# 1. CHROMATOGRAFICKÉ DĚLENÍ ANIONTŮ NA IONEXECH

**Teorie:**

Uplatnění iontoměničů v analytické chemii je založeno na vratné výměně iontů mezi mobilní kapalnou fází a stacionární iontovou fází. Stacionární fáze se skládá z nerozpustné, avšak propustné polymerní sítě, která obsahuje vázané skupiny s nábojem a pohyblivé protiionty opačného náboje. Tyto protiionty mohou být vyměněny za jiné ionty z mobilní fáze.

Jako vázané skupiny (*active groups*) se uplatňují:

* u silně kyselých měničů kationtů, katexů (DOWEX 50WX) -SO3-H+
* u slabě kyselých katexů (DOWEX CCR2) -COOH
* u silně bazických měničů aniontů, anexů (DOWEX 1X) -[N(R)3+] Cl-

 Výměnné reakce jsou téměř úplně vratné a rovnovážný stav nezávisí na směru, ze kterého byl dosažen.

V dokumentaci k ionexům určeným pro použití v klasické kolonové nízkotlaké (gravitační) chromatografii nalezneme údaje rozhodující pro jejich používání (v {} závorkách jsou uvedeny údaje platné pro silně bazický anex DOWEX 1X8 se strukturou polystyrenu kopolymerovaného s divinylbenzenem s funkčními skupinami trimethylbenzylamonium, se kterým budeme pracovat):

* velikost částic {50–100 mesh} (mesh je pomocná jednotka, odvozená od rozměrů ok ve standardních sítech, používaných k dělení velikostních frakcí: 50 mesh – otvor 0,29 mm; 100 mesh – otvor 0,14 mm)
* zesítění (*crosslinkage*) – % divinylbenzenu {8}
* sypná hmotnost (*shipping density*) - k určení množství ionexu pro naplnění kolony určitého objemu {0,7 kg/dm3}
* obsah vody (*moisture*) – voda na 1 g suchého ionexu. Přijímáním vody se gelová struktura rozpíná, bobtná a zvětšuje svůj objem. Ionexy jsou zpravidla dodávány v nabotnalém stavu. {43 %}
* celková výměnná kapacita (odpovídá počtu funkčních skupin v hmotnostní jednotce sušiny a závisí na iontové formě ionexu) – vyjadřuje se jako „g of CaCO3/dm3“ {66}
* celková hmotnostní kapacita (mol chem. ekvivalentů na 1 g sušiny) {3,5 mmol chem. ekv./1 g}
* celková objemová kapacita (mol chem. ekvivalentů v 1 ml usazené nabobtnalé vrstvy) {1,33 mmol chem.ekv./1 ml}
* užitková výměnná kapacita (kapacita do průniku iontu) – jde o skutečnou pracovní kapacitu pro určitou velikost částic, teplotu kolony, pro určitou průtokovou rychlost, určitý stupeň plnění a určitou koncentraci přiváděného roztoku

Pro vyhodnocování výsledků měření, zejména určování tzv. **mrtvého objemu**, je důležitým údajem poměr ε = Vo/Vc označovaný jako relativní porozita kolony (Vc je celkový objem náplně v koloně, Vo je objem mezer mezi zrnky ionexu). Hodnota tohoto poměru pro polystyrendivinylbenzenový typ ionexu je zpravidla ε = 0,40.

SELEKTIVITA charakterizuje rozdíly v afinitě iontů k příslušnému měniči iontů. Je vyjadřována selektivitním koeficientem, který určuje mol chem. ekvivalentů iontů sorbovaných z 1 ml roztoku na 1 g sušiny pryskyřice, u anexu v chloridové, u katexu ve vodíkové formě. Selektivitní koeficient je označován také jako koncentrační výměnná konstanta, charakterizující výměnnou rovnováhu

{*R*+*Cl*-}*t* + *X*- ↔ {*R*+*X*-}*t* + *Cl*-

 pevná fáze fáze roztoku pevná fáze fáze roztoku



Selektivitní koeficient není konstantou, závisí na velikosti obou vyměňovaných iontů i na celkové koncentraci a pro daný typ ionexu se mění se stupněm zesítění. Dává však dobrou informaci pro rozhodování o separaci iontů. Například pro silně bazický anex Cl- cyklu má selektivitní koeficient pro některé anionty tyto hodnoty:



|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| OH- | F- | **Cl-** | Br- | NO3- | I- |
| 0,09 | 0,09 | **1,00** | 2,8 | 3,8 | 8,7 |

 Čím je větší, tím lépe nahrazuje ion X- v roztoku ion Cl- v ionexu. Za rovnováhy (zastavený tok v koloně) nelze vyměnit 100 % iontu X- (rovnovážná reakce). Kvantitativní výměnu lze realizovat dynamicky - stálým průtokem mobilní fáze. Tento děj si lze představit jako opakované ustavování rovnováh se stále klesající 

Velikost koeficientu je určující pro rychlost výměny, velikost poměru **/** určuje možnost separace iontů X2- a X1-.

Na rozdílech afinit iontů k sorbentu jsou založeny postupy chromatografického dělení iontů, kdy lze separace iontů ze směsi dosáhnout vhodnou volbou typu a koncentrace elučního činidla.

*Obr. 1.1: Fáze práce s kolonou*

### Přípravné práce

### 1.1.1. Faktorizace odměrného roztoku 0,02 M AgNO3

Provádí se titrací standardního roztoku NaCl na indikátor chroman draselný.

1 ml 0,02M AgNO3 ≈ 1,1688 mg NaCl ≈ 0,70906 mg Cl- M(NaCl) = 58,44 g/mol

Na analytických váhách navážit přibližně 0,1 g NaCl, navážku zapsat s přesností na 4 desetinná místa, rozpustit ve 100 ml odměrné baňce a doplnit po rysku destilovanou vodou.

Do titračních baněk napipetovat 10 ml roztoku NaCl, titrovat 0,02 M AgNO3 po přidání 3 kapek roztoku K2CrO4 až do první pozorovatelné změny zbarvení ze žlutého do oranžového (podle množství přidaného indikátoru béžového až červenohnědého). Titraci provést 3x.

 Z výsledků titrací vypočítat přesnou koncentraci odměrného roztoku AgNO3.

#### 1.1.2. Příprava peristaltického čerpadla k dopravě mobilní fáze

Peristaltické čerpadlo k dopravě mobilní fáze na kolonu a k eluci solutů zaručuje konstantní objemový průtok mobilní fáze kolonou.

#### 1.1.3. Převedení ionexu do NO3− cyklu

Sací hadičku ponořit do roztoku 2 M NaNO3 v kádince, spustit čerpadlo a kolonu 10 minut promývat. Po uplynutí této doby čerpadlo zastavit.

**POZOR!** Kolona musí být stále naplněna kapalinou. Proto je třeba kontrolovat nasávání kapaliny. Nesmí dojít k nasátí vzduchu do kolony!

### POZOR! Průběžně sledovat hladinu promývací kapaliny v chromatografické koloně nad ionexem, pokud bude průtok příliš rychlý, hrozí nebezpečí protečení kapaliny kolem zátky. V případě nutnosti snížit rychlost průtoku.

### 1.2. Ekvilibrace kolony

Po promytí chromatografické kolony 2 M NaNO3 ponořit hadičku přívodu čerpadla do roztoku 0,08 M NaNO3, spustit čerpadlo a kolonu 10 minut promývat 0,08 M NaNO3. Po uplynutí této doby čerpadlo zastavit.

### 1.3. Příprava modelového roztoku vzorku

Do 100 ml odměrné baňky napipetovat 2,5 ml zásobního roztoku Cl- a 2,5 ml zásobního roztoku Br-, odměrnou baňku doplnit destilovanou vodou po rysku.

### 1.4. Dávkování modelového roztoku na kolonu

Po protečení veškerého 0,08 M roztoku NaNO3 a srovnání hladiny v chromatografické koloně nadávkovat na kolonu modelový vzorek, tj. pod ústí kolonky postavit 5 ml odměrný válec, dále napipetovat 5 ml připraveného modelového vzorku a toto množství nanést na kolonu. Zaznamenat čas (čas nátoku) nanesení kapaliny na kolonu.

**POZOR!** Veškeré množství lze nanést na kolonu pouze 1x, Cl- a Br- se vymývají postupně.

Po natečení 5 ml kapaliny do odměrného válce, přelítjeho obsah do titrační baňky a válec vypláchnout 5 ml destilované vody do téže titrační baňky (pořadové číslo 0).

### 1.5. Postupná eluce aniontů a jímání frakcí. Stanovení obsahu analytu ve frakcích eluátu.

#### Eluce chloridů a stanovení obsahu chloridů ve frakcích eluátu

Sací hadičku čerpadla ponořit do kádinky s elučním roztokem (0,08 M NaNO3), pod výtok z kolonky postavit 5 ml odměrný válec a spustit čerpadlo. Po natečení 5 ml odměrný válec odstavit, nahradit dalším odměrným válcem a pokračovat v jímání eluátu.

První frakci přelít do titrační baňky, odměrný válec propláchnout 5 ml destilované vody do téže titrační baňky a odměrný válec připravit k jímání další frakce. Tento postup stále opakovat.

V titračních baňkách stanovovat halogenid titrací odměrným roztokem 0,02 M AgNO3 Mohrovou metodou na chroman draselný jako indikátor. Do titrační baňky přidat 3 kapky indikátoru K2CrO4 a titrovat roztokem 0,02 M AgNO3, dokud se původně nažloutlý zakalený roztok nezmění první kapkou zbarvení do červenohnědého tónu chromanu stříbrného.

Celkovou spotřebu odměrného roztoku porovnat s hodnotou teoretické maximální spotřeby 0,02 M AgNO3 na stanovovaný halogenid,. Je třeba si předběžně spočítat celkové teoretické látkové množství Cl- /Br- a množství Cl- /Br-, které byly vneseny na kolonu.

Při titracích zaznamenávat postupný růst obsahu halogenidů v titračních baňkách a jejich následný pokles. Pořadí baněk, kdy začíná a vrcholí eluce, závisí při konstantním toku mobilní fáze na koncentraci NaNO3 v elučním roztoku. Eluci je třeba provádět tak dlouho, až se při titracích minimalizují spotřeby AgNO3 (**POZOR!** neklesnou na původní hodnotu, hodnoty se pouze ustálí). Po dosažení tohoto stavu čerpadlo zastavit.

Po klesnutí hodnoty spotřeby titračního činidla 0,02 M AgNO3 na frakci stanovovaných halogenidů (tj. chloridů) na konstantní hodnotu, změnit eluční činidlo na 1 M NaNO3. Dále pokračovat v eluci Br-.

Eluci provádět tak dlouho, až se při titracích minimalizují spotřeby AgNO3 na úroveň jako v baňkách na začátku eluce. Po dosažení tohoto stavu čerpadlo zastavit.

**Průběžný kontrolní výpočet**:

Výsledky titrací zaznamenávat do tabulky, počítat celkovou spotřebu 0,02 M AgNO3 od první pozitivní frakce:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| frakce č. | Vfrakce | V(spotřeba 0,02 M AgNO3 na frakci) | Vcelková spotřeba | n stanoveno Cl- / Br- | m stanoveno Cl- / Br- |
|  | [ml] | [ml] | [ml] | [mmol] | [mg] |
| n | 5 | 0,11 | 0,11 |  |  |
| n + 1 | 5 | 1,1 | 1,21 |  |  |
| n + 2 | 5 |  |  |  |  |
| 0 |  |  |  |  |  |
| 1 |  |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |  |
| 5 |  |  |  |  |  |
| 6 |  |  |  |  |  |
| 7 |  |  |  |  |  |
| 8 |  |  |  |  |  |
| 9 |  |  |  |  |  |
| 10 |  |  |  |  |  |
| 11 |  |  |  |  |  |
| 12 |  |  |  |  |  |
| 13 |  |  |  |  |  |
| 14 |  |  |  |  |  |
| 15 |  |  |  |  |  |
| 16 |  |  |  |  |  |
| 17 |  |  |  |  |  |
| 18 |  |  |  |  |  |
| 19 |  |  |  |  |  |
| 20 |  |  |  |  |  |
| 21 |  |  |  |  |  |
| 23 |  |  |  |  |  |
| 24 |  |  |  |  |  |
| 25 |  |  |  |  |  |
| 26 |  |  |  |  |  |
| 27 |  |  |  |  |  |
| 28 |  |  |  |  |  |
| 29 |  |  |  |  |  |
| 30 |  |  |  |  |  |
| 31 |  |  |  |  |  |
| 32 |  |  |  |  |  |
| 33 |  |  |  |  |  |
| 34 |  |  |  |  |  |
| 35 |  |  |  |  |  |
| 36 |  |  |  |  |  |
| 37 |  |  |  |  |  |
| 38 |  |  |  |  |  |
| 39 |  |  |  |  |  |
| 40 |  |  |  |  |  |
| atd. |  |  |  |  |  |

### 1.6. Příprava kolony k další analýze

Hadičku čerpadla ponořit do roztoku 2 M NaNO3 a 10 minut kolonu promývat.

### 1.7. Sestrojení eluční křivky

Z naměřených dat sestrojit eluční křivku, tj. závislost obsahu Cl− a Br− v eluátu na objemu elučního činidla.

Do grafu vynést na osu **x** celkový objem eluátu, naměřený na výstupu z kolony od frakce označené 0, vytlačené při nanášení vzorku, a na osu **y** spotřebovaný objem titračního činidla AgNO3, tj. hodnoty přímo úměrné obsahu Cl- a Br- ve frakci.

Do grafu uvést i hodnotu objemové rychlosti průtoku mobilní fáze kolonou, vypočítanou z údajů o čase a objemu (odst. 1.4). Průměr kolony je 0,9 cm, výšku náplně je třeba změřit.

V grafu označit změnu koncentrace elučního činidla.

**1.8. Vyhodnocení**

Při vyhodnocení chromatografického dělení aniontů na ionexech uvést do protokolu:

* **mrtvý objem VM**, tj. objem, v němž se eluuje látka nezadržovaná na koloně, **a stanovení předpokládané první frakce, v níž bude stanoven Cl-**,tj.vypočítat objem náplně z hodnoty poloměru kolony a výšky sloupce sorbentu *h* podle vzorce vztahu

z tohoto objemu 40 % zaujímá roztok vně mezi zrny ionexu a tento objem je minimálním objemem, který opustí kolonu, než začne vytékat analyt, pokud není na koloně zadržován.

**VM vyznačit do sestrojeného elučního grafu**. Pokud se analyt bude zadržovat, objeví se až v následujících frakcích.

* **určit látkové množství Cl− a Br− v mmol, obsah Cl- a Br− v mg a porovnat je s vneseným známým množstvím Cl− a Br−.**
* **celkovou spotřebu odměrného roztoku porovnat s hodnotou teoretické maximální spotřeby 0,02 M AgNO3 vypočítanou jako objem titračního činidla, odpovídající celkovému látkovému množství Cl- a Br- vnesenému na kolonu.**
* **přiložit grafické zobrazení eluční křivky s vyznačeným mrtvým objemem, hodnotou objemové rychlosti průtoku mobilní fáze kolonou. V grafu vyznačit také změnu koncentrace elučního činidla.**