselost a přidáme močovinu). Po úplném odstranění NO_2^- otupíme kyselost přídavkem 2 M CH_3COOH do žlutého zbarvení pH papírku, přidáme 1 kapku 2 M CH_3COOH a špetku práškového zinku. V slabě kyselém prostředí už přebytečná močovina nereaguje se vznikající kyselinou dusitou. Další postup je shodný.

c) ***DŮKAZ FENOLSULFONOVÝMI KYSELINAMI***

3 kapky roztoku vzorku se odpaří v pocelánovém kelímku do sucha, přidá se krystalek fenolu a 2 kapky konc. H_2SO_4 (provádíme v *DIGESTOŘI*, *OCHRANNÉ BRÝLE*). Směs promícháme skleněnou tyčinkou a opatrně na síťce zahřejeme. Po ochlazení se kelímek vylouží v kádince s destilovanou vodou (10 - 20 ml) a přidá se konc. NH_3 do alkalické reakce → ŽLUTÝ ROZTOK.

Obsahuje-li vzorek rušící chloridy *(vzniká NOCl místo nitrační směsi) a dusitany (stejná reakce jako NO_3^-):*

3 kapky vzorku nejprve okyselíme 1 M H_2SO_4 ve zkumavce a NO_2^- odstraníme močovinou (viz předchozí důkaz), resp. Cl^- vysrážíme roztokem Ag_2SO_4. Odstředěný roztok odpaříme do sucha a další postup je shodný.

2. NO_2^-

DŮKAZ NA BÁZI DIAZOTAČNÍ A KOPULAČNÍ REAKCE

Ke kapce neutrálního nebo slabě kyselého roztoku vzorku na porcelánové kapkovací destičce přidáme 1 - 2 kapky roztoku kyseliny sulfanilové a případně 2 M CH_3COOH (roztok musí reagovat slabě kysele, žluté zbarvení pH papírku) a po chvíli 1 kapku kyseliny chromotropové.
Po zalkalizování roztoku 1 M NaOH vznikne v přítomnosti NO_2^- ve vzorku JASNĚ ČERVENÉ ZBARVENÍ. Výsledek srovnáme se slepým pokusem.

16.3. KVALITATIVNÍHO ROZBORU NEZNÁMÝCH VZORKŮ KATIONTŮ A ANIONTŮ

Při práci budeme souběžně provádět důkazy iontů v neznámém vzorku a známých iontů. Cílem je dokázat v každém neznámém vzorku neznámý kation i anion, případně směs kationtů a aniontů. Do závěru uvedeme:

1. **Dokázaný kation (vzorec, název) a průběh jeho důkazu, popis skupinových, selektivních, příp. specifických reakcí pro daný kation.**
2. **Dokázaný anion (vzorec, název) a průběh jeho důkazu, popis skupinových, selektivních, příp. specifických reakcí pro daný anion.**

ÚLOHA Č. 17

GRAVIMETRICKÉ STANOVENÍ ŽELEZA JAKO Fe_2O_3

CÍLE ÚLOHY:

- seznámit se s metodou chemické kvantitativní analýzy založené na vyloučení stanovované složky ve formě málo rozpustné sloučeniny a na jejím převedení na sloučeninu o přesně definovaném složení, která se poté váží
- kvantitativně stanovit železo Fe jako Fe_2O_3

POUŽITÉ VYBAVENÍ:

Chemikálie:
10 % NH_4NO_3, 1 % NH_4NO_3, 2 M HCl, 2 M NH_3, roztok Ag^+.

Laboratorní pomůcky:
Kádinka 250 ml, kádinka 50 ml, bezpopelový řídký filtrační papír (červené označení, příp. žluté označení), filtrační nálevka, porcelánový kelímek, chemické kleště, kleště na kádinky, skleněná tyčinka, laboratorní kahan, stojan s varným kruhem, příp. vařič, stojan s filtračním kruhem, asbestová síťka, triangl, exikátor, pipeta nedělená 10 ml, pipeta dělená 2 ml, pipeta dělená 1 ml, pipeta dělená 5 ml, umělohmotná pipetka, malá zkumavka, odměrný válec 50 ml, pipetovaní balónek, nůžky, kapkovací destička.

SCHÉMA PRACOVNÍHO POSTUPU:

17.1 Srážení Fe^{3+}amoniakem
17.2 Filtrace sraženiny
17.3 Spalování filtru, žíhání a vážení suroviny
17.4 Vyhodnocení gravimetrického stanovení

PRINCIP:

Z kyselého roztoku Fe^{3+} se amoniakem sráží $Fe(OH)_3$, který se vyžíhá na vážitelnou formu Fe_2O_3. Metoda je použitelná pro stanovení iontů železitých Fe^{3+} a také iontů železnatých Fe^{2+}. Ionty Fe^{2+} je však nutné předem kvantitativně zoxidovat na ionty Fe^{3+} přídavkem potřebného množství vhodného oxidačního činidla. Podstatou metody je srážení roztoku soli Fe^{3+} roztokem amoniaku. Reakcí vzniká nerozpustný hydroxid železitý $Fe(OH)_3$, který se po oddělení od roztoku (filtrací) převede žíháním na vzduchu při cca 1000 °C na oxid železitý Fe_2O_3 (forma k vážení).

STECHIOMETRIE:

$$Fe^{3+} + 3OH^- \dashrightarrow Fe(OH)_3$$

$$2Fe(OH)_3 \dashrightarrow Fe_2O_3$$

$$2Fe^{3+} \dashrightarrow 2Fe(OH)_3 \dashrightarrow Fe_2O_3$$

POSTUP :

17.1. SRÁŽENÍ Fe^{3+}AMONIAKEM

Roztok vzorku Fe^{3+} ze zkumavky kvantitativně převedeme do kádinky na 250 ml (každou zkumavku 3x vypláchneme destilovanou vodou) a zředíme destilovanou vodou asi na 150 ml. Poté přidáme 10 ml 10% NH_4NO_3 a zahříváme téměř k varu. Případnou hydrolýzu soli Fe^{3+} (projevuje se oranžovým až červenohnědým zbarvením roztoku, přecházejícím na červenohnědou sraženinu) potlačíme již před zahříváním přídavkem cca 1 ml 2 M HCl. Před vlastním srážením musí být roztok žlutý a čirý.

Při prvních náznacích varu přerušíme zahřívání a srážíme 2 M 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, dokud se obsah kádinky zřetelně nezakalí. Tato fáze srážení rozhoduje o kvalitě sraženiny. Další přídavky 2 M NH_3 můžeme opět 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.

Tento postup opakujeme 2x, příp. 3x (*dle zadání vyučujícího*). Zkumavky s neznámým vzorkem pro analýzu obsahují stejné množství Fe^{3+}.

17.2. FILTRACE STRAŽENINY

Získanou sraženinu ještě za horka filtrujeme přes řídký filtrační papír (červeně označená krabička – bezpopelový papír, příp. žlutě označená). Sraženinu dekantujeme (promýváme na filtračním papíře) horkým 1 % NH_4NO_3, dokud odtékající filtrát nepřestane dávat reakci na Cl^- (prověříme pomocí roztoku $AgNO_3$ – tj. dokud odtékající filtrát bude tvořit bílý zákal s roztokem $AgNO_3$).

Pokud na stěnách kádinky ulpí část sraženiny, rozpustíme ji několika kapkami konc.HCl (pomocí tyčinky namočené v HCl smočíme celý povrch kádinky), roztok zředíme destilovanou vodou na 10 – 20 ml, zahřejeme k varu a opět srážíme 2 M NH_3. Získanou sraženinu za horka filtrujeme přes filtr s hlavním podílem $Fe(OH)_3$.

17.3. SPALOVÁNÍ FILTRAČNÍHO PAPÍRU SE VZORKEM, ŽÍHÁNÍ A VÁŽENÍ SUROVINY

Po odkapání posledních kapek promývacího roztoku filtrační papír se sraženinou složíme, vložíme do předem vyžíhaného (1 hod) a zváženého porcelánového kelímku, který po vyžíhání uchováváme v exikátoru. Filtrační papír se sraženinou můžeme předem zlehka vysušit v sušárně (příp. ho necháme schnout na vyhrazeném místě do příštího cvičení, přičemž si označíme svůj kelímek tak, že neglazurované dno kelímku označíme měkkou tužkou).

Poté v kelímku spálíme fitrační papír se sraženinou a porcelánový kelímek vyžíháme do konstantní hmotnosti (1 – 2 hod.). Po vychlazení porcelánového kelímku zvážíme produkt - červenohnědý až černý Fe_2O_3.

Množství získaného Fe^{3+} vypočítáme podle následujících rovnic:

$$\frac{n(Fe)}{n(Fe_2O_3)} = \frac{2}{1}$$

$$n(Fe) = 2n(Fe_2O_3)$$

$$m(Fe) = 2 \cdot \frac{M(Fe)}{M(Fe_2O_3)} \cdot m(Fe_2O_3)$$

Kde: M(Fe) = 55,847 $g.mol^{-1}$

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

17.4. VYHODNOCENÍ GRAVIMETRICKÉHO STANOVENÍ

Při vyhodnocení stanovení železa gravimetricky v neznámém vzorku v protokolu do závěru uvedeme:

1. Výpočtem určíme obsah Fe ve vzorku.
2. Zdůvodníme případné nepřesnosti při gravimetrickém stanovení železa.

ÚLOHA Č. 18

KVALITATIVNÍ ANALÝZA – PAPÍROVÁ A TENKOVRSTVÁ CHROMATOGRAFIE

CÍLE ÚLOHY:

- seznámit se s principem papírové a tenkovrstvé chromatografie
- využít metodou pro separaci směsí barviv v rostlinném materiálu
- porovnat chování různých vyvíjecích soustav při separaci směsi barviv

TEORIE:

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_2, Al_2O_3) 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 fázi pak chromatografii adsorpční, rozdělovací, iontově výměnnou atd.

Papírová chromatografie byla po dlouhou dobu v praxi nejpoužívanější metodou plošné chromatografie. Její největší výhodou je ekonomicky nenáročné chromatografické médium, využitelné pro separaci širokého množství látek od anorganických iontů až k složitým biomolekulám. Základním separačním mechanismem je v případě papírové chromatografie rozdělovací rovnováha mezi vodou či jiným rozpouštědlem zakotveným v papíru a použitou mobilní fází. U látek s velkým počtem polárních skupin se často uplatňuje jejich silná interakce přímo s celulózou, v takových případech převládá adsorpční mechanismus dělení. Důležitou charakteristikou použitého chromatografického papíru (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 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 chromatogvrafie. 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 vzlínající 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 zhášejí, 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.

PRINCIP:

Chromatografii na papíře provádíme buď ve **vzestupném provedení**, kdy je papír zavěšen v chromatografické komoře a spodním okrajem je namočen do mobilní fáze a nebo v **sestupném provedení**, kdy je papír zavěšen ve vaničce s mobilní fází a ta putuje dolů. Vzorek nanášíme na vyznačený *Start*, který by měl být alespoň 1 cm nad hladinou mobilní fáze, rozestupy mezi jednotlivými nanášenými vzorky by měly být alespoň 0,5 až 1 cm, od okraje papíru pak minimálně 1 cm. Vzorek je často potřeba nejprve vhodně upravit pro odstranění rušících látek (např. extrakcí) vhodným rozpouštědlem. Poté se nanáší tenkou kapilárou na start (skvrna nesmí být příliš rozměrná), příliš velké množství analyzované látky ve vzorku má za následek tvorbu velkých a neforemných skvrn. Optimální množství látky ve vzorku se pohybuje v rozmezí 0,1 až 100 μg v závislosti na její rozpustnosti v mobilní fázi (čím méně je rozpustná, tím menší množství látky) a na citlivosti detekce.
Před zahájením vyvíjení chromatogramu je potřeba naplnit chromatografickou komoru (vyšší skleněná nádoba s víkem a stojánkem pro uchycení papíru) mobilní fází a přibližně 15 až 20 minut nechat ustavit v komoře rovnováhu par mobilní fáze. Volba složení mobilní fáze ovlivňuje pohyblivost chromatografovaných látek podle pravidla podobné rozpouští podobné. Proto pro polární látky se používají směsi polárních organických rozpouštědel (alkoholy) s vodou a přídavkem kyseliny či báze, nepolární látky se pak vyvíjejí ve směsích nepolárních rozpouštědel (v takovém případě je třeba vyvíjecí komoru nasytit vodními parami z mističky s vodou). Pohyblivost látky na chromatogramu se vyjadřuje hodnotou retardačního faktoru $\mathbf{R_F}$, která se určuje jako poměr vzdálenosti, kterou urazí skvrna stanovované látky ku vzdálenosti, kterou urazí čelo rozpouštědla. Při papírové chromatografii je vhodná vzdálenost, kterou urazí na chromatogramu čelo rozpouštědla asi 5 až 10 cm.
Detekce chromatografovaných látek se provádí po vyjmutí papíru a jeho vysušení buď přímo vizuelně, pokud jsou chromatografované látky barevné, nebo se využívá jejich fluorescence pod UV zářením, případně se provádí postřik detekčním činidlem za vzniku barevných skvrn. Univerzální detekční činidlo představuje konc. kyselina sírová, protože většina organických látek pod jejím dehydratačním vlivem uhelnatí a tvoří tmavé skvrny (obvykle je nutno zahřát). To ovšem platí i pro samotný chromatografický papír, takže je lépe využít v tomto případě specifičtějších detekčních činidel. Podle polohy skvrny látky ve vzorku ve srovnání se standardem, případně i stejného chování při detekci určujeme kvalitu látky, kvantitu pak odhadujeme z porovnání velikosti či intenzity zabarvení skvrn vzorku a standardu.
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 cca 0,5 cm do mobilní fáze. Linie startu a nadávkovaným vzorkem je umístěna nad hladinou mobilní fáze. Dochází ke vzlínání 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 Detekce rozdělených složek vzorku může probíhat několika způsoby:

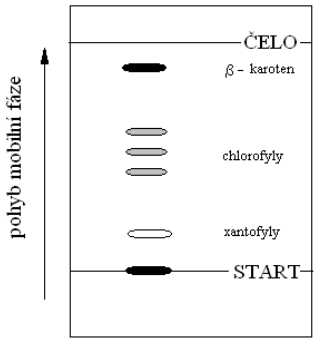
- barevné sloučeniny sledujeme vizuálně
- bezbarvé sloučeniny – osvětlení UV zářením (některé sloučeniny po vystavení destičky UV záření fluoreskují), pokud vzorek obsahuje látky, které nefluoreskují, jsou tyto často po separaci a expozici destičky UV záření viditelné jako tmavá skvrna na fluoreskující 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).

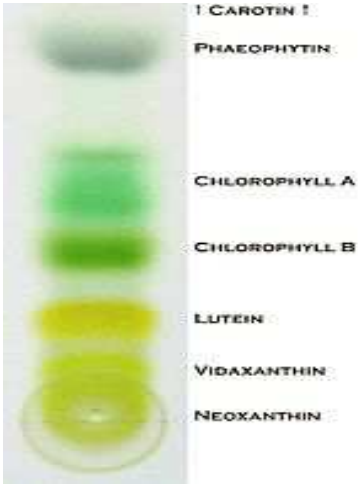
V TLC se nejčastěji využívá těchto dvou separačních principů – adsorpce (separované látky jsou poutány na povrch sorbentu) a rozdělovací rovnováhy (separované látky se rozdělují mezi dvě vzájemně nemísitelné kapaliny, tj. stacionární fáze je kapalina zakotvená na vhodném nosiči). Migrační chování jednotlivých 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 .

POUŽITÉ VYBAVENÍ:

Chemikálie:
Ethanol C_2H_5OH , křemičitanový písek (příp. mořský písek), uhličitan vápenatý bezvodý $CaCO_3$, propan-2-on C_3H_6O (aceton), alpa, benzen C_6H_6, benzín technický, n-heptan C_7H_{16}, n-propanol.
Rostlinná barviva: barviva obsažená v listech zelených rostlin (např. muškát) a červené paprice.

Laboratorní pomůcky:
Skleněné pipetky (kapiláry) podle počtu zkoumaných barviv, chromatografické desky Polygram SIL G/UV_{254}, (příp.Alugram SIL G), tlustostěnná skleněná vyvíjecí hranolová komora, 100ml odměrný válec, 5ml odměrný válec, měkká tužka (tvrdost HB), pravítko, třecí miska s tloučkem, baňka kónická, filtrační nálevka, filtrační papír, mikrozkumavky, tyčinka, filtrační papír.

Přístroje:
Třepačka GFL 3005

SCHÉMA PRACOVNÍHO POSTUPU:

18.1. Rostlinná barviva
18.2. Příprava vzorků obsahujících rostlinná barviva k chromatografické separaci
18.3. Příprava vyvíjecí soustavy a příprava chromatogramů jednotlivých barviv
18.4. Dělení rostlinných barviv metodou papírové chromatografie
18.5. Identifikace analyzovaných barviv a porovnání jejich chování v jednotlivých vyvíjecích soustavách
18.6. Vyhodnocení chromatografické analýzy a zpracování dat do protokolu

18.1. OBECNÁ 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, xanthofyly – žluté, karotenoidy – oranžové, feofytin – šedé.

18.2. PŘÍPRAVA VZORKŮ OBSAHUJÍCÍCH ROSTLINNÁ BARVIVA K CHROMATOGRAFICKÉ SEPARACI

a) listy zelených rostlin (např. muškátu) rozstříháme na menší kousky a rozetřeme ve třecí misce s malým množstvím propraného křemičitanového písku (příp. písku mořského) a s uhličitanem vápenatým (na špetku nože) na kaši. Poté směs přelijeme malým množstvím acetonu a znovu roztíráme. Směs necháme asi 15 minut stát při pokojové teplotě, poté ji zfiltrujeme do odpařovací misky (kádinky) a následně odpaříme na vodní lázni zahustíme (přibližně na třetinový objem, je možné i do sucha). Po zchladnutí rozpustíme hmotu v několika kapkách lihu (příp. acetonu). Takto zahuštěný ektrakt převedeme do mikrozkumavky.

b) přibližně 5 g červené papriky rozetřeme v třecí misce s malým množstvím propraného křemičitanového písku a s 10 ml technického benzínu, převedeme do kónické baňky a umístíme na 15 minut na třepačku (třepeme opatrně při nižších otáčkách).
Získaný extrakt zfiltrujeme přes filtrační papír do odpařovací misky a na vodní lázni zahustíme na poloviční objem, poté převedeme do mikrozkumavky (paprika obsahuje přes 40 nepolárních barviv většinou na bázi karotenoidů, proto je potřeba použít méně polární vyvíjecí soustavu)

18.3. PŘÍPRAVA VYVÍJECÍ SOUSTAVY A PŘÍPRAVA CHROMATOGRAMŮ JEDNOTLIVÝCH BARVIV

Kruhová papírová chromatografie - jeden filtrační papír srolujeme a prostrčíme malým otvorem uprostřed druhého filtračního papíru (prostřihneme malý otvor) tak, aby tvořil knot. Takto připravený knot ponoříme do připravené suspenze, druhý filtrační papír opřeme o hrdlo kádinky.

Vzestupná papírová chromatografie - zařízení se skládá ze skleněné komory vhodných rozměrů pro použitý chromatografický papír. Horní část komory je zabroušená a opatřená dobře těsnícím víkem. V horní části komory je zařízení umožňující zavěšení chromatografického papíru a jeho ponoření do mobilní fáze bez otevření komory. Na dno komory umístíme misku obsahující mobilní fázi, do které papír ponoříme. Mobilní fázi nalijeme do misky na dně komory do výšky 1,5-2 cm. Komoru uzavřeme a ponecháme stát po dobu 20 min při teplotě 20 °C až 25 °C. V uvedeném intervalu teplot se komora udržuje i v průběhu další analýzy. Jako chromatografický papír použijeme vhodný filtrační papír nastříhaný do pruhů dostatečné délky, ne užších než 2,5 cm. Papír nastříháme tak, aby mobilní fáze protékala ve směru vláken papíru.

Tenkovrstvá chromatografie - u chromatografie na tenké vrstvě převládá rozdílné využití adsorpce na tenké vrstvě sorbentu – adsorpční chromatografie. Analyzovaná směs se nanese na povrch Silufolu (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 (tvrdost HB) jako *Čelo* chromatogramu.
Kvalitativním parametrem pro identifikaci látky v dané vyvíjecí soustavě je hodnota retardačního

faktoru R_F. Vyvíjecí soustavu připravíme do tlustostěnné nádoby tak, aby hladina mobilní fáze dosahovala do výšky 8–10 mm, ihned ji uzavřeme víkem, aby se prostor uvnitř nádoby nasytil parami vyvíjecí soustavy (ponecháme se stát po dobu 10 min).

Pro dělení použijeme *dle pokynu vyučujícího* 3 vyvíjecí soustavy z následujících soustav:

a) alpa
b) n-propanol : H_2O : kyselina octová v poměru 85 :14 : 1
c) n-hexan : H_2O : 2-propanol v poměru 80 : 0,05 : 20
d) benzín techn. : H_2O : 2-propanol v poměru 90 : 0,25 : 10
e) líh

18.4. DĚLENÍ ROSTLINNÝCH BARVIV METODOU PAPÍROVÉ CHROMATOGRAFIE

Kruhová papírová chromatografie – extrakt z rostlinného materiálu naneseme do středu kruhového filtračního papíru. Filtrační papír s knotem ponoříme do připravené vyvíjecí soustavy. Čekáme až barviva začnou vzlínat. Práci přerušíme v momentě, kdy barevná stopa vytvoří kolem knotu kruh asi ve 2/3 filtračního papíru. Po ukončení separace filtrační papír s chromatogramem vysušíme a rozstřihneme na polovinu.

Vzestupná papírová chromatografie – na filtrační papír vyznačíme měkkou tužkou horizontální linie (start) ve vzdálenosti 3 cm od jednoho konce. Kapilárou naneseme na start extrakt z rostlinného materiálu. Roztok nanášíme po částech v opakovaných dílčích dávkách vždy po odpaření předchozího rozpouštědla. Vzdálenost mezi sousedními skvrnami na startu nesmí být menší než 1,5 cm. Papír s naneseným vzorkem vložíme do komory, uzavřeme ji víkem, a ponecháme stát cca 10 min. Potom papír ponoříme do mobilní fáze a vyvíjíme do předepsané vzdálenosti (nebo po předepsanou dobu). Papír vyjmeme a necháme uschnout na vzduchu. Během vyvíjení papír chráníme před přímým světlem.

Tenkovrstvá chromatografie - chromatografickou fólii nastříháme na obdélníky (vysoké 10–15 cm, šířka pruhu se řídí šířkou vyvíjecí nádoby), na ně zakreslíme měkkou tužkou (tvrdosti HB) 1,5 cm od okraje *Start*, opatrně tak, aby nedošlo k porušení vrstvy silikagelu (byl by ovlivněn průběh analýzy). Těsně pod *Start* (příp. pod horní okraj obdélníku) uděláme popisky pro pozdější identifikaci jednotlivých barviv. Na čáru *Startu* nanášíme kapilárou jednotlivá barviva. Na každý vzorek použijeme čistou kapiláru, abychom si vzorky nekontaminovali. Počkáme, až se barvivo vsákne do povrchu silikagelu, nanesení vzorku opakujeme, dokud nevznikne skvrna o velikosti 2–3 mm. Připravenou chromatografickou fólii vložíme do vyvíjecí soustavy v mírném sklonu ke stěně vyvíjecí nádoby a vyvíjecí nádobu ihned uzavřeme víkem. Sledujeme, jak mobilní fáze vzlíná, počkáme cca 30 minut, nebo až vystoupí asi 1 cm pod horní hranu chromatografické fólie. Poté fólii vyjmeme a tužkou zakreslíme čáru migrace *Čela* mobilní fáze. Následně se pokusíme obtáhnout skvrnu, kterou po sobě zanechalo barvivo na chromatografické desce, protože po usušení desky by nemusela být dostatečně zřetelná.

18.5. IDENTIFIKACE ANALYZOVANÝCH BARVIV A POROVNÁNÍ JEJICH CHOVÁNÍ V JEDNOTLIVÝCH VYVÍJECÍCH SOUSTAVÁCH

Po ukončení vyvíjení chromatogramy opatrně vyjmeme, obtáhneme měkkou tužkou vzniklé skvrny a zaznamenáme jejích barvu. Poté je necháme uschnout na vzduchu, příp. je umístíme na 5 minut do sušárny vyhřáté na teplotu 80 ºC. Po vysušení pravítkem změříme vzdálenost *Čela* mobilní fáze od *Startu* a vzdálenost středu skvrny od *Startu*, všechny hodnoty si zapíšeme.

Každý chromatogram poté umístíme pod UV lampu, zaznamenáme jeho vzhled a případné další skvrny, které vyhodnotíme stejným způsobem jako skvrny barevné.

18.6. VYHODNOCENÍ CHROMATOGRAFICKÉ ANALÝZY A ZPRACOVÁNÍ DAT DO PROTOKOLU

Do protokolu přiložíme jednotlivé zkopírované chromatogramy s popisem a jejich vyhodnocením:

1. **Popíšeme jednotlivé typy chromatografie a provedeme jejich nákres.**
2. **Pokusíme se identifikovat jednotlivá rostlinná barviva ve vzorku pomocí vypočtených retardačních faktorů z informace postupné eluce v každém vyvíjecím systému.**
3. **Na základě výše uvedené teorie a získaných chromatogramů:**
   - **popíšeme vzhled jednotlivých chromatogramů,**
   - **porovnáme a zdůvodníme separační chování analyzovaných látek v jednotlivých vyvíjecích soustavách,**
   - **porovnáme průběh jednotlivých chromatografických analýz (např. vliv výběru mobilní fáze, typu separace atd.), zhodnotíme a okomentujeme problémy při stanovení**