

VŠB-TU Ostrava - IEI	STŮL č. 1	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ TĚKAVÝCH HALOGENOVÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S DETEKČÍ NA PRINCIPU ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (GC/ECD)

### Pracovní úkol

1. Určete složení neznámého vzorku.
2. Pro přípravu vzorku k analýze použijte 2 různé postupy pro extrakci.
3. Separujte a identifikujte jejich jednotlivé analyty.
4. Vyhodnocením chromatogramu zjistíte retenční časy jednotlivých analytů.
5. Získané retenční časy analytů porovnejte s retenčními časy standardů a identifikujte jednotlivé analyty.
6. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k účinnosti použitých extrakcí stejného vzorku.

### Princip

**Plynová chromatografie (GC, Gas Chromatography)** je analytická a separační metoda určená k dělení a stanovení plynů, kapalin i látek pevných s bodem varu do cca 400 °C. Metoda je založena na rozdělování analytu mezi dvě fáze, a to fázi pohyblivou - *mobilní* a fázi nepohyblivou - *stacionární*. V plynové chromatografii je mobilní fází plyn, nazývaný **nosný plyn**. Stacionární fáze, kterou může být buď adsorbent nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází, je umístěna v chromatografické koloně. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace analytů a malé množství vzorku potřebné k analýze.

**Schéma plynového chromatografu** je uvedeno na obrázku 1. Mezi hlavní částí plynového chromatografu patří:

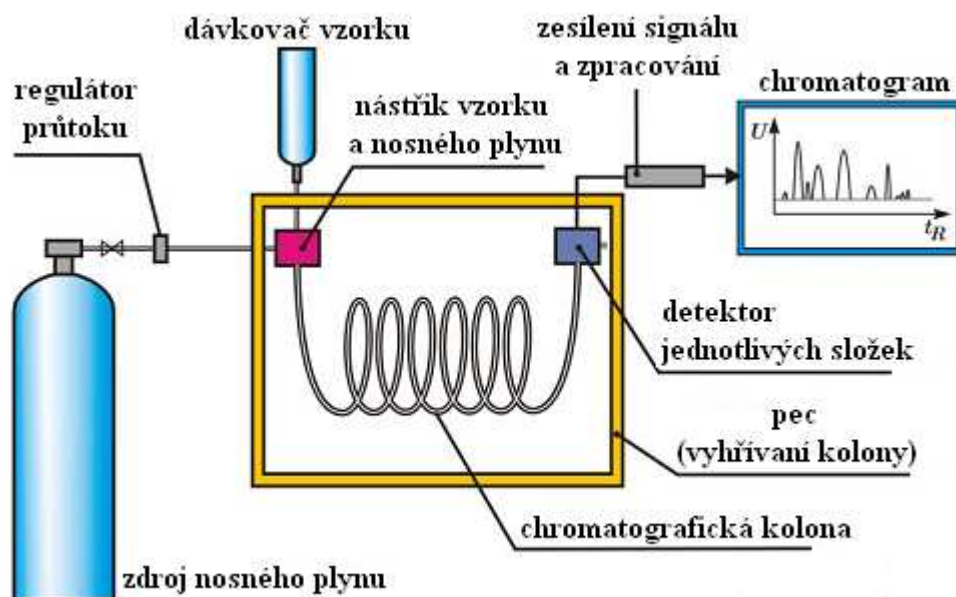
- **Injektor** slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Nástřik látky se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky přes septum, které odděluje vnitřek injektoru od vnějšího prostoru. Součástí injektoru je skleněná vložka (*liner*), ve které dochází vysokou teplotou k rychlému odpaření vzorku a ke správnému promíchání par vzorku s nosným plynem. Mezi injektor a kolonu je zařazen dělič toku (*splitter*), který umožňuje vést jen část odpařeného vzorku na kolonu (*splitovací pomer*, split ratio).
- **Regulátor průtoku** – jedná se o elektronické regulační zařízení, které slouží k ovládání průtoku a tlaku nosného plynu. Regulátor průtoku zaručuje konstantní průtok plynu kolonou a detektorem bez ohledu na typ nosného plynu, teplotu a rozměry kolony. Tlak je potom proměnnou veličinou a nastaví se automaticky podle viskozity plynu, vnitřního průměru kolony a délky kolony tak, aby průtok kolonou byl konstantní.
- **Zásobník nosného plynu** – nosný plyn představuje mobilní fázi. Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium, argon. Při volbě nosného plynu se uvažují následující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu.
- **Pec, termostat** – vyhřívá kolonu a udržuje její stálou teplotu.
- **Kolona** – ocelová, skleněná nebo křemenná trubice, ve které dochází k separaci plyné směsi. Rozeznáváme náplňové nebo kapilární kolony.

VŠB-TU Ostrava - IEI	STÚL č. 1	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ TĚKAVÝCH HALOGENOVÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S DETEKČÍ NA PRINCIPU ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (GC/ECD)

Náplňové kolony jsou trubice o průměru 2 až 5 mm a max. délce 4 m obsahující adsorbent nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází, délka náplňových kolon bývá od desítek centimetru do několika metru. Stacionární fáze u náplňových kolon může být pevná látka (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý, polymerní sorbenty apod.) nebo vysokovroucí kapalina nanosená v tenké vrstvě na pevném, inertním nosiči. *Kapilární kolony* se vyrábějí z křemenného skla a kvůli pevnosti jsou potaženy filmem polyamidu. Kapilární kolony nemají průměr větší než 5 mm, délka se může pohybovat od 10 do stovek metru. U kapilárních kolon je stacionární fáze nanosená v tenké vrstvě přímo na upravenou vnitřní stěnu křemenné kapiláry.

- Detektor – zaznamenává eluci (vyplavování) analytů už rozseparované směsi. Teplota detektoru by měla být vyšší, než je teplota plynu vycházejících z kolony, aby se zabránilo kondenzaci látek na stěnách detektoru. V plynové chromatografii se užívá několik typu detektoru, ale pro účel této úlohy bude využíván detektor elektronového záchytu (ECD – Electron Capture Detector) zdrojem ionizující energie u ECD je radioaktivní zářič  $^3\text{H}$  nebo  $^{63}\text{Ni}$ . Emitované záření  $\beta$  (proud elektronů) má příliš velkou energii a není zachycováno elektronegativními atomy složky. Kolizí molekul dusíku jako nosného plynu se zářením  $\beta$  dochází k jejich ionizaci. Při tom se uvolňují pomalé elektrony. Tyto elektrony již elektronegativní atomy složky zachytí a tím sníží ionizační proud.
- Vyhodnocovací zařízení – v současnosti osobní počítač s příslušným softwarovým vybavením.



*Obrázek č. 1: Zjednodušené schéma plynového chromatografu*

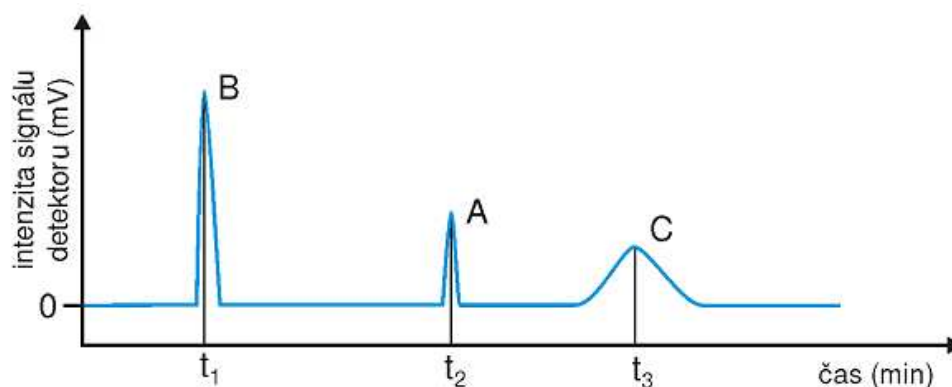
VŠB-TU Ostrava - IEI	STÚL č. 1	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ TĚKAVÝCH HALOGENOVÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S DETEKČÍ NA PRINCIPU ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (GC/ECD)

### Princip plynové chromatografie

**Nosný plyn** je odebírán z tlakové láhve přes redukční ventil. Po průchodu regulátory tlaku a průtoku přichází nosný plyn do nástříkové komory - **injektoru**. Do vyhřívaného bloku injektoru je dávkováno (nastříknuto) speciální stříkačkou malé množství vzorku (1-10  $\mu$ l kapalného vzorku). Injektor je vyhříván na takovou teplotu, aby v něm došlo k okamžitému zplynění vzorku. Z injektoru jsou páry vzorku unášeny nosným plynem na **kolonu**. V koloně dochází k separaci analytu směsi podle toho, jakou afinitu vykazují tyto analyty ke stacionární fázi. První vychází z kolony analyt, který má ke stacionární fázi nejnižší afinitu (je nejslaběji zadržován stacionární fází). Jako poslední vychází analyt, který má k stacionární fázi nejvyšší afinitu (je nejsilněji zadržován v koloně). Látky tedy postupně vycházejí z kolony v pořadí rostoucích hodnot distribučních konstant a vstupují do detektoru. **Detektor** indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Z detektoru vychází elektrický signál, který je zpracovaný **vyhodnocovacím zařízením** (PC).

Konečným výstupem je chromatografický záznam závislosti signálu detektoru na čase nazývaný jako **chromatogram** (viz obrázek č. 2), který obsahuje tzv. píky, náležící jednotlivým analytům směsi. U chromatogramu jsou na ose  $x$  zaznamenávány délkové jednotky nebo čas a na ose  $y$  odezva detektoru. Poloha píku na časové ose chromatogramu (osa  $x$ ) je mírou kvality analytu (identifikuje analyt), hovoří o tom „co je to“ za sloučeninu. Výška respektive plocha píku je mírou kvantity analytu v separované směsi, hovoří o tom „kolik“ je daného analytu ve směsi.



**Obrázek č. 2:** Vzorový chromatogram z dělení tří-složkové směsi (složky A, B, C)

Časy  $t_1$ ,  $t_2$  a  $t_3$  jsou tzv. **retenční časy analytů** (celkové časy, které příslušné analyty stráví v separační koloně) a jsou pro každou kolonu a analyt charakteristické. Součet ploch všech tří píků je v podstatě 100 % směsi. Plocha konkrétního píku analytu dělená plochou všech píků je obsahovým zlomkem dané složky ve směsi. Nejvyšší afinitu k stacionární fázi měl analyt C, nejnižší analyt B. Časová osa reprezentuje retenční čas.

VŠB-TU Ostrava - IEI	STÚL č. 1	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ TĚKAVÝCH HALOGENOVÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S DETEKČÍ NA PRINCIPU ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (GC/ECD)

### *Reagencie*

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

1. *Pentan*, nepolární extrakční rozpouštědlo.
2. *Dusík* (N<sub>2</sub>), čistoty minimálně 99,999 %.
3. *Methanol* (CH<sub>3</sub>OH), rozpouštědlo mísitelné s vodou.
4. *Thiosíran sodný*, pentahydrát (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5 H<sub>2</sub>O),

Roztok thiosíranu sodného (30 g/l) se připraví rozpuštěním 46 g ±0,2 g pentahydrátu thiosíranu sodného v 1000 ml ±5 ml vody (činidlo 5).

5. Voda k přípravě kalibračních roztoků a pro slepé stanovení.
6. Neznámý vzorek.

### *Přístroje a pomůcky*

- Plynový chromatogram s detektorem elektronového záchytu.
- Chromatografická kolona.
- Skleněné vialky na 40 ml se septem potaženým PTFE.
- Mechanická třepačka.
- Lahvičky se septem potaženým PTFE na 2 ml (ke skladování extraktu).
- Mikrostríkačky.
- Mikroseparator.
- Skelná vata promytá extrakčním rozpouštědlem.
- Skleněná láhev na 250 ml.
- Průtokoměr.

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Extrakce vzorku I.**

1. Ze vzorkovnice zcela naplněné vzorkem odlijte tolik vody, aby objem zbylého vzorku byl asi 200 ±10 ml.
2. Vzorkovnici se vzorkem zvažte pro pozdější přesné zjištění objemu vzorku.
3. Přidejte extrakční činidlo (činidlo 1) a následně vzorkovnici uzavřete.
4. Vzorkovnici umístěte na mechanickou třepačku a důkladně třepejte 5 minut.
5. Po třepání vzorkovnici nechte v klidu do rozdělení fází.
6. Pipetou přímo odtáhněte horní vrstvu rozpouštědla.

VŠB-TU Ostrava - IEI	STŮL č. 1	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ TĚKAVÝCH HALOGENOVÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S DETEKČÍ NA PRINCIPU ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (GC/ECD)

7. Pokud se Vám fáze zcela neoddělily, nahlaste to vyučujícímu a použijte následujícího postupu v mikroseparátoru.
8. Ucpávku ze skelné vaty zasuňte středovou trubicí mikroseparátoru do místa, kde se začíná rozšiřovat.
9. Trubicí a ucpávku opláchněte extrakčním rozpouštědlem (činitlo 1), a pak vysušte.
10. Mikroseparátor nasadte do hrdla vzorkovnice s extrahovaným vzorkem a do postranní trubice pomalu nalijte tolik vody (činitlo 5), aby extrakt vystoupil střední trubicí až nad skelnou vatu.
11. Ihned přikročte k rozboru plynovou chromatografií (viz úkol č. 3).

### Úkol č. 2: Extrakce vzorku II. pomocí vialky se septem

1. Do septa připravené vialky vpíchněte jehlu stříkačky tak, aby zasahovala asi 1 cm do vzorku.
2. Stříkačku na 5 ml naplňte extrakčním rozpouštědlem (činitlo 1) a objem v ní se nastavte na 2,5 ml. Dbejte na to, aby byly vypuzeny všechny vzduchové bubliny.
3. Jehlu této stříkačky vpíchněte septem co nehlouběji do vialky.
4. Vialku se stříkačkou obraťte dnem vzhůru.
5. Do vialky se stříkačkou vpravte 2,5 ml extrakčního činitla. Tím se otevřenou jehlou stříkačky vytěsni 2,5 ml vzorku.
6. Obě jehly vytáhněte a s vialkou 5 minut intenzivně třepejte.
7. Po uběhlé době přikročte k rozboru plynovou chromatografií (viz úkol č. 3).

### Úkol č. 3: Chromatografické stanovení

1. Chromatografická analýza Vámi připraveného vzorku se provádí vždy co nejdříve po extrakci vzorku.
2. Postupujte podle návodu k obsluze GC uloženého u přístroje.
3. Nejdříve uveďte přístroj do chodu, nastavte a ustalte si chromatografické podmínky (viz tabulka č. 1).
4. Před nástřikem nezapomeňte extrakt důkladně promíchat.
5. Vyhodnocením chromatogramu zjistíte retenční časy jednotlivých analytů.
6. Získané retenční časy analytů porovnejte s retenčními časy standardů (viz chromatogram přiložený u návodu k obsluze GC) a identifikujte jednotlivé analyty.
7. V závěru proveďte diskuzi k účinnosti použitých extrakcí stejného vzorku.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STÚL č. 1	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ TĚKAVÝCH HALOGENOVÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S DETEKČÍ NA PRINCIPU ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (GC/ECD)

*Tabulka č. 1: Chromatografické podmínky*

CHROMATOGRAFICKÉ PODMÍNKY	
Teplota nástřiku	240 °C
Objem nástřiku	1 µl
Délka kolony	10 m
Vnitřní průměr kolony	0,53 mm
Nosný plyn	dusík
Počáteční teplota kolony	40 °C po dobu 2 min.
Konečná teplota	200°C - nárůst 2°C/min.
Detektor	ECD
Teplota detektoru	300 °C
Přídavný plyn	dusík
Průtok přídavného plynu	25 ml/min

### **Závěr**

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

### **DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

## STANOVENÍ PCB VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE S ECD DETEKČÍ

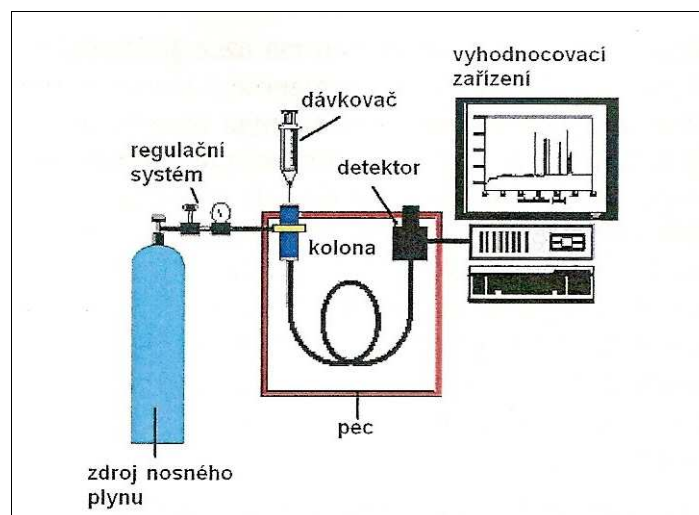
### Pracovní úkol

1. Stanovte PCB v připravených vzorcích.
2. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám.
3. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### Princip

**Polychlorované bifenyly (PCB<sub>s</sub>)** jsou chlorované deriváty bifenyly o sumárním vzorci  $C_{12}H_{10-x}Cl_x$  (kde  $x = 1 - 10$ ). PCB<sub>s</sub> jsou obecně považovány za jedny z nejnebezpečnějších chemických látek, působící na molekulární úrovni. Spolu s dioxiny, které vznikají (kromě jiných způsobů) i nedokonalým spalováním PCB<sub>s</sub>, jsou řazeny do kategorie nejjedovatějších organických látek s vysokým karcinogenním účinkem. Tak vysoká toxicita je dána především tím, že PCB<sub>s</sub> velice snadno váží nebo imitují proteiny a tak se rychle a jednoduše dostávají do metabolických procesů v buňce.

**Plynová chromatografie (GC, Gas Chromatography)** je analytická a separační metoda, pro dělení směsi látek o rozdílném bodu varu a rozdělovacím koeficientu. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebné k analýze. Touto technikou můžeme dělit všechny látky, které lze zahřátím na pracovní teplotu kolony převést na fázi plynou.



Obrázek č. 1: Zjednodušené schéma plynové chromatografy

Separace probíhá v **kapilární** nebo **náplňové koloně**, která obsahuje *stacionární* (nepohyblivou) fázi (sorbent) a *mobilní* (pohyblivou) fázi (nosný plyn či eluent). Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium, argon. Při volbě nosného plynu se uvažují následující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu.

Vypracování metodiky pro stanovení PCB<sub>s</sub> ve vodném prostředí bylo financováno projektem FRVŠ č. 2221/2008.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 2	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ PCB VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE S ECD DETEKCÍ

*Injektor* slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Nástřik látky se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky přes septum, které odděluje vnitřek injektoru od vnějšího prostoru. Součástí injektoru je skleněná vložka (*liner*), ve které dochází vysokou teplotou k rychlému odpaření vzorku a ke správnému promíchání par vzorku s nosným plynem. Mezi injektor a kolonu je zařazen dělič toku (*splitter*), který umožňuje vést jen část odpařeného vzorku na kolonu (*splitovací pomer*, split ratio).

V plynové chromatografii se používají *náplňové* nebo *kapilární kolony*. *Náplňové kolony* jsou trubice o průměru 2 až 5 mm a max. délce 4 m obsahující adsorbent nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází, délka náplňových kolon bývá od desítek centimetru do několika metru. Kolony se zhotovují ze skla nebo nerezové oceli. *Kapilární kolony* se vyrábějí z křemenného skla a kvůli pevnosti jsou potaženy filmem polyamidu. Kapilární kolony nemají průměr větší než 5 mm, délka se může pohybovat od 10 do stovek metru. Stacionární fáze je rozprostřena na vnitřních stěnách kapiláry.

*Detektor elektronového záchytu (ECD – Electron Capture Detector)* zdrojem ionizující energie u ECD je radioaktivní zářič  $^3\text{H}$  nebo  $^{63}\text{Ni}$ . Emitované záření  $\beta$  (proud elektronů) má příliš velkou energii a není zachycováno elektronegativními atomy složky. Kolizí molekul dusíku jako nosného plynu se zářením  $\beta$  dochází k jejich ionizaci. Při tom se uvolňují pomalé elektrony. Tyto elektrony již elektronegativní atomy složky zachytí a tím sníží ionizační proud.

### **Reagencie**

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

1. *Destilovaná voda*,
2. *n-hexan*, extrakční rozpouštědlo,
3. *Síran sodný* ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), bezvodý,  
Asi 250 ml až 300 ml práškového síranu sodného se 4 h  $\pm$ 30 min zahříváte při 500 °C  $\pm$ 20 °C a nechte vychladnout na 200 °C v muflové peci. Dále ho nechte vyhladnout v exikátoru nad chloristanem hořečnatým, nebo nad jinou látkou obdobných vlastností.
4. *Varné granule*, promyté acetonem,
5. *Rozpouštědlo mísitelné s vodou*,
6. *Sklenná vata*, promytá extrakčním rozpouštědlem.



VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 2	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ PCB VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRFIE S ECD DETEKČÍ

### *Pomůcky*

- Plynový chromatograf DANI.
- Detektor elektronového záchyty (ECD).
- Kolona pro plynovou chromatografii.
- Kolonka k sušení extraktu, naplněná 5 g síranu sodného (čínidlo 3) ve vrstvě 7 cm.
- Skleněné vzorkovnice na 250 ml, 1000 ml.
- Míchačka s magnetickým míchadélkem.
- Mikroseparator.
- Mikrokolona k čištění na florsilu.
- Odpařovač dle Kuderny a Danishe.
- Vzorkovnice z hnědého skla se zábrusovou zátkou.
- Mikrostříkačky.

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Extrakce**

1. Vzorek ve vzorkovnici protřepete a odlijte asi 70 ml vzorku (tím se uvolní dostatečný objem k následnému přidavku rozpouštědla).
2. Objem extrahovaného vzorku zjistíte dvojným vážením vzorkovnice před extrakcí a po vyprázdnění.
3. Ke vzorku přidejte 25 ml extrakčního rozpouštědla (čínidlo 2).
4. Směs v uzavřené nádobě míchejte 10 minut míchadlem magnetické míchačky s rychlostí 1000 ot/min.
5. Vyčkejte do oddělení fází.
6. Nasaďte mikroseparator. Do nálevky nalévejte vodu, tak dlouho, až povrch organické fáze vystoupí natolik, že ho bude snadné odebrat pipetou.
7. Extrakt dále sušte tak, že prolijete sušicí kolonou s bezvodným síranem sodným (čínidlo 3) předem promytý rozpouštědlem (čínidlo 2) a eluát jímejte do odpařovací nádoby.

#### **Úkol č. 2: Koncentrování**

1. Spojené vysušené extrakty se koncentrují.
2. Vysušený extrakt jímejte do Kuderna-Danishova odpařovače.
3. Po přidavku dvou varných granulí extrakt odpařujte na vroucí vodní lázni na objem 5 ml ± 1 ml.
4. Dále extrakt zakonzentrujte na méně než 1 ml mírným proudem dusíku.
5. Konečný extrakt převedte se septem do vialky.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 2	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ PCB VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE S ECD DETEKČÍ

### Úkol č. 4: Chromatografické stanovení

1. Provádí se vždy v následujícím cvičení.
2. Postupujte dle pokynů vyučujícího.
3. Před nástřikem nezapomeňte extrakt důkladně promíchat.

**Tabulka** - Naměřené hodnoty při stanovení koncentrace PCB<sub>s</sub> ve vzorcích.

### Závěr

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

### DŮLEŽITÉ

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

## STANOVENÍ NEL VE VODNÉM PROSTŘEDÍ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI S DETEKČÍ PLAMENOVĚ-IONIZAČNÍM DETEKTOREM

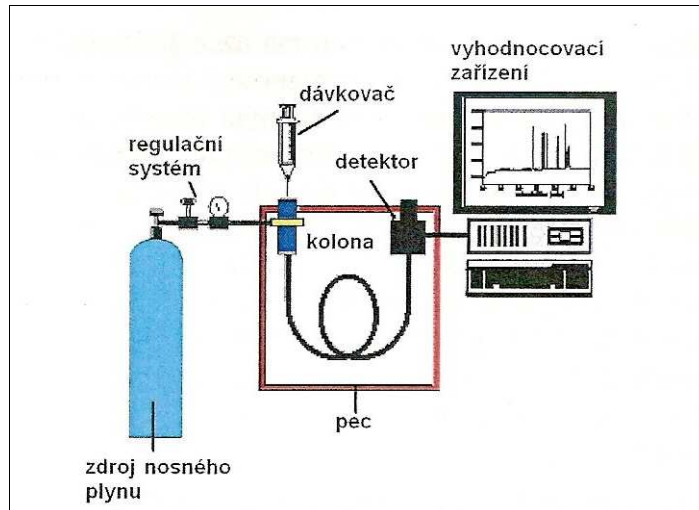
### Pracovní úkol

1. Stanovte NEL v připravených vzorcích.
2. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám.
3. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### Princip

**Nepolárně extrahovatelné látky (NEL)** stanovené metodou plynové chromatografie jsou brány jako suma koncentrací sloučenin extrahovatelných uhlovodíkovým rozpouštědlem bodu varu ležícího v rozsahu od 36 °C do 69 °C, a které se neadsorbují na Florosilu. Retenční časy těchto sloučenin leží mezi *n*-dekanem (C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>) a *n*-tetrakontanem (C<sub>40</sub>H<sub>82</sub>).

**Plynová chromatografie (GC, Gas Chromatography)** je analytická a separační metoda, pro dělení směsi látek o rozdílném bodu varu a rozdělovacím koeficientu. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebné k analýze. Touto technikou můžeme dělit všechny látky, které lze zahřátím na pracovní teplotu kolony převést na fázi plynou.



Obrázek č. 1: Zjednodušené schéma plynového chromatografu

Separace probíhá v **kapilární** nebo **náplňové koloně**, která obsahuje *stacionární* (nepohyblivou) fázi (sorbent) a *mobilní* (pohyblivou) fázi (nosný plyn či eluent). Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium, argon. Při volbě nosného plynu se uvažují následující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 3	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ NEL VE VODNÉM PROSTŘEDÍ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI S DETEKCÍ PLAMENOVĚ-IONIZAČNÍM DETEKTOREM

*Injektor* slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Nástřik látky se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky přes septum, které odděluje vnitřek injektoru od vnějšího prostoru. Součástí injektoru je skleněná vložka (*liner*), ve které dochází vysokou teplotou k rychlému odpaření vzorku a ke správnému promíchání par vzorku s nosným plynem. Mezi injektor a kolonu je zařazen dělič toku (*splitter*), který umožňuje vést jen část odpařeného vzorku na kolonu (*splitovací poměr*, split ratio).

V plynové chromatografii se používají *náplňové* nebo *kapilární kolony*. *Náplňové kolony* jsou trubice o průměru 2 až 5 mm a max. délce 4 m obsahující adsorbent nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází, délka náplňových kolon bývá od desítek centimetru do několika metru. Kolony se zhotovují ze skla nebo nerezové oceli. *Kapilární kolony* se vyrábějí z křemenného skla a kvůli pevnosti jsou potaženy filmem polyamidu. Kapilární kolony nemají průměr větší než 5 mm, délka se může pohybovat od 10 do stovek metru. Stacionární fáze je rozprostřena na vnitřních stěnách kapiláry.

*Plamenově-ionizační detektor (FID – Flame Ionization Detector)* je nejrozšířenějším detektorem v plynové chromatografii. Molekuly plynu se ionizují v kyslíkovodíkovém plameni, kde probíhají chemionizační reakce vedoucí ke vzniku nabitých částic. Nosný plyn se před vstupem do hořáku mísí s vodíkem. Vzduch je přiváděn z vnějšku. Detektor se sestává z ocelové trysky, do které vstupuje směs nosného plynu, vodíku a doplňkového plynu. Na špičce mikrohořáku pak dochází v proudu vzduchu ke spálení této směsi na ionty, které se detekují na polarizovaných elektrodách.

### **Reagencie**

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

1. *Destilovaná voda*,
2. *n-hexan*, extrakční činidlo,
3. *Síran sodný (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)*, bezvodý,
4. *Síran hořečnatý (MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O)*, heptahydrát,
5. *Kyselina chlorovodíková*,  $c(\text{HCl}) = 12 \text{ mol/l}$ ,  $\rho = 1,19 \text{ g/ml}$ , **POZOR ŽIRAVINA!!!**

Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete výpočet uvést i v laboratorním deníku) koncentrované kyseliny chlorovodíkové se přidá za stálého chlazení k 500 ml destilované vody a po ochlazení se doplní na objem 1000 ml.

6. *Propanon (aceton)*, C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O, **POZOR DRÁŽDIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**
7. *Florisil*, velikost zrn 150 μm až 250 μm,  
Zahříváný 16 h při teplotě 140 °C a uchovávaný v exsikátoru.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 3	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ NEL VE VODNÉM PROSTŘEDÍ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI S DETEKČÍ PLAMENOVĚ-IONIZAČNÍM DETEKTOREM

8. *Kalibrační směs ropných produktů,*

**POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**

Připravte si 5 kalibračních roztoků o koncentracích 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 mg/ml.

9. *Směs standardů *n*-alkanů,* ke zkoušce funkčnosti systému,

V extrakčním činidle (činidlo 2) se rozpustí *n*-alkany se sudými počty uhlíků ( $C_{20}$ ,  $C_{40}$  a nejméně tři další *n*-alkany), tak aby vznikly koncentrace jednotlivých složek přibližně 50 µg/ml.

10. **n*-Dekan,*  $C_{10}H_{22}$ , referenční sloučenina, **POZOR VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**

11. **n*-Tetrakontan,*  $C_{40}H_{82}$ , referenční sloučenina,

12. *Zásobní roztok referenčních činidel v extrakčním činidle,*  
**POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**

V extrakčním činidle (činidlo 2) se rozpustíte 20 mg *n*-tetrakontanu (činidlo 10). Potom se přidejte 20 µl *n*-dekanu (činidlo 9) a roztok zředíte extrakčním činidlem (činidlo 2) na 1000 ml. Roztok se uchovává v ledničce, je stálý 6 měsíců.

13. *Pracovní roztok referenčních činidel v extrakčním činidle,*  
**POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**

Zásobní roztok (činidlo 11) bezprostředně před použitím desetinásobně zředíte extrakčním činidlem (činidlo 2).

### *Pomůcky*

- Plynový chromatograf DANI.
- Plamenově-ionizační detektor (FID).
- Kolona pro plynovou chromatografii.
- Skleněné vzorkovnice na 250 ml, 1000 ml.
- Odstředivka.
- Centrifugační zkumavky na 100 ml.
- Mikroseparator.
- Ultrazvuková lázeň.
- Skleněné čistící kolony.
- Odparka dle Kuderny a Danishe.
- Magnetická míchačka.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 3	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ NEL VE VODNÉM PROSTŘEDÍ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI S DETEKČÍ PLAMENOVĚ-IONIZAČNÍM DETEKTOREM

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Extrakce**

1. Připravený vzorek zchlaďte přibližně na 10 °C, aby se zabránilo ztrátám extrakčního činidla těkáním.
2. Dále vzorek okyselte na hodnotu pH 2 kyselinou chlorovodíkovou (činidlo 5).
3. Přidejte 900 ml 80 g síranu hořečnatého.
4. Přidejte 10 ml pracovního roztoku (činidlo 12) (na 1000 ml) vzorku a vložte míchadlo magnetické míchačky, láhev uzavřete a míchejte intenzivně 30 minut na magnetické míchače.
5. Vyjměte zátku a místo ní nasadte mikroseparator.
6. Přidejte takové množství vody (činidlo 1), tak aby se dala odebrat vrstva extrakčního činidla z mikroseparatoru.
7. Skleněnou čistící kolonu promyjte extrakčním činidlem (činidlo 2).
8. Extrakt převedte na čistící skleněnou kolonu naplněnou 2 g Florisilu, který je překryt vrstvou 2 g síranu sodného (činidlo 3) a pokračujte úkolem č. 2.

#### **Úkol č. 2: Čištění**

8. Organickou fázi s dalšími 10 ml extrakčního činidla nechte protéct kolonkou a zakoncentrujte pomocí odparky (viz úkol č. 3).
9. Kolonku opět promyjte 10 ml extrakčního činidla.

#### **Úkol č. 3: Koncentrování**

1. Extrakt zkoncentrujte na odparce na objem 6 ml.
2. Dále extrakt zakoncentrujte na méně než 1 ml mírným proudem dusíku.
3. Objem doplňte extrakčním činidlem (činidlo 2) na 1 ml.
4. Konečný extrakt převedte se septem do vialky.

#### **Úkol č. 4: Chromatografické stanovení**

1. Provádí se vždy v následujícím cvičení.
2. Postupujte dle pokynů vyučujícího.
3. Před nástřikem nespomeňte extrakt důkladně promíchat.

**Tabulka** - Naměřené hodnoty při stanovení koncentrace NEL ve vzorcích.

#### **Závěr**

Odpoověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 3	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ NEL VE VODNÉM PROSTŘEDÍ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI S DETEKČÍ PLAMENOVĚ-IONIZAČNÍM DETEKTOREM

*Tabulka č. 1: Chromatografické podmínky stanovení NEL*

CHROMATOGRAFICKÉ PODMÍNKY	
Teplota nástřiku	300 °C
Objem nástřiku	1 µl
Délka kolony	30 m
Vnitřní průměr kolony	0,25 mm
Nosný plyn	vodík
Teplotní program	40 °C po dobu 5 min
	10 °C/min na 300 °C
	300 °C po dobu 20 min
Detektor	FID
Teplota detektoru	300 °C
Přídavný plyn	dusík
Průtok přídavného plynu	25 ml/min

### DŮLEŽITÉ

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

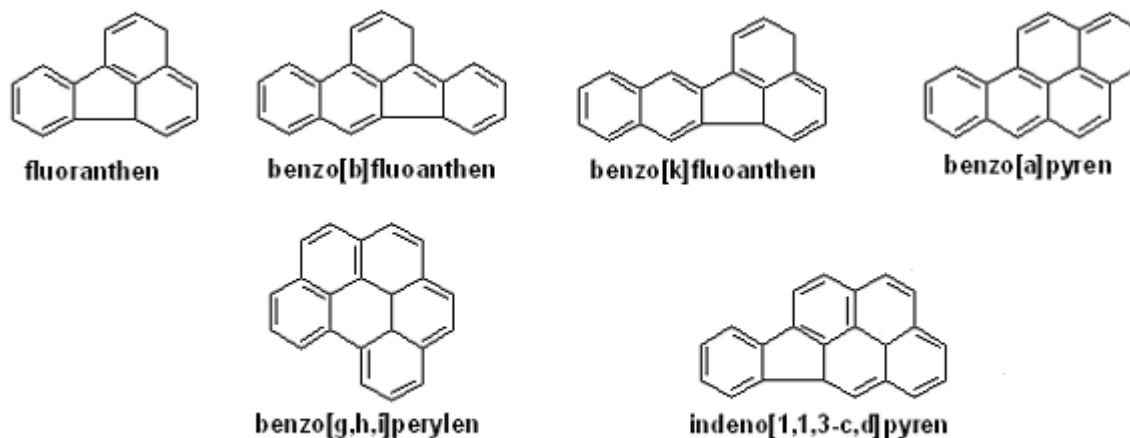
## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKČÍ

### Pracovní úkol

1. Stanovte vybrané PAH ve vzorku povrchové a odpadní vodě.
2. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
3. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### Princip

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs - polynuclear aromatic hydrocarbons) je skupina látek, do které patří více než 100 sloučenin. Jsou tvořené uhlíkem a vodíkem, dvěma a více benzenovými jádry. Pro svou schopnost dlouhodobě přetrvávat v životním prostředí a zdravotní závažnost (projevují toxické, karcinogenní a mutagenní vlastnosti) jsou považovány za typické představitele perzistentních organických polutantů (POPs).



Obrázek č. 1: Vybrané PAH<sub>s</sub>

PAHs charakteristicky zapáchají, páry mají dráždivé účinky na oči a kůži, působí fotosensibilizaci a byly prokázány i negativní účinky na ledviny a játra. Studie na zvířatech prokázaly vliv na snížení plodnosti a vývojové vady potomků. Mají výraznou schopnost vázat se na pevných sorbentech nebo částicích (prach) i v živých organismech (schopnost bioakumulace). Významnou vlastností PAHs je schopnost tvořit další sloučeniny, které mohou být dokonce mnohem více karcinogenní.

Do životního prostředí vstupují jako odpadní produkty nedokonalého spalování fosilních paliv nebo jako výluh z bitumenových nátěrů vodovodního potrubí. Velmi vhodnou metodou k analýze těchto látek je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).



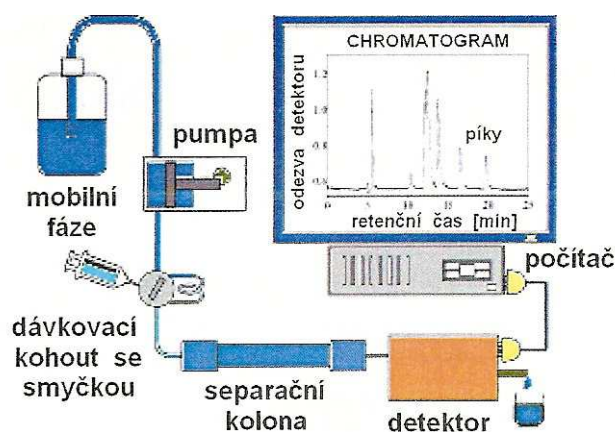
## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKCÍ

**Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography)** představuje velmi perspektivní metodu pro separaci látek ve směsi. HPLC se od klasické kapalinové chromatografie (LC) liší tím, že pracuje s úzkými kolonami (průměr 2 – 8 mm) a k jejich plnění používá tříděný materiál s malými částicemi (nejlépe o průměru 3 – 10 μm). K účinné separaci je třeba použít dostatečně malá zrníčka sorbentu, která kladou prostupující kapalině značný odpor. Průtok pohyblivé mobilní kapalně fáze probíhá pod tlakem čerpadla (na rozdíl od LC, kde probíhá účinkem gravitace).

Separace probíhá v **separační koloně**, která obsahuje *stacionární* (nepohyblivou) *fázi*, kterou je sorbent a *mobilní* (pohyblivou) *fázi* – eluent. Kolony se používají pouze náplňové. Jsou z tlustého borosilikátového skla pro nižší tlaky nebo z nerezové oceli pro vysoké tlaky kolem 50 MPa. Kolony jsou poměrně krátké (5 až 30 cm).

Díky **pumpě pro HPLC** dosahuje tlak mobilní fáze až 40 MPa. Používají se čerpadla nebo lineární dávkovače.

U HPLC prochází eluát vytékající z kolony průběžně detektorem, který je vestavěn do jejího výtoku. Detektor pak automaticky a kontinuálně měří některou z fyzikálních vlastností eluátu. Fluorescenční detektor je založen na principu fluorescence. Jde o schopnost látek absorbovat ultrafialové (UV) záření a pak vysílat záření o vyšší vlnové délce, které se měří fotonásobičem kolmo na směr vstupujícího záření.



Obrázek č. 2: Zjednodušené schéma HPLC

### Reagencie

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 4	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKCÍ

1. *Ultračistá voda*,  
Používá se k přípravě mobilní fáze a roztoků činidel. Uchovává se v láhvi se šroubovacím uzávěrem (PTFE septum a krytka).
2. *Thiosíran sodný*, pentahydrát ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ), granulovaný, dechlorační prostředek,
3. *n-hexan* ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ), nepolární extrakční rozpouštědlo,  
Čistí se třepáním s kyselinou sírovou, promyje se vodou (čínidlo 1), vysuší nad bezvodým síranem sodným (čínidlo 4) a předestiluje.
4. *Síran sodný* ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), bezvodý, granulovaný, neutrální, sušený 4 h při 400 °C,
5. *Chlorid sodný* ( $\text{NaCl}$ ),
6. *Kyselina sírová*, ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ),  $\rho = 1,84 \text{ g/ml}$ , **POZOR ŽIRAVINA!!!**
7. *Silikagel*, průměr zrn 40  $\mu\text{m}$ ,  
Aktivovaný 16 h při 130 °C a po vychladnutí uchováván v exsikátoru.
8. *Dichlormethan*, **POZOR JED!!!**
9. *Acetonitril* ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), pro HPLC,  
**POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**  
Destilovaný ve skle, používá se k přípravě mobilní fáze a zásobních standardních roztoků.
10. *Dusík* ( $\text{N}_2$ ), čistoty minimálně 99,999 %,
11. *Methanol* ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), rozpouštědlo pro přípravu vodných standardních roztoků,  
**POZOR TOXICKÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**
12. *PAU*, zásobní standardní roztoky,  
**POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**  
Připravte je jednotlivě z tuhého preparátu PAU (kromě fluoranthenu) v koncentracích např. (10  $\pm$ 0,1) mg na 100 ml příslušného rozpouštědla (čínidlo 9). Pro přípravu fluoranthenu se navažuje např. (10  $\pm$ 0,1) mg látky na 20 ml rozpouštědla. Zásobní standardní roztoky v lahvičkách z PTFE uzávěrem se skladují při 4 °C a chrání se před světlem.
13. *PAU*, zásobní směsný standardní roztok (zásobní roztok směsi standardních látek),  
**POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**  
Připravte je např. odměřením 2 ml zásobních standardních roztoků jednotlivých PAU (čínidla 12) do odměrné baňky na 100 ml a doplní se rozpouštědlem (čínidlo 11) po rysku; 1 ml roztoku obsahuje 10  $\mu\text{g}$  fluoranthenu a po 2  $\mu\text{g}$  ostatních PAU. Roztok se uchovává ve tmě při 4 °C. Po vypotřebování asi poloviny objemu se již roztok dále nepoužívá. Zásobní roztoky se musí obnovovat po šesti měsících.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 4	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKČÍ

14. PAU, kalibrační standardní roztoky,

### **POZOR ZDRAVÍ ŠKODLIVÝ, VYSOCE HOŘLAVÝ!!!**

Kalibrační roztoky se připraví ze zásobních standardních roztoků, nebo z komerčně dostupných certifikovaných standardních roztoků např. s koncentrací fluoranthenu 10 ng/μl a po 2 ng/μl ostatních PAU v rozpouštědle (čínidlo 9): Do řady odměrných baněk na 10 ml se odměří např. 20; 40; 60; 80; 100 a 120 μl zásobního směsného standardního roztoku (čínidlo 13) a doplní se po rysku. V 1 ml takto připravených kalibračních roztoků je 20; 40; 60; 80; 100 a 120 ng fluoranthenu a 4; 8; atd. až 24 ng ostatních PAU.

15. Kyselina chlorovodíková (HCl),  $\rho = 1,18$  g/ml, **POZOR ŽIRAVINA!!!**

### *Přístroje a pomůcky*

#### 1. Pro extrakci a koncentraci

- Magnetická míchačka – rychloběžná.
- Čerpadlo.
- Vakuová vývěva.
- Rotační vakuový odpařovač.
- Tlaková láhev s dusíkem, redukční ventil.
- Filtrační kolona naplněná vhodným molekulárním sítem (průměr póru 0,4 nm).
- Mikrostříkačky.
- Třepačka.
- Mikroseparator.
- Koncentrační srdcovky.
- Sorpční kolonky s náplní 0,5 g silikagelu.
- Dělicí nálevky (na 2 l), (na 125 ml).
- Nálevka s vatovou zátkou.
- Erlenmayerove baňky (250 ml).
- Skleněná tyčinka.
- Ultrazvuková lázeň.
- Sušící kolona – chromatografická kolona.
- Koncentrátor Kudrna-Danish (na 10 ml).
- Vialky (na 10 ml až 15 ml) – z hnědého skla se šroubovacími uzávěry potaženými PTFE.
- Odpařovací zařízení.
- Ultrazvuková vana.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 4	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKČÍ

### 2. Pro HPLC

- Vysokoúčinný kapalinový chromatogram (HPLC) s příslušenstvím.
- Fluorescenční detektor (FLD).
- Analytické kolony.
- Dávkovací mikropipety 10 µl (1 ks), 50 µl (1 ks).

### *Postup*

#### Úkol č. 1: Extrakce a koncentrace

1. Pokud jsou ve vzorku patrné nerozpuštěné látky, musíte vzorek homogenizovat magnetickou míchačkou.
2. Poté část vzorku odlijte tak, aby ve vzorkovnici zůstal objem (1000 ±10) ml vzorku a vzorkovnici se vzorkem zvažte s přesností na ±1 g (hodnotu zapište).
3. Do vzorkovnice přidejte 20 g NaCl (čínidlo 5) a 25 ml extrakčního rozpouštědla (čínidlo 3) a vše promíchejte na třepačce (popřípadě míchačce).
4. Obsah vzorkovnice přelijte do dělicí nálevky.
5. Po 5 minutách, kdy se fáze oddělí, extrakt převed'te do Erlenmeyerovy baňky na 250 ml se zabroušenou zátkou.
6. Vodná fáze se přelijte do vzorkovnice a proved'te druhou extrakci s 25 ml extrakčního rozpouštědla (čínidlo 3). Oba se spojí.
7. Po extrakci dělicí nálevku propláchněte 10 ml stejného extrakčního rozpouštědla a proplach připojte k extraktu.
8. Spojené extrakty 30 minut sušte přidavkem bezvodného síranu sodného (čínidlo 4) a roztok neustále míchejte skleněnou tyčinkou. Správně odvodněný extrakt se vám bude jevit číre a bude obsahovat dobře vyvinuté krystaly hydrátu síranu sodného.
9. Je-li třeba, prázdnou vzorkovnici zvažte.
10. Extrakt zfiltrujte přes fritu S 4 do srdcovky (popřípadě přes nálevku s vatovou zátkou).
11. Erlenmeyerovou baňku propláchněte extrakčním rozpouštědlem a proplach zfiltrujte vrstvou bezvodného síranu sodného a připojte k extraktu v srdcovce.
12. Zahuštění extraktu proved'te pomocí Kudrny-Danische koncentrátoru.

#### Úkol č. 2: Čištění extraktu

1. Extrakty vzorků vod se čistí na silikagelu.
2. Sorpční kolonu se silikagelem (čínidlo 9) prolijte pětinasobným objemem náplně směsí dichlormethanu (čínidlo 8)/n-hexanem (čínidlo 3) v poměru 1:1 a upravte stejným objemem n-hexanu.
3. Na hexanovou vrstvu zbývající nad povrchem silikagelu pipetou naneste koncentrovaný extrakt (500 µl).

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 4	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKČÍ

4. Po vsáknutí extraktu srdcovku vypláchněte 500 µl hexanu.
5. PAU eluujte směsí dichlormethanu/n-hexanu v poměru 1:1.
6. Eluát jímejte do srdcovky a zahušťujte asi na 500 µl na rotačním vakuovém odpařovači při teplotě 30 °C za kontrolovatelného tlaku (200 kPa).
7. Extrakt dále zahušťujte od foukáním dusíkem přiváděným k jeho hladině za normální teploty právě do sucha.
8. Suchý zbytek rozpustěte ve 200 µl až 500 µl (podle očekávaného obsahu PAU a složení mobilní fáze - acetonitril dávkovaných mikrostříkačkou).
9. Extrakt převeděte do vialek.

### Úkol č. 3: Chromatografické stanovení PAH

1. Provádí se vždy v následujícím cvičení.
2. Postupujte dle pokynů vyučujícího.
3. Před nástřikem nezapomeňte extrakt důkladně promíchat.

*Tabulka č. 1: Chromatografické podmínky stanovení PAH*

CHROMATOGRAFICKÉ PODMÍNKY	
<b>Technika</b>	HPLC
<b>Kolona</b>	CP-EcoSpher 4 PAH (150 x 3 mm)
<b>Mobilní fáze</b>	A - acetonitril
	B - voda
<b>Průtok</b>	0,5 ml/min
<b>Detektor</b>	FLD, λ exc. = 254 nm
<b>Teplota</b>	20 °C
<b>Nástřik</b>	10 µl
GRADIENT	
<b>0-1 min</b>	0 % A
<b>1-20 min</b>	z 0 % A na 100 % A
<b>20-33 min</b>	100 % A
<b>33-35 min</b>	ze 100 % A na 0 % A

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 4	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) VE VODNÉM PROSTŘEDÍ METODOU VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRRAFIE (HPLC) S FLUORESCENČNÍ DETEKČÍ

**Tabulka** - Naměřené hodnoty při stanovení koncentrace PAH ve vzorcích.

### **Závěr**

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

### **DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU****ČÁST 1: POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH*****Pracovní úkol***

1. Stanovte pH ve vzorku pitné, povrchové, destilované a minerální vody.
2. V závěru rovněž proved'te diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
3. Výsledné hodnoty porovnejte s vyhláškou č. 229/2007 Sb., příloha č. 3 a s vyhláškou 252/2004 Sb., příloha č. 1. (umístěny na nástěnce v laboratoři).

***Princip***

**Potenciometrie** je metoda využívající pro stanovení aktivity (koncentrace) sledované látky měření elektromotorického napětí elektrochemických článků.

1. Přímá potenciometrie – koncentrace sledované látky lze určit přímo z naměřené hodnoty napětí článku (stanovení hodnoty pH).
2. Nepřímá potenciometrie - koncentrace sledované látky lze určit ze změny napětí článku v závislosti na přidávku titračního činidla (potenciometrická titrace s potenciometrickou indikací bodu ekvivalence).

Elektrochemické články (elektrody) používané při potenciometrických metodách sestávají ze dvou elektrod:

1. Elektroda měrná (indikační) – její potenciál je závislý na koncentraci stanovované látky, je tvořena skleněnou membránou ze sodno-vápenatého skla.
2. Elektroda srovnávací (referentní) – její potenciál nezávisí na koncentraci stanovované látky, např. chloridostříbrná nebo merkurochloridová (kamelová) elektroda.

Nejčastěji se však používá skleněná kombinovaná elektroda spojená s referentní elektrodou.

Hodnota pH neboli koncentrace vodíkových iontů je definována jako záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iontů. Významně ovlivňuje chemické, fyzikálně chemické a biologické procesy probíhající ve vodách. Umožňuje také rozlišit jednotlivé formy výskytu některých prvků ve vodách a je jedním z hledisek pro posuzování agresivity vody.

Hodnota pH povrchových vod se pohybuje v rozmezí od 6,5 do 8,5. Pokles pH vody pod 4,5 je způsoben přítomností anorganických i organických volných kyselin (např. huminové látky). Vody s pH nad 8,3 obsahují ionty  $\text{CO}_3^-$  nebo  $\text{OH}^-$ . Krátkodobá zvýšení hodnoty pH (10 – 11) vodního prostředí vlivem intenzivní fotosyntézy, fytoplanktonu a ponořené makrovegetace bývají spojeny s biogenní dekalifikací, což mívá zpravidla katastrofální důsledky pro ryby a ostatní vodní živočichy.

Vzorky se odebírají do polyethylenových láhví nebo do skleněných láhví.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU**

Hodnota pH se stanovuje různými metodami, počínaje jednoduchými způsoby při užití indikátorových papírků, barevných indikátorů a konče složitějšími elektrometrickými metodami. Kolorimetrické metody využívají barevnou změnu použitých indikátorů, mají omezenou přesnost, a proto vyhovují pouze pro orientační stanovení hodnoty pH vody nebo pro terénní měření. Kromě univerzálního indikátoru, který pokrývá významnou část rozsahu pH stupnice, se v literatuře uvádí celá řada acidobazických indikátorů, pracujících pouze v úzkém rozsahu hodnot pH. Zabarvení vzorku po přidání těchto indikátorů se pak srovnává se zabarvením standardních tlumivých roztoků a na základě tohoto srovnání se určuje hodnota pH vzorku.

Nejčastěji se dnes hodnota pH stanovuje potenciometricky (pomocí pH-metru). pH-metry mohou být buď laboratorní, nebo přenosné. Každý pH-metr se musí před každým měřením kalibrovat. Kalibrace pH-metru se provádí pomocí přiložených kalibračních pufrů a změřené teploty. Lze provést jednobodovou kalibraci za použití jednoho pufru (pufr 7 – neutrální). U dvoubodové kalibrace se volí pufr 7 a dále pufr podle předpokládané hodnoty pH prostředí (kyselé – pufr 4, zásadité – pufr 10). Pokud se provádí třibodová kalibrace, používají se tři pufrы, a to buď vzestupně (nejdříve pufr 4, pak pufr 7 a nakonec pufr 10) nebo sestupně (pufr 10, pak pufr 7 a nakonec pufr 4).

***Reagencie***

1. Destilovaná voda.
2. Povrchová voda – donese student.
3. Minerální voda (mořská voda) – donese student.
4. Pitná voda.
5. Pufr 4, 7, 10.

***Pomůcky***

- pH - metr.
- Titrační baňky (4 ks).
- PE stříčka.

***Postup***

1. Vzorek povrchové, pitné, minerální a destilované vody nalijte do titrační baňky tak, aby byla z poloviny naplněna.
2. Množství vzorku vody zvolte tak, aby elektroda pH-metru byla z poloviny ponořena.
3. Poté proveďte kalibraci pH-metru pomocí přiložených kalibračních pufrů a změřené teploty. Proveďte jednobodovou kalibraci pH-metru, tzn., volíte pouze pufr 7.
4. Následně můžete provést vlastní měření, a to tak, že vložíte elektrodu do kádinky se vzorkem a po 2 minutách odečtete hodnotu pH. Pokud měříte více vzorků, je nutné vždy po skončení měření opláchnout elektrodu destilovanou vodou.



**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU*****Vyjadřování výsledků***

Výsledné hodnoty stanovení pH se uvádí na 2 desetinná místa.

***Závěr***

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

**ČÁST 2: STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM  
OCTĚ POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ  
ANALÝZOU, POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ KYSELINY  
DUSIČNÉ VE VZORKU*****Pracovní úkol***

1. Potenciometricky a pak odměrnou neutralizační titrací stanovte a vypočítejte koncentraci kyseliny octové v obchodním octě.
2. Potenciometricky stanovte a vypočítejte přesnou koncentraci kyseliny dusičné.
3. Z vypočtených hodnot  $\text{CH}_3\text{COOH}$  vypočítejte chybu stanovení. (Vycházejte ze skutečnosti, že obchodní ocet by měl obsahovat 8%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .)
4. V závěru proveďte diskusi k rozdílně naměřeným hodnotám. Zakreslete titrační křivku kyseliny octové a dusičné.

***Princip***

Kyselina octová je slabá jednosytná kyselina s disociační konstantou  $\text{pK}_a = 4,75$ .

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = 1,8 \cdot 10^{-5}$$

Jak vyplývá z výrazu pro disociační konstantu a z obrázku č. 1, je složení roztoku kyseliny octové závislé na hodnotě pH. Experimentální hodnota disociační konstanty kyseliny octové se odečte z titrační křivky jako hodnota pH v bodě, v němž je poměr koncentrací konjugované kyseliny a zásady právě roven jedné, tedy  $[\text{CH}_3\text{COOH}]/[\text{CH}_3\text{COO}^-] = 1$ .

Při titraci kyseliny octové hydroxidem sodným je vytvářen v titrovaném roztoku octanový pufr obsahující ještě netitrovanou kyselinu octovou a octan sodný vzniklý titrací kyseliny octové. Pufrací kapacitu octanového pufru lze v každém bodě titrace vypočítat podle vztahu:

## POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH

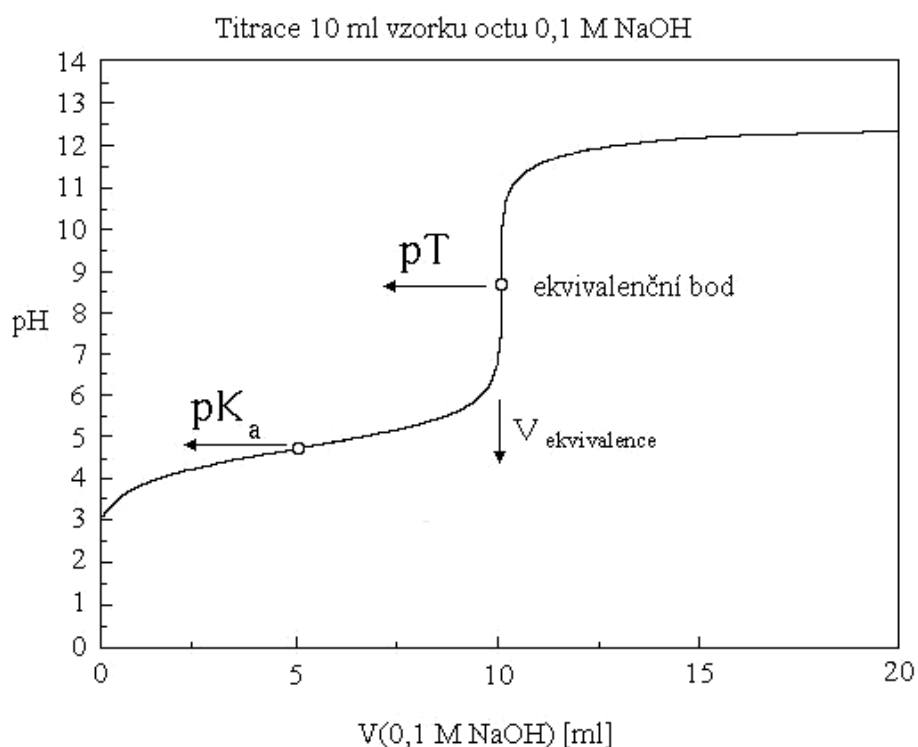
STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU

$$\beta = \frac{db}{dpH} = - \frac{da}{dpH} = 2,303 \cdot \frac{K_a \cdot [H_3O^+] \cdot (c_k + c_s)}{(K_a + [H_3O^+])^2}$$

kde  $c_k$  je koncentrace ještě netitované kyseliny a  $c_s$  je koncentrace již vzniklé soli.

Kyselinu octovou lze stanovit titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného za použití fenolftaleinu jako indikátoru (**Alkalimetrie – neutralizační odměrná analýza**) nebo za použití potenciometrické indikace bodu ekvivalence (**nepřímá potenciometrie**). Budete měřit závislost pH titrovaného roztoku na množství přidaného titračního činidla, 0,1 M odměrného roztoku NaOH. Grafickým znázorněním titrace s potenciometrickou indikací je titrační křivka, která vyjadřuje závislost elektromotorického napětí článku na objemu přidávaného titračního činidla. Měřené hodnoty budete zapisovat do tabulky a po jejich vynesení na milimetrový papír získáte titrační křivku kyseliny octové.

Vyhodnocením této křivky určíte ekvivalenční bod, což je pH v bodě ekvivalence.



Obrázek 1: Titrační křivka kyseliny octové

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 5	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH

### STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU

#### Reagencie (činnidla)

- Hydroxid sodný**, odměrný roztok,  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽÍRAVINA!!!**  
K asi 500 ml vody se pomalu za stálého míchání přidá vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) hydroxidu sodného. Po ochlazení se odměrná baňka doplní na objem 1000 ml.
- Kyselina chlorovodíková**, odměrný roztok  $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽÍRAVINA!!!**  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete výpočet uvést i v laboratorním deníku) koncentrované kyseliny chlorovodíkové (36 %  $\rho = 1,16 \text{ g/ml}$ ) se přidá za stálého chlazení k 500 ml destilované vody a po ochlazení se doplní na objem 1000 ml.
- Fenolftalein**, indikátorový roztok (0,5 %)  
0,5 g fenolftaleinu se rozpustí v 50 ml ethanolu (96 %), zředí se 50 ml destilované vody a dobře se promíchá. K roztoku se po kapkách přidává roztok NaOH o koncentraci 0,01 mol/l až do prvního postřehnutelného růžového zbarvení. Indikátor se uchovává v láhvi z hnědého skla.
- Methylová oranž**, indikátorový roztok (0,05 %)  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) sodné soli methylové oranže se rozpustí ve 100 ml horké destilované vody a po vychladnutí se zfiltruje.
- Obchodní ocet (8 %) – donese student.
- Vzorek č. 1 - kyselina dusičná.

#### Pomůcky

- Odměrná baňka na 1000 ml (2 ks).
- Byreta (2 ks).
- Pipeta 10 ml (1 ks).
- Kádinka (2 ks).
- PE stříčka.
- Titrační baňky (4 ks).
- pH-metr.
- Pufr 4, 7.
- Tyčinka (1 ks).

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU***Postup***Úkol č. 1: Stanovení přesné koncentrace odměrného roztoku 0,1-M NaOH a určení titračního faktoru.**

Reakce probíhá podle rovnice:



1. Přes nálevku přelijte odpovídající množství HCl do byrety.
2. Do titrační baňky odpipetujte 25 ml odměrného roztoku 0,1-M NaOH, jehož přesnou koncentraci zjišťujete.
3. Přidejte asi 25 ml destilované vody a opatrně promíchejte.
4. Přidejte 3 kapky indikátoru methylooranž.
5. Slabě žlutý roztok titrujeme po kapkách za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M HCl (**POZOR ŽÍRAVINA!**) do cibulově červeného zabarvení.
6. Zapište množství spotřebovaného roztoku 0,1-M HCl a vypočtete přesnou koncentraci NaOH a titrační faktor.

**Úkol č. 2: Potenciometrické stanovení koncentrace kyseliny octové v obchodním octě**

1. Přes nálevku přelijte odpovídající množství NaOH do byrety.
2. Ocet zředíte v odměrné baňce na 100 ml 10x.
3. Z takto zředěného roztoku odpipetujte 10 ml do titrační baňky.
4. Proveďte kalibraci pH-metru pomocí dvoubodové kalibrace (nejprve pH 7, poté pH 4).
5. Zapišete nulovou počáteční hodnotu pH vzorku.
6. Vzorek titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M NaOH (**POZOR ŽÍRAVINA!**) při přídavicích po 1 ml. Po každém jednotlivém přídávku titračního činidla (0,1-M NaOH) měřte pH roztok. Titrujte do spotřeby 20 ml.
7. Údaje o pH roztoku vzorku a objemu titračního činidla v jednotlivých přídavicích vynášejte do grafu závislosti (titrační křivky).
8. Odečtete bod ekvivalence a určete koncentraci kyseliny octové v octě.

**Úkol č. 3: Alkalimetrické stanovení kyseliny octové v obchodním octě**

1. Přes nálevku přelijte odpovídající množství NaOH do byrety.
2. Ocet zředíme v odměrné baňce na 100 ml 10x.
3. Z takto zředěného roztoku odpipetujte 10 ml do titrační baňky.
4. Přidejte 2 kapky fenolftaleinu.
5. Bezbarvý vzorek titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M NaOH (**POZOR ŽÍRAVINA!!**) do prvního trvalého fialového zbarvení.
6. Odečtete spotřebu odměrného roztoku (0,1-M NaOH).
7. Titraci opakujte ještě 4x a vypočítejte průměrnou spotřebu odměrného roztoku 0,1 M NaOH.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU**

8. Vytvořte tabulku jednotlivých spotřeb a průměrnou hodnotu spotřeby odměrného roztoku použijte pro závěrečný výpočet koncentrace kyseliny octové.
9. Hustoměrem změřte hustotu octu a hodnotu zapište.

**Úkol č. 4: Potenciometrické stanovení koncentrace kyseliny dusičné v připraveném vzorku**

1. Přes nálevku přelijte odpovídající množství NaOH do byrety.
2. Z připraveného vzorku kyseliny dusičné (vzorek č. 1) odpipetujte 10 ml do titrační baňky a doplňte na 100 ml destilovanou vodou.
3. Proveďte kalibraci pH-metru pomocí dvoubodové kalibrace (nejprve pH 7, poté pH 4).
4. Zapišete nulovou počáteční hodnotu pH vzorku.
5. Vzorek titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M NaOH (**POZOR ŽIRAVINA!**) při přídavicích po 1 ml. Po každém jednotlivém přídávku titračního činidla (0,1-M NaOH) měřte pH roztok. Titrujte do spotřeby 20 ml.
6. Údaje o pH roztoku vzorku a objemu titračního činidla v jednotlivých přídavicích vynášejte do grafu závislosti (titrační křivky).
7. Odečtěte bod ekvivalence a určete koncentraci kyseliny dusičné.

**Tabulka** – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace kyseliny octové v octě potenciometricky.

**Tabulka** – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace kyseliny octové v octě alkalimetricky.

**Tabulka** – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace kyseliny dusičné potenciometricky.

**Výpočty**

1. Výpočet množství kyseliny chlorovodíkové (36 %) použité pro přípravu 0,1-M kyseliny chlorovodíkové ( $\rho = 1,16 \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) na objem 1000 ml.
2. Výpočet množství hydroxidu sodného použité pro přípravu 0,1-M NaOH na objem 1000 ml.
3. Výpočet množství methylové oranže použité pro přípravu 0,05 % roztoku methylové oranže na objem 100 ml.
4. Vypočtěte přesnou koncentraci odměrného roztoku 0,1 M NaOH, kterou jste stanovili titrací 0,1-M HCl.

$$c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) = V(\text{HCl}) \cdot c(\text{HCl})$$

kde:

$c(\text{NaOH})$  je přesná látková koncentrace stanovovaného hydroxidu v mol/l;

$V(\text{NaOH})$  je objem stanovovaného hydroxidu odpipetovaný k analýze v ml;

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU**

$c(\text{HCl})$  je látková koncentrace HCl v mol/l;  
 $V(\text{HCl})$  je spotřeba kyseliny chlorovodíkové při titraci v ml;

5. Napište rovnici reakce NaOH a HCl, vypočtete na základě rovnice faktor titrace  $F_t$ .

6. Výpočet hmotnosti kyseliny octové v obchodním octu stanovené potenciometricky a alkalimetricky.

$$m(\text{CH}_3\text{COOH}) = V_{p,a}(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}) \cdot M(\text{CH}_3\text{COOH}) \cdot F_t \cdot F_z$$

$m(\text{CH}_3\text{COOH})$  je hmotnost kyseliny octové v g;  
 $c(\text{NaOH})$  je látková koncentrace NaOH v mol/l;  
 $V_p(\text{NaOH})$  je objem odměrného činidla NaOH v bodě ekvivalence stanovené potenciometricky v l;  
 $V_a(\text{NaOH})$  je objem odměrného činidla NaOH v bodě ekvivalence stanovené alkalimetricky v l;  
 $M(\text{CH}_3\text{COOH})$  je molární hmotnost kyseliny octové;  
 $F_t, F_z$  je faktor titrace, faktor zředění.

7. Výpočet koncentrace kyseliny octové v octu

$$c(\text{CH}_3\text{COOH}) = \frac{n(\text{CH}_3\text{COOH})}{V(\text{octu})}$$

kde:

$c(\text{CH}_3\text{COOH})$  je molární koncentrace kyseliny octové v octě v mol/l;  
 $n(\text{CH}_3\text{COOH})$  je látkové množství rozpuštěné látky v mol;  
 $V(\text{octu})$  je objem vzorku octu pipetovaný při analýze v l.

8. Výpočet hmotnostního zlomku kyseliny octové v octu

$$w\%(\text{CH}_3\text{COOH}) = \frac{m(\text{CH}_3\text{COOH})}{\rho(\text{octa}) \cdot V(\text{octa})} \cdot 100$$

kde:

$w\%(\text{CH}_3\text{COOH})$  je hmotnostního procento kyseliny octové v octě v %;  
 $m(\text{CH}_3\text{COOH})$  je hmotnost kyseliny octové (výpočet 6) v g;  
 $V(\text{octa})$  je objem vzorku octu pipetovaný při analýze v l;  
 $\rho(\text{octa})$  je hustota octa změřená hustoměrem v  $\text{kg/m}^3$ .

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY OCTOVÉ V OBCHODNÍM OCTĚ  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU****9. Výpočet koncentrace kyseliny dusičné**

$$c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) = V(\text{HNO}_3) \cdot c(\text{HNO}_3)$$

kde:

 $c(\text{HNO}_3)$  je stanovená koncentrace kyseliny dusičné v připraveném vzorku mol/l; $V(\text{HNO}_3)$  je objem vzorku kyseliny dusičné vzatý k analýze v ml; $c(\text{NaOH})$  je přesná látková koncentrace stanovovaného hydroxidu v mol/l; $V(\text{NaOH})$  je objem odměrného činidla NaOH v bodě ekvivalence v ml.**Závěr:**

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

**DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník ověřený podpisem vyučujícího.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK

### ČÁST 1: STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU

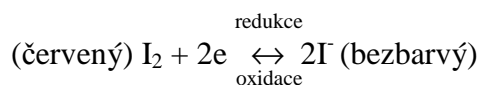
#### *Pracovní úkol*

1. Jodometricky stanovte a vypočítejte obsah kyseliny L-askorbové v jedné tabletě Celaskonu.
2. Výsledné hodnoty srovnajte s obsahem vitamínu C uváděného na balení a vypočtete chybu stanovení.
3. Sledujte úbytek kyseliny L-askorbové vařením a vyčíslte v % ztráty kyseliny L-askorbové vařením.
4. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám kyseliny L-askorbové srovnané s obsahem vitamínu C, uvedeném na balení a ztráty kyseliny L-askorbové vařením.
5. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

#### *Princip*

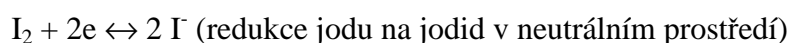
Jodometrie představuje metody, při kterých se využívá oxidačně-redukční reakce jodu a jodidu. Jedná se jak o titraci jodem (oxidimetrie), tak i titraci vzniklého jodu (reduktometrie) po oxidaci jodidů.

Základem jodometrických titrací je vratná reakce, při které se jod (oxidační činidlo) redukuje na jodid (redukční činidlo) a naopak jodidový ion se oxiduje na jod podle rovnice:



Jodometrické metody se dělí do dvou skupin:

**Metody přímé**, kdy se stanovovaná látka titruje odměrným roztokem jodu (odbarví se) v neutrálním prostředí. Při reakci se jod redukuje na jodid a látka schopná oxidace se při tom oxiduje. Nezreagovaný jod stanovíme titrací se sirnatanem:



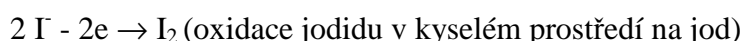
Indikátorem bodu ekvivalence je škrobový roztok, který se přebytečnou kapkou jodu **zbarví modře**.



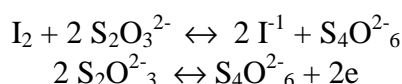
VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK

**Metody nepřímé**, kdy se ke vzorku přidá známý objem jodidu draselného (KI) v nadbytku. Stanovená látka schopná redukce se v kyselém prostředí nadbytkem jodidu redukuje a jodid se při tom oxiduje na jod.

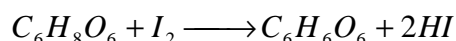


Uvolněný jod se titruje odměrným roztokem siričanu (thiosíranu disodného – Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), který při reakci přechází na tetrathionan



**Modře zbarvený indikátor** (škrobový roztok) se v bodě ekvivalence přebytkem Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> odbarví.

Kyselina askorbová se působením jodu snadno oxiduje na dehydroaskorbovou kyselinu podle následující rovnice:



Kyselinu askorbovou lze přímo titrovat v kyselém prostředí roztokem jodu. Reakce probíhá před koncem titrace pomalu, a proto se v okolí ekvivalence musí titrovat roztok opatrně a důkladně promíchávat. K zosíření respektive ozřejmění ekvivalence při titraci se používá intenzivně modré zbarvení, které poskytuje jód v přítomnosti jodidových iontů se škrobem. Podstata reakce mezi jodem a škrobem se vysvětluje adsorpcí jodu a jodidu na škrob.

### **Reagencie (činnidla)**

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

- 1. Destilovaná voda**, převařená,
- 2. Kyselina sírová**,  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽIRAVINA!!!**  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) kyseliny sírové se rozpustí v destilované vodě a po ochlazení se s touto vodou doplní na objem 1000 ml.
- 3. Jod**, odměrný roztok,  $c(\text{I}_2) = 0,1 \text{ mol/l}$ ,  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) kyseliny sírové se rozpustí v destilované vodě a po ochlazení se s touto vodou doplní na objem 1000 ml.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK

4. Škrobový roztok, indikátor 4%,  
4 g rozpustného bramborového škrobu a 0,2 g kyseliny salicylové (konzervační látka) se smísí asi 50 ml destilované vody. Tato suspenze se vlije za stálého míchání do asi 1 l vroucí destilované vody a krátce se povaří. Roztok škrobu se musí při indikaci jodu zbarvovat čistě modře (nikoliv zeleně či fialově).
5. *Celaskon* (4 tablety obsahující 100mg kyseliny l-askorbové v 1 tabletě) – **donese student.**

### *Pomůcky*

- Odměrné baňky na 50 ml, 1000 ml (3 ks).
- Nálevka.
- Byreta.
- Kádinky 150 ml (4 ks).
- Titrační baňka (4 ks).
- Odměrná baňka na 50 ml (3 ks).
- Pipeta na 2 ml (1 ks), 5 ml (1 ks).
- Vaříč.
- Hodinové sklíčko.

### *Postup*

#### *Úkol č. 1: Jodometrické stanovení kyseliny L-askorbové*

1. Tabletou Celaskonu (100 mg kyseliny L-askorbové v 1 tabletě) rozpusťte v 50 ml předem převařené a ochlazené destilované vodě.
2. Přidejte 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (činidlo 2) a dobře promíchejte.
3. Dále přidejte 2 ml škrobového indikátoru (činidlo 5).
4. Za stálého míchání titrujte odměrným roztokem jodu (činidlo 3) až do modrého zbarvení.
5. Spotřebu odměrného roztoku jodu zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočtete hmotnost kyseliny L-askorbové v jedné tabletě Celaskonu (získanou hodnotu použijte jako spotřebu odměrného roztoku v čase 0 minut pro úkol č. 2).

#### *Úkol č. 2: Sledování úbytku kyseliny L-askorbové vařením*

1. Ve 3 kádinkách rozpusťte 3 x 1 tabletu Celaskonu v 50 ml předvařené destilované vodě a následně vytemperované na teplotu laboratoře.
2. Kádinky přikryjte hodinovým sklíčkem a dejte je vařit po dobu 10, 20 a 30 minut (viz tabulka č. 1). Snažte se udržet slabý var, aby nedošlo k vyvaření a spálení vzorku.
3. Po 10 minutách sejměte z vaříče první kádinku a opatrně ji ochlaďte na teplotu laboratoře. Postupně tak učiňte i po 20 a 30 minutách s ostatními kádinkami.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

- Po vytemperování kvantitativně převed'te roztoky z kádinek do 50 ml odměrných baněk a doplňte po rysku na objem 50 ml. Odměrné baňky si pečlivě označte, aby nedošlo k záměně.
- Vzorky přelijte do titračních baněk.
- Přidejte 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (činidlo 2) a 2 ml škrobového indikátoru (činidlo 4) a dobře promíchejte.
- Za stálého míchání postupně titrujte roztoky odměrným roztokem jodu až do modrého zbarvení.
- Spotřebu odměrného roztoku jodu zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočtete hmotnost kyseliny L-askorbové po 10, 20, 30 minutovém vaření. Rovněž vyčíslete ztráty kyseliny L-askorbové vařením v %.

*Tabulka 1: Spotřeba odměrného roztoku jodu po vaření*

	Doba varu [min]			
	0	10	20	30
Spotřeba odměrného roztoku jodu [ml]				
Hmotnost kyseliny L-askorbové [mg]				

*Tabulka* – Všechny naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení kyseliny L-askorbové

**Výpočty**

- Výpočet množství 98 % kyseliny sírové použité pro přípravu 1 M kyseliny sírové ( $\rho = 1,84 \text{ g/ml}$ ) na objem 1000 ml.
- Výpočet množství jodu použité pro přípravu 0,1 M roztoku jodu na objem 1000 ml.
- Výpočet hmotnosti kyseliny L-askorbové ve vitamínu

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = V(\text{I}_2) \cdot c(\text{I}_2) \cdot M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \cdot F_t \cdot F_z$$

$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$  je hmotnost kyseliny L-askorbové v mg;  
 $c(\text{I}_2)$  je látková koncentrace odměrného roztoku jodu v mol/l;  
 $V(\text{I}_2)$  je objem odměrného činidla jodu v bodě ekvivalence v ml;  
 $M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$  je molární hmotnost kyseliny askorbové;  
 $F_t, F_z$  je faktor titrace, faktor zředění.

- Chyba měření
- Vyčíslení ztráty vařením v %

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK

### *Vyjadřování výsledků*

Výsledky stanovení obsahu kyseliny L-askorbové se uvádí v mg na dvě desetinná místa.

### *Závěr*

Odpověď na odstavce pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

## ČÁST 2: STANOVENÍ KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY

### *Pracovní úkol*

1. Stanovte a vypočítejte zásadovou (ZNK) a kyselinovou (KNK) neutralizační kapacitu hořčíku ve vzorku pitné, povrchové a minerální (mořské) vody.
2. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
3. Na základě zjištěných hodnot KNK a ZNK stanovte iontové formy CO<sub>2</sub>.
4. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### *Princip*

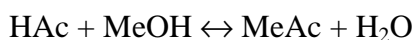
Neutralizační kapacitou (NK) vody se rozumí látkové množství silné jednosytné kyseliny či silné jednosytné zásady v mmol, které spotřebuje 1 litr vody k dosažení zvolené hodnoty pH. Neutralizační kapacita se dá také kvantifikovat jako schopnost vody vázat vodíkové nebo hydroxidové ionty. Rozlišuje se kyselinová (neutralizační) kapacita (KNK) a zásadová (neutralizační) kapacita (ZNK) podle toho, zda se během stanovení snižuje nebo zvyšuje hodnota pH sledovaného vzorku.

KNK je kvantitativně vyjádřena jako schopnost vody reagovat s vodíkovými ionty. Stanovení KNK ruší silnější zbarvení, zákal nebo volný chlor. Vzorky se odebírají do polyethylenových láhví nebo do borokřemičitanového skla objemu nejméně 100 ml. Přírodní a užitkové vody obvykle vykazují pH v rozmezí 4,5 až 8,3, a proto se z kyselinových kapacit nejčastěji stanovuje pouze KNK<sub>4,5</sub>.

ZNK kvantitativně vyjádřena jako schopnost vody reagovat s hydroxidovými ionty. Stanovení ZNK ruší silnější zbarvení, zákal nebo volný chlor. Vzorky se odebírají do polyethylenových láhví nebo do borokřemičitanového skla objemu nejméně 100 ml. Přírodní a užitkové vody obvykle vykazují pH v rozmezí 4,5 až 8,3, a proto se z kyselinových kapacit nejčastěji stanovuje pouze ZNK<sub>8,3</sub>.

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

Stanovení KNK a ZNK se používá při analýze přírodních a užitkových vod. Neutralizační kapacity se stanovují neutralizačními titracemi. **Neutralizační titrace** (acidobazické) jsou založeny na vzájemné neutralizaci vodíkových a hydroxylových iontů (přenosu protonu z činidla na stanovovanou látku a naopak). Podle druhu činidla v byretě dělíme neutralizační titrace na **alkalimetrii**, kdy koncentraci kyseliny ve vzorku stanovujeme titrací louhem a **acidimetrii**, kdy koncentraci zásady ve vzorku stanovujeme titrací kyselinou podle rovnice:



Při titraci roztokem zásady nebo kyseliny dochází v bodě ekvivalence k náhlé změně pH. Vzniká z kyseliny (HAc) a zásady (MeOH) sůl (MeAc) a voda. U kyselých roztoků je převaha vodíkových iontů, u roztoků alkalických převládají ionty hydroxylové a u neutrálních je koncentrace obou iontů vyrovnána. Za přítomnosti neutralizačního (acidobazického) indikátoru dojde k barevné změně roztoku a je dosaženo bodu ekvivalence. Acidobazické indikátory jsou slabé organické kyseliny nebo zásady, jejichž konjugované zásady či kyseliny jsou rozdílně zbarveny.

Podle toho jaké pH vykazuje měřený vzorek, použijeme vhodné odměrné činidlo. Pro každý vzorek lze stanovit pouze 2 z měřených neutralizačních kapacit:

pH vzorku	Stanovit lze
pH < 4,5	ZNK <sub>4,5</sub> a ZNK <sub>8,3</sub>
4,5 < pH < 8,3	KNK <sub>4,5</sub> a ZNK <sub>8,3</sub>
pH > 8,3	KNK <sub>4,5</sub> a KNK <sub>8,3</sub>

ZNK<sub>4,5</sub> (celková acidita) se stanovuje titrací vzorku vody odměrným roztokem 0,1-M NaOH nebo 0,01-M NaOH na indikátor methylooranže nebo na směsný indikátor nebo se stanovuje potenciometrickou titrací.

ZNK<sub>8,3</sub> (zjevná acidita) se stanovuje titrací vzorku vody odměrným roztokem 0,1-M NaOH na indikátor fenolftalein nebo se stanovuje potenciometrickou titrací.

KNK<sub>4,5</sub> (celková alkalita) se stanovuje titrací vzorku vody odměrným roztokem 0,1-M HCl na indikátor methylooranže, na směsný indikátor nebo se stanovuje potenciometrickou titrací.

KNK<sub>8,3</sub> (zjevná alkalita) se stanovuje titrací vzorku vody odměrným roztokem 0,1-M HCl, na indikátor fenolftalein nebo se stanovuje potenciometrickou titrací.

### **Reagencie (činidla)**

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

1. *Kyselina chlorovodíková*, odměrný roztok  $c(\text{HCl})=0,1 \text{ mol/l}$ ,  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) koncentrované kyseliny chlorovodíkové (36 %  $\rho = 1,16 \text{ g/ml}$ ) se přidá za stálého chlazení ke 200 ml destilované vody a po ochlazení se doplní na objem 500 ml.
2. *Methylová oranž*, indikátorový roztok (0,05 %),  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) sodné soli methylové oranže se rozpustí v 100 ml horké destilované vody a po vychladnutí se zfiltruje.
3. *Směsný indikátor*, indikátorový roztok (bromkreslová zeleň a methylová červeň),  
0,2 g bromkreslové zeleně se rozpustí v 100 ml ethanolu (96 %) a přidá se 0,015 g methylové červeně. Indikátor se uchovává v láhvi z hnědého skla.
4. *Fenolftalein*, indikátorový roztok (0,5%),  
0,5 g fenolftaleinu se rozpustí v 50 ml ethanolu (96 %), zředí se 50 ml destilované vody a dobře se promíchá. K roztoku se po kapkách přidává roztok NaOH o koncentraci 0,01 mol.l<sup>-1</sup> až do prvního postřehnutelného růžového zbarvení. Indikátor se uchovává v láhvi z hnědého skla.
5. *Hydroxid sodný*, odměrný roztok  $c(\text{NaOH}) = 15 \text{ mol/l}$ ;  
625 g NaOH se rozpustí asi v 1000 ml destilované vody. Při této reakci je nutno věnovat zvýšenou pozornost, protože se jedná o koncentrovaný roztok hydroxidu a rozpouštění je doprovázeno silným vývojem tepla a vznikají i dráždivé výpary. Roztok se nechá několik dnů ustát. Uchovává se v dobře uzavřené polyethylenové láhvi.
6. *Hydroxid sodný*, odměrný roztok  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ ;  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) zásobního roztoku NaOH (činidlo 5) se zředí s destilovanou vodou a doplní na objem 500 ml.
7. *Hydroxid sodný*, odměrný roztok  $c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol/l}$ ;  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) zásobního roztoku NaOH (činidlo 6) se zředí s destilovanou vodou a doplní na objem 500 ml. Tento roztok není vhodné příliš dlouho uchovávat.
8. Povrchová voda – donese student.
9. Pitná voda, destilovaná voda.
10. Minerální (mořská) voda – donese student.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

***Pomůcky***

- Titrační baňky 150 ml (8 ks).
- Stojan (2 ks).
- Upevňovací šrouby.
- Byrety (2 ks).
- PE stříčka.
- Pipeta 50 ml (1 ks).
- Kádinka 250 ml, 150 ml.
- Nálevka (2 ks).
- Odměrná baňka 500 ml (2 ks).
- Tyčinka (1 ks).

***Postup***

**Úkol č. 1: Stanovení KNK<sub>4,5</sub> ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody**

1. Do titrační baňky o objemu 150 ml odpipetujte 50 ml vzorku povrchové, pitné a minerální vody.
2. Stejný postup provádějte s destilovanou vodou (slepý vzorek).
3. Přes nálevku přelijte odpovídající množství HCl do byrety.
4. K roztoku přidejte asi 3 kapky indikátorového roztoku methylové oranže nebo směšného indikátoru.
5. V případě methyloranže titrujte 0,1-M kyselinou chlorovodíkovou ze žlutého zbarvení do cibulové (oranžová s náznakem fialové) barvy, v případě směšného indikátoru titrujte 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou z modrého zbarvení do šedé barvy.
6. Spotřebu 0,1-M kyseliny chlorovodíkové zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočtěte kyselinovou neutralizační kapacitu. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

**Úkol č. 2: Stanovení KNK<sub>8,3</sub> ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody**

1. Do titrační baňky o objemu 150 ml odpipetujte 50 ml vzorku povrchové, pitné a minerální vody.
2. Stejný postup provádějte s destilovanou vodou (slepý vzorek).
3. K roztoku přidejte asi 2 kapky indikátorového roztoku fenolftaleinu.
4. Nezbarví-li se roztok růžově, pak je hodnota KNK<sub>8,3</sub> rovna nule.
5. Růžově zbarvený roztok se titruje 0,1-M kyselinou chlorovodíkovou až do odbarvení.
6. Spotřebu 0,1-M kyseliny chlorovodíkové zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočtěte kyselinovou neutralizační kapacitu. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

**Úkol č. 3: Stanovení ZNK<sub>8,3</sub> ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody**

1. Do titrační baňky o objemu 150 ml odpipetujte 50 ml povrchové, pitné a minerální vody.
2. Stejný postup provádějte s destilovanou vodou (slepý vzorek).
3. K roztoku přidejte asi 2 kapky indikátorového roztoku fenolftaleinu.
4. Titrujte za opatrného míchání odměrným roztokem 0,01-M NaOH až do barevného přechodu indikátoru do růžové barvy.
5. Spotřebu 0,01-M hydroxidu sodného zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte zásadovou neutralizační kapacitu. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

**Úkol č. 4: Stanovení ZNK<sub>4,5</sub> ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody**

1. Do titrační baňky o objemu 150 ml odpipetujte 50 ml vzorku povrchové, pitné a minerální vody.
2. Stejný postup provádějte s destilovanou vodou (slepý vzorek).
3. K roztoku přidejte asi 3 kapky indikátorového roztoku methylové oranže nebo směšného indikátoru.
4. V případě methylované titrujte 0,01-M hydroxidem sodným do žlutého zbarvení, v případě směšného indikátoru titrujte do modrého zbarvení
5. Spotřebu 0,01 M hydroxidu sodného zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte zásadovou neutralizační kapacitu. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

*Tabulka* – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení KNK.

*Tabulka* – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení ZNK.

**Výpočty**

1. Výpočet množství kyseliny chlorovodíkové (36 %) použité pro přípravu 0,1 M kyseliny chlorovodíkové ( $\rho = 1,16 \text{ g/ml}$ ) na objem 500 ml.
2. Výpočet množství sodné soli methylové oranže použité pro přípravu 0,05 % indikátorového roztoku methylové oranže na objem 100 ml.
3. Výpočet množství hydroxidu sodného použité pro přípravu 0,1 M hydroxidu sodného ze zásobního roztoku 15 M NaOH na objem 500 ml.
4. Výpočet množství hydroxidu sodného použité pro přípravu 0,01 M hydroxidu sodného ze zásobního roztoku 0,1 M NaOH na objem 500 ml.
5. Výpočet kyselinové neutralizační kapacity

$$KNK_{4,5;8,3} = \frac{c(\text{HCl}) \cdot V_t \cdot 1000}{V_v}$$



VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 6	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody Organické kontaminanty		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK

kde:

- KNK<sub>4,5; 8,3</sub> je kyselinová neutralizační kapacity podle zvolené hodnoty pH v mmol/l;  
 $c(\text{HCl})$  je látková koncentrace odměrného roztoku HCl v mol/l;  
 $V_t$  je objem roztoku HCl, spotřebovaný do konce titrace v ml;  
 $V_v$  je objem vzorku, vzatý k titraci v ml.

### 6. Výpočet zásadové neutralizační kapacity

$$\text{ZNK}_{4,5;8,3} = \frac{c(\text{NaOH}) \cdot V_t \cdot 1000}{V_v}$$

kde:

- ZNK<sub>4,5; 8,3</sub> je zásadová neutralizační kapacity podle zvolené hodnoty pH v mmol/l;  
 $c(\text{NaOH})$  je látková koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol/l;  
 $V_t$  je objem roztoku NaOH, spotřebovaný do konce titrace v ml;  
 $V_v$  je objem vzorku, vzatý k titraci v ml;

### Vyjadřování výsledků

Výsledek měření stanovení KNK a ZNK se zaokrouhluje na dvě platná čísla a vyjadřuje se v mmol.l<sup>-1</sup>.

### Závěr

Odpověď na odstavce pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

## ČÁST 2: STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT KNK A ZNK

### Pracovní úkol

1. Na základě zjištěných hodnot KNK a ZNK stanovte iontové formy CO<sub>2</sub>.
2. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### Princip

Nejdůležitějším protolytickým systémem v přírodních vodách je uhličitánový systém (oxid uhličitý CO<sub>2</sub>, hydrogenuhličitany HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, uhličitany CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), který významně ovlivňuje složení a vlastnosti vod (hodnotu pH, neutralizační a tlumivou kapacitu, agresivitu), a také všechny procesy jejich chemické nebo fyzikálně-chemické úpravy.

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

Oxid uhličitý rozpuštěný ve vodě se nazývá volný oxid uhličitý a často se pro něj užívá symbol H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub><sup>\*</sup>, aby se zdůraznil jeho kyselý charakter. Oxid uhličitý je rozpuštěn ve vodě v molekulární formě jako volně hydratované molekuly, označované obvykle jako [CO<sub>2</sub>(aq)], které ve vodě zcela převažují. Na nedisociovanou kyselinu uhličitou H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> připadá méně než 1 % rozpuštěného oxidu uhličitého. Proto se hovoří o volném oxidu uhličitém a nikoli o volné kyselině uhličité. Látkovou koncentraci volného oxidu uhličitého ve vodě lze vyjádřit touto rovnicí:

$$c(\text{CO}_2 \text{ volný}) = c[\text{CO}_2(\text{aq})] + c(\text{H}_2\text{CO}_3^*)$$

Další dvě formy uhličitánového systému ve vodě tvoří hydrogenuhličitany (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) a uhličitany (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), které vznikají disociací molekul kyseliny uhličitě H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Součet obou těchto forem se někdy označuje jako vázaný oxid uhličitý. Součet všech tří forem oxidu uhličitého (volného, hydrogenuhličitánového a uhličitánového) udává tzv. veškerý (celkový) oxid uhličitý (CO<sub>2</sub>)<sub>T</sub>.

Zastoupení výše uvedených forem výskytu CO<sub>2</sub> ve vodě se vypočítává z hodnot neutralizačních kapacit (KNK<sub>4,5</sub>, KNK<sub>8,3</sub>, ZNK<sub>8,3</sub>) pro jednotlivé hodnoty pH. Při hodnotě pH menších než 4,5 bude veškerý oxid uhličitý ve vodě přítomen jen ve formě volného oxidu uhličitého a koncentrace hydrogenuhličitánů i uhličitánů budou zanedbatelné. Při hodnotách pH v rozsahu 4,5 až 8,3 bude veškerý CO<sub>2</sub> ve vzorku přítomen souběžně jako volný oxid uhličitý a jako hydrogenuhličitany. Koncentrace uhličitánů budou zanedbatelné. Při hodnotách pH nad 8,3 se z analytického hlediska považuje koncentrace volného oxidu uhličitého za nestanovitelnou (udává se jako hodnota 0) a z uhličitánového systému převažují hydrogenuhličitany. Při hodnotách pH větších než 8,3 se souběžně vyskytují hydrogenuhličitany a uhličitany, které však převažují až při hodnotách pH nad 10,5 v kombinaci s OH<sup>-</sup>, kdy je již koncentrace hydrogenuhličitánu zanedbatelná.

### Výpočet

#### 1. Je-li hodnota pH vzorku nižší než 4,5

Je-li hodnota pH vzorku nižší než 4,5, pak je to způsobeno přítomností vodíkových kationtů ze silných kyselin. Veškerý oxid uhličitý bude ve vodě přítomen jen ve formě volného oxidu uhličitého a koncentrace hydrogenuhličitánů i uhličitánů a hydroxidových aniontů budou zanedbatelné.

$$\text{ZNK}_{4,5} = c(\text{H}^+) - c(\text{HCO}_3^-) - 2c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{OH}^-) \rightarrow \text{ZNK}_{4,5} = c(\text{H}^+)$$

$$\text{ZNK}_{8,3} = c(\text{H}^+) + c(\text{HCO}_3^*) - c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{OH}^-) \rightarrow \text{ZNK}_{8,3} = c(\text{H}^+) + c(\text{HCO}_3^*)$$

Z toho vyplývá, že látková koncentrace volného oxidu uhličitého při pH nižší než 4,5 se vypočítá podle vztahu:

$$c(\text{HCO}_3^*) = \text{ZNK}_{8,3} - \text{ZNK}_{4,5} \cdot M(\text{CO}_2)$$

$$M(\text{CO}_2) = 44 \text{ g/mol}$$

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

**Tabulka** - Zjištěné hodnoty ZNK<sub>4,5, 8,3</sub> a vypočtené hodnoty volného oxidu uhličitého při pH do 4,5.

### 2. Je-li hodnota pH vzorku od 4,5 do 8,3

Je-li hodnota pH vzorku od 4,5 do 8,3, pak oxid uhličitý může být přítomen ve formě jako volný oxid uhličitý a jako hydrogenuhlíčitany. Koncentrace uhličitánů a hydroxidových aniontů budou zanedbatelné.

$$\text{KNK}_{4,5} = c(\text{OH}^-) + c(\text{HCO}_3^-) + 2 c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{H}^+)$$

$$\text{ZNK}_{8,3} = c(\text{H}^+) + c(\text{H}_2\text{CO}_3^*) - c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{OH}^-)$$

Z toho vyplývá, že látková koncentrace volného oxidu uhličitého a hydrogenuhlíčanů při pH 4,5 – 8,3 se vypočítávají podle vztahu:

$$c(\text{HCO}_3^-) = \text{KNK}_{4,5} \cdot M(\text{HCO}_3^-) \quad M(\text{HCO}_3^-) = 61 \text{ g/mol}$$

$$c(\text{H}_2\text{CO}_3^*) = \text{ZNK}_{8,3} \cdot M(\text{CO}_2) \quad M(\text{CO}_2) = 44 \text{ g/mol}$$

**Tabulka** - Zjištěné hodnoty KNK<sub>4,5</sub> a ZNK<sub>8,3</sub> a vypočtené hodnoty volného oxidu uhličitého při pH 4,5 – 8,3.

### 3. Je-li hodnota pH vzorku nad 8,3

Je-li hodnota pH vzorku nad 8,3, pak oxid uhličitý může být přítomen ve formě jako volný hydrogenuhlíčan (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) a uhličitán (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Koncentrace volného oxidu uhličitého a vodíkových kationtů budou zanedbatelné. Problémem zůstává možná přítomnost hydroxidových aniontů. Řešení je ovšem usnadněno skutečností, že hydroxidové anionty se ve vzorku nemohou volně vyskytovat vedle hydrogenuhlíčanů, jelikož by okamžitě spolu reagovali. Z tohoto důvodu se výpočet dělí na dvě části.

a) látková koncentrace hydrogenuhlíčanů  $c(\text{HCO}_3^-)$  a uhličitánu  $c(\text{CO}_3^{2-}) \Rightarrow$ , pokud bude výsledek rovnice záporný, počítá se varianta b)

$$\text{KNK}_{8,3} = c(\text{OH}^-) + c(\text{CO}_3^{2-}) + c(\text{H}_2\text{CO}_3^*) - c(\text{H}^+) \rightarrow c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{H}_2\text{CO}_3^*)$$

$$\text{KNK}_{4,5} = c(\text{OH}^-) + c(\text{HCO}_3^-) - 2 c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{H}^+) \rightarrow c(\text{HCO}_3^-) - 2 c(\text{CO}_3^{2-})$$

Z toho vyplývá, že látková koncentrace hydrogenuhlíčanů  $c(\text{HCO}_3^-)$  a uhličitánu  $c(\text{CO}_3^{2-})$  při pH nad 8,3 se vypočítávají podle vztahu:

$$c(\text{HCO}_3^-) = (\text{KNK}_{4,5} - 2 \cdot \text{KNK}_{8,3}) \cdot M(\text{HCO}_3^-) \quad M(\text{HCO}_3^-) = 61 \text{ g/mol}$$

$$c(\text{CO}_3^{2-}) = \text{KNK}_{8,3} \cdot M(\text{CO}_3^{2-}) \quad M(\text{CO}_3^{2-}) = 60 \text{ g/mol}$$

**Tabulka** – Zjištěné hodnoty KNK<sub>4,5, 8,3</sub> a vypočtené hodnoty volného oxidu uhličitého při pH nad 8,3.

**STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ VE VITAMÍNU STANOVENÍ  
KYSELINOVÉ A ZÁSADOVÉ NEUTRALIZAČNÍ KAPACITY  
STANOVENÍ VOLNÝCH FOREM CO<sub>2</sub> ZE ZJIŠTĚNÝCH HODNOT NK**

b) látková koncentrace uhličitánů  $c(\text{CO}_3^{2-})$  a hydroxidových aniontů  $c(\text{OH}^-) \Rightarrow$ , pokud bude výsledek rovnice záporný, počítá se varianta a)

$$\text{KNK}_{8,3} = c(\text{OH}^-) + c(\text{CO}_3^{2-}) + c(\text{H}_2\text{CO}_3^*) - c(\text{H}^+) \rightarrow c(\text{OH}^-) + c(\text{CO}_3^{2-})$$

$$\text{KNK}_{4,5} = c(\text{OH}^-) + c(\text{HCO}_3^-) - 2 c(\text{CO}_3^{2-}) - c(\text{H}^+) \rightarrow c(\text{OH}^-) + 2 c(\text{CO}_3^{2-})$$

Z toho vyplývá, že látková koncentrace uhličitánů a hydroxidových aniontů při nad 8,3 se vypočítávají podle vztahu:

$$c(\text{CO}_3^{2-}) = (\text{KNK}_{4,5} - \text{KNK}_{8,3}) \cdot M(\text{CO}_3^{2-}) \quad M(\text{CO}_3^{2-}) = 60 \text{ g/mol}$$

$$c(\text{OH}^-) = (2 \cdot \text{KNK}_{8,3} - \text{KNK}_{4,5}) \cdot M(\text{OH}^-) \quad M(\text{OH}^-) = 17 \text{ g/mol}$$

**Tabulka** - Zjištěné hodnoty  $\text{KNK}_{4,5, 8,3}$  a vypočtené hodnoty volného oxidu uhličitého při pH nad 8,3.

#### Vyjadřování výsledků

Výsledek výpočtu se zaokrouhluje na dvě platná čísla a vyjadřuje se v  $\text{mg.l}^{-1}$ .

### DŮLEŽITÉ

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

### ČÁST 1: STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH

#### *Pracovní úkol*

1. Stanovte konduktivitu ve vzorku pitné, povrchové, destilované a minerální vody (mořské).
2. Zjištěnou konduktivitu přepočítejte pomocí faktoru  $f_{25}$  (viz tabulka) a převed'te na užívanou jednotku mS/m.
3. V závěru rovněž proved'te diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
4. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

#### *Princip*

Vodivost (konduktance) ( $G$ ) vyjadřuje schopnost elektrolytu vést elektrický proud. Je definovaná jako převrácená hodnota elektrického odporu (rezistence) ( $R$ ). Její jednotkou je siemens ( $S$ ).

$$G = \frac{1}{R} \quad [S = \Omega^{-1}]$$

Protože vodivost je závislá na geometrických vlastnostech vodiče (na ploše elektrod  $S$  a jejich vzdálenosti  $l$ ) zavádíme **měrnou vodivost (konduktivitu)**. Označuje se symbolem  $\kappa$  a představuje převrácenou hodnotu odporu roztoku mezi dvěma elektrodami o stejné ploše ( $l \text{ m}^2$ ) ve vzdálenosti (1 m) od sebe:

$$\kappa = G \cdot \frac{l}{A}$$

$G$  - konduktance ( $S$ )

$l$  - vzdálenost elektrod

$A$  - plocha elektrod ( $\text{m}^2$ )

Jednotkou konduktivity je  $S/\text{m}$ , obvykle se užívá  $\text{mS}/\text{m}$  ( $1 \text{ mS}/\text{cm} = 1000 \text{ }\mu\text{S}/\text{cm} = 100 \text{ mS}/\text{m}$ ). Stanovení konduktivity umožňuje odhad koncentrace iontově rozpuštěných látek a celkové mineralizace. Používá se k posuzování čistoty destilované vody.

Konduktivita roztoků je závislá na koncentraci iontů, jejich náboji, pohyblivosti a teplotě roztoku. Změna teploty o  $1 \text{ }^\circ\text{C}$  způsobuje změnu konduktivity o  $2 \%$ . Konduktivita se měří na teplotu  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Pokud se konduktivita neměří při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , musí se zjištěná hodnota konduktivity přepočítávat pomocí faktoru  $f_{25}$  (viz tabulka).

## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

*Tabulka 1: Teplotní korekční faktor  $f_{25}$  k převádění konduktivity přírodních vod na teplotu 25 °C*

t °C	$f_{25}$									
	,0	,1	,2	,3	,4	,5	,6	,7	,8	,9
15	1,256	1,253	1,249	1,246	1,243	1,240	1,237	1,234	1,231	1,228
16	1,225	1,222	1,219	1,216	1,214	1,211	1,208	1,205	1,202	1,199
17	1,196	1,193	1,191	1,188	1,185	1,182	1,179	1,177	1,174	1,171
18	1,168	1,166	1,163	1,160	1,157	1,155	1,152	1,149	1,147	1,144
19	1,141	1,139	1,136	1,134	1,131	1,128	1,126	1,123	1,121	1,118
20	1,116	1,113	1,111	1,108	1,105	1,103	1,101	1,098	1,096	1,093
21	1,091	1,088	1,086	1,083	1,081	1,079	1,076	1,074	1,071	1,069
22	1,067	1,064	1,062	1,060	1,057	1,055	1,053	1,051	1,048	1,046
23	1,044	1,041	1,039	1,037	1,035	1,032	1,030	1,028	1,026	1,024
24	1,021	1,019	1,017	1,015	1,013	1,011	1,008	1,006	1,004	1,002
25	1,000	0,998	0,996	0,994	0,992	0,990	0,987	0,985	0,983	0,981

### Reagencie

1. Destilovaná voda.
2. Povrchová voda – donese student.
3. Minerální voda (mořská voda) – donese student.
4. Pitná voda.

### Pomůcky

- Konduktometr.
- Teploměr s přesností  $\pm 0,1$  °C.
- Titrační baňky s širokým hrdlem (4 ks).

### Postup

1. Nejdříve pečlivě změřte teplotu vzorku povrchové, pitné, minerální a destilované vody.
2. Následně ponořte elektrodu do vzorku vody v titrační baňce.
3. Odečtete naměřenou vodivost a запиšte do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku. Nezapomeňte si rovněž poznamenat jednotku. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

*Tabulka* - Naměřené, přepočtené a převedené hodnoty konduktivity

### Výpočty

1. Převod naměřené hodnoty konduktivity na mS/m.
2. Přepočet naměřené hodnoty konduktivity na 25 °C dle tabulky č. 1.

## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

### *Vyjadřování výsledků*

Výsledky vyjadřujte jako elektrickou vodivost při 25 °C ( $\kappa_{25}$ ) v jednotkách mS/m. Výsledné hodnoty do 100 mS/m se zaokrouhlují na desetiny a nad touto hodnotou na jednotky.

### *Závěr*

Odpověď na odstavce pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

## ČÁST 2: KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

### *Pracovní úkol*

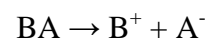
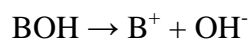
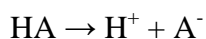
1. Stanovte přesnou koncentraci kyseliny chlorovodíkové, octové v připraveném vzorku.
2. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků. Zakreslete titrační křivky všech kyselin.

### *Princip*

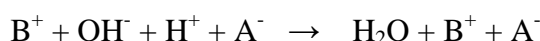
Obecně titrace jsou pracovní metodou odměrné analýzy. **Konduktometrické titrace** jsou založeny na měření vodivosti titrovaného roztoku v závislosti na množství přidávaného titračního činidla (odměrného činidla) v průběhu titrace. Sleduje se změna vodivosti titrandu (titrovaný roztok) v závislosti na přidávaném titrantu (odměrné činidlo). Vodivost elektrolytů (roztoků schopných vést elektrický proud) je podmíněna existencí kladně nabitých kationtů a záporně nabitých aniontů v titrandu.

Konduktometrické sledování průběhu titrace má smysl tehdy, když během ní dochází k výrazným změnám vodivosti před nebo za bodem ekvivalence. Proto se uplatňuje zejména u neutralizačních titrací, kde nastávají výrazné koncentrační změny velmi vodivých iontů oxoniových a hydroxidového, u srážecích a komplexotvorných titrací. Nepoužívá se u redoxních titrací, kde bývá upraveno pH titrovaného roztoku a příliš se nemění obsah iontů.

Rozpuštěné kyseliny (obecného označení HA), hydroxidy (BOH) a soli (BA) ve vodných roztocích disociují (štěpí se na příslušné ionty):



Vzhledem k nepatrné disociaci molekul vody lze neutralizační titraci popsat obecným schématem



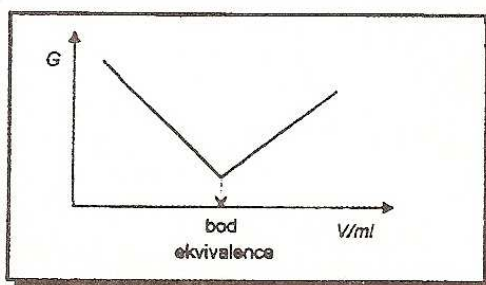
Konduktometrické titrační křivky neutralizačních titrací mají průběh závislý na síle příslušné kyseliny.

V průběhu neutralizační titrace vodného roztoku **silné** (zcela disociované) **kyseliny** dochází zpočátku k poklesu koncentrace vodíkových kationtů, což se projeví poklesem

## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

vodivosti titrandu. Vodivost klesá až do bodu ekvivalence. Přídavkem titračního činidla (NaOH) začne vodivost opět růst.

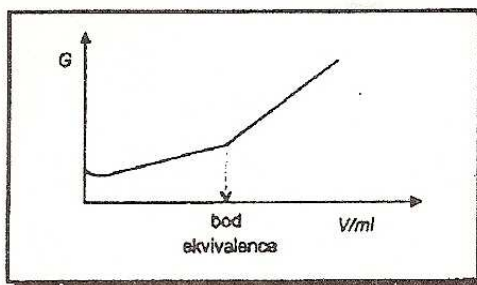
Bod ekvivalence se určuje tak, že se extrapolují křivky před a po dosažení ekvivalence. Bod ekvivalence se pak určí z průsečíku těchto přímk. Na ose x se odečítá objem titračního činidla (V), potřebný pro kvantitativní průběh reakce. V okolí bodu ekvivalence dochází k zakřivení, což je způsobeno disociací vzniklého produktu ( $H_2O$ ).



A

**Obrázek 1:** Konduktometrická titrační křivka silné kyseliny (HCl) silnou zásadou (NaOH)

V případě titrace vodného roztoku **slabé** (částečně disociované) **kyseliny** je levá větev titrační křivky výrazně ovlivněna malou disociací přítomné kyseliny. Při titraci klesá koncentrace kyseliny (koncentrace vodíkových kationtů je malá), a tím je zvyšován její stupeň disociace. Čím je kyselina slabší, tím větší roli hraje sůl jako produkt neutralizace. Malý pokles koncentrace oxoniových iontů neutralizací spojený s poklesem vodivosti je vidět na začátku titračních křivek kyselin, které nejsou extrémně slabé. Ten je kompenzován zejména růstem koncentrace soli (octanu sodného v roztoku) a tím vodivosti až do bodu ekvivalence. Za bodem ekvivalence je růst vodivosti výraznější, protože hydroxid sodný je vodivější než octan sodný. V bodu ekvivalence není výrazný zlom.



B

**Obrázek 2:** Konduktometrická titrační křivka slabé kyseliny ( $CH_3COOH$ ) a silné zásady (NaOH)

S rostoucí teplotou elektrolytu roste i jeho vodivost, proto v průběhu konduktometrické titrace musí být teplota pokud možno konstantní.



## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

### Reagencie

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

1. *Hydroxid sodný*, odměrný roztok,  $c(\text{NaOH}) = 0,2 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽÍRAVINA!!!**  
K asi 200 ml vody se pomalu za stálého míchání přidá vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete výpočet uvést i v laboratorním deníku) hydroxidu sodného. Po ochlazení se odměrná baňka doplní na objem 500 ml.
2. *Kyselina chlorovodíková*, odměrný roztok  $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽÍRAVINA!!!**  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete výpočet uvést i v laboratorním deníku) koncentrované kyseliny chlorovodíkové (36 %  $\rho = 1,16 \text{ g/ml}$ ) se přidá za stálého chlazení k 500 ml destilované vody a po ochlazení se doplní na objem 1000 ml.
3. Vzorek č. 1 – 2 M HCl ( $\rho = 1,1789 \text{ g/ml}$ ), **POZOR ŽÍRAVINA!!**
4. Vzorek č. 2 – 0,2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ( $\rho = 1,0498 \text{ g/ml}$ ).

### Pomůcky

- Konduktometr.
- Pipeta 1 ml (1 ks), 5 ml (2 ks), 10 ml (1 ks), 20 ml (1 ks).
- Titrační baňka s širokým hrdlem (4 ks).
- Tyčinka (1 ks).
- Nálévka (1 ks).
- Odměrná baňka 1000 ml (1 ks), 500 ml (1 ks).
- Kádinka (2 ks).

### Postup

**Úkol č. 1: Stanovení přesné koncentrace odměrného roztoku 0,2 M NaOH a určení titračního faktoru.**

Reakce probíhá podle rovnice:



1. Přes nálevku přelijte odpovídající množství HCl do byrety.
2. Do titrační baňky odpipetujte 5 ml odměrného roztoku 0,2-M NaOH, jehož přesnou koncentraci zjišťujete.
3. Přidejte asi 25 ml destilované vody a opatrně promíchejte.
4. Přidejte 3 kapky indikátoru methylové oranže.
5. Slabě žlutý roztok titrujeme po kapkách za stálého míchání odměrným roztokem 0,1-M HCl (**POZOR ŽÍRAVINA!**) do cibulově červeného zbarvení.

## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

6. Zapište množství spotřebovaného roztoku 0,1-M HCl a vypočítejte přesnou koncentraci NaOH a titrační faktor.

### Úkol č. 2: Konduktometrické stanovení kyseliny chlorovodíkové v připraveném vzorku (vzorek č. 1)

1. Do titrační baňky s širokým hrdlem odpipetujte 1 ml vzorku HCl (2-M HCl) a destilovanou vodou doplňte na objem 100 ml.
2. Přes nálevku přelijte odpovídající množství NaOH do byrety (podle objemu byrety).
3. Teploměrem změřte teplotu vzorku v titrační baňce a naměřenou hodnotu teploty zapište do vámi vytvořené tabulky.
4. Vložte konduktometr do titrační baňky se vzorkem tak, aby byl přístroj ponořen 5 cm pod hladinou roztoku.
5. Do tabulky, kde jste zapsali naměřenou hodnotu teploty, zapište hodnotu konduktivity odpovídající nulové spotřebě odměrného roztoku (0,2-M NaOH).
6. Dále titrujte roztok v titrační baňce po pravidelných 0,5 ml přídavicích titrantu (0,2-M NaOH) a rovněž měřte teplotu.
7. Vždy vyčkejte ustálení hodnoty vodivosti a teploty na displeji konduktometru a teploměru a spotřebu dávkovaného titrantu, odpovídající hodnotu konduktivity titrandu a odpovídající hodnotu teploty zapište do tabulky naměřených hodnot. Sledujte hodnoty změn měrné vodivosti po jednotlivých přídavicích titrantu. Titrujte do spotřeby 20 ml titrantu (0,2-M NaOH) nebo do bodu ekvivalence.
8. Hodnoty měrné vodivosti, které odečítáte během titrace přepočítejte teplotním korekčním faktorem ( $f_{25}$ ) na 25°C.
9. Hodnoty objemu dávkovaného titrantu (0,2-M NaOH) a odpovídající měrnou vodivost titrandu (titrovaný vzorek) vyneste do grafu (použijte milimetrový papír A4, při vypracování na počítači bílý A4 papír). X-ové souřadnice průsečíků lineárních větví titrační křivky odpovídají objemu titrantu v ml, potřebného ke kvantitativnímu zreagování stanovovaných kyselin. Y-ové souřadnice průsečíků odpovídají hodnotě konduktivity po jednotlivých přídavicích titrantu.

### Úkol č. 3: Konduktometrické stanovení kyseliny octové v připraveném vzorku (vzorek č. 2)

1. Do titrační baňky s širokým hrdlem odpipetujte 10 ml vzorku CH<sub>3</sub>COOH (0,2-M CH<sub>3</sub>COOH) a destilovanou vodou doplňte na objem 100 ml.
2. Celý postup opakujte jako při stanovení kyseliny chlorovodíkové od bodu č 3.

**Tabulka** - Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace HCl ve vzorku.

**Tabulka** - Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace CH<sub>3</sub>COOH ve vzorku.

## STANOVENÍ MĚRNÉ VODIVOSTI (KONDUKTIVITY) VE VODÁCH KONDUKTOMETRICKÁ NEUTRALIZAČNÍ TITRACE

### Výpočet

1. Výpočet množství hydroxidu sodného použité pro přípravu 0,2-M NaOH na objem 500 ml.
2. Vypočtete přesnou koncentraci odměrného roztoku 0,2-M NaOH, kterou jste stanovili titrací 0,1M HCl.

$$c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) = V(\text{HCl}) \cdot c(\text{HCl})$$

kde:

$c(\text{NaOH})$  je přesná látková koncentrace stanovovaného hydroxidu v mol/l;

$V(\text{NaOH})$  je objem stanovovaného hydroxidu odpipetovaný k analýze v ml;

$c(\text{HCl})$  je látková koncentrace HCl v mol/l;

$V(\text{HCl})$  je spotřeba kyseliny chlorovodíkové při titraci v ml;

3. Napište rovnici reakce NaOH a HCl, vypočtete na základě rovnice faktor titrace  $F_t$ .
4. Výpočet koncentrace kyseliny chlorovodíkové, octové.

$$c_{\text{HA}} \cdot V_{\text{HA}} = V_{\text{NaOH}} \cdot c_{\text{NaOH}}$$

kde:

$c_{\text{HA}}$  je látková koncentrace stanovované kyseliny (chlorovodíkové, octové) v mol/l;

$c_{\text{NaOH}}$  je přesná koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného v mol/l;

$V_{\text{NaOH}}$  je objem odměrného činidla v bodě ekvivalence v ml;

$V_{\text{HA}}$  je objem vzorku směsi kyseliny, odpipetovaný k analýze v ml;

### Závěr

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

## DŮLEŽITÉ

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 8	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ Cl<sup>-</sup> KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>

### ČÁST 1: ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ CHLORIDŮ

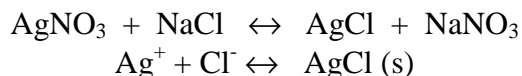
#### *Pracovní úkol*

1. Stanovte a vypočítejte přesnou koncentraci odměrného roztoku dusičnanu stříbrného roztokem základní látky přesné koncentrace.
2. Argentometricky stanovte obsah chloridových aniontů ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody.
3. Výpočet chloridů proveďte pro látkovou i hmotnostní koncentraci ve vzorcích. K výpočtu použijte skutečnou koncentraci odměrného roztoku.
4. Výsledné hodnoty vzorků povrchové a pitné vody porovnejte s vyhláškou č. 229/2007 Sb., příloha č. 3. a s vyhláškou 252/2004 Sb., příloha č. 1.
5. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

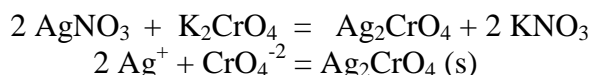
#### *Princip*

**Argentometrie** patří mezi nejpoužívanější srážecí titrace. Kromě chloridů lze rovněž touto metodou stanovit CN<sup>-</sup>, SCN<sup>-</sup> a některé chloridy organických sloučenin, např. sulfochlorid, chloridy karbonových kyselin apod. (určení Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup> je nepřesné).

Argentometrická odměrná metoda dle Mohra je založena na vzniku nerozpustných sloučenin (sraženin). Přímá argentometrie používá jako odměrné činidlo dusičnan stříbrný (AgNO<sub>3</sub>) a základní látku chlorid sodný (NaCl). Jako indikátor se používá chroman draselný (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>), který se přidává k roztoku stanovované látky a roztok se následně titruje dusičnanem stříbrným. Při titraci odměrným roztokem dusičnanu stříbrného (AgNO<sub>3</sub>) vzniká nejdříve téměř nerozpustná bílá sraženina chloridu stříbrného dle rovnice:



Konec titrace je tedy indikován chromanem draselným (indikátor), který v bodě ekvivalence reaguje s nadbytkem titračního činidla za vzniku červenohnědé sraženiny chromanu stříbrného.



Nejdříve se při titraci z roztoku vyloučí sraženina chloridu stříbrného, protože chlorid stříbrný je méně rozpustný než chroman stříbrný. Až po vysrážení veškerého chloridu ze vzorku, tj. těsně po dosažení bodu ekvivalence, proběhne reakce, při které se vytvoří právě červenohnědá sraženina chromanu stříbrného.

Pro stanovení chloridů se vzorky vod odebírají do skleněných či polyetylenových láhví a pro jejich uchování před vlastním stanovením není třeba žádné konzervace.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 8	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

### Reagencie (činidla)

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

1. *Dusičnan stříbrný*, standardní odměrný roztok,  $c(\text{AgNO}_3) = 0,02 \text{ mol/l}$ , **POZOR TOXICKÁ LÁTKA!!!**

Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku)  $\text{AgNO}_3$ , předem sušeného při teplotě  $105^\circ\text{C}$ , se v odměrné baňce o objemu 1 l rozpustí v destilované vodě a doplní se po rysku.

2. *Chlorid sodný*, standardní srovnávací roztok – základní látka,  $c(\text{NaCl}) = 0,02 \text{ mol/l}$ ,  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku)  $\text{NaCl}$ , předem vysušeného při  $105^\circ\text{C}$ , se v odměrné baňce o objemu 500 ml rozpustí v destilované vodě a touto vodou se při teplotě  $20^\circ\text{C}$  doplní po rysku.

3. *Chroman draselný*, indikátorový roztok 100 g/l,  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku)  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  se rozpustí v malém objemu destilované vody a doplní se po rysku destilovanou vodou na objem 100 ml.

4. Povrchová voda – donese student.
5. Pitná voda, destilovaná voda.
6. Minerální (mořská) voda – donese student.

### Pomůcky

- Titrační baňky 150 ml (4 ks).
- Byreta (tmavá).
- Pipety 1 ml, 10 ml, 50 ml.
- Odměrná baňka 100 ml, 500 ml 1000 ml.
- PE stříčka.

### Postup

#### Úkol č. 1: Stanovení přesné koncentrace standardního roztoku 0,02 M dusičnanu stříbrného

1. Titrační baňku o objemu 250 ml vypláchněte destilovanou vodou.
2. Odpipetujte 10 ml standardního srovnávacího roztoku chloridu sodného (činidlo 2) a zřeďte ho asi na 100 ml destilovanou vodou.
3. Při stanovení titru (tj. přesné koncentrace odměrného roztoku 0,02-M  $\text{AgNO}_3$ ) postupujte stejně jako u vlastního stanovení chloridů ve vlastních vzorcích včetně provedení slepého stanovení (viz body 2, 3 úkolu č. 2).

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

4. Spotřebu dusičnanu stříbrného zapište do vámi vytvořené tabulky.
5. Přesnou koncentraci  $\text{AgNO}_3$  vypočítejte podle níže uvedeného vzorce, a to na 4 desetinná místa. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

### Úkol č. 2: Stanovení koncentrace chloridů ve vzorcích pitné, minerální a povrchové vody

1. Do titrační baňky odměřte 50 ml každého vzorku vody (jednotlivé vzorky vod stanovujte postupně, nikdy ne současně) a to stejné udělejte s destilovanou vodou (slepý vzorek).
2. Přidejte 1 ml roztoku chromanového indikátoru (čínidlo 3) a roztok zamíchejte.
3. Za stálého míchání se roztok titruje standardním roztokem dusičnanu stříbrného (čínidlo 1) do vzniklého červenohnědého zbarvení.
4. Spotřebu dusičnanu stříbrného zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte látkovou a hmotnostní koncentraci chloridů. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

**Tabulka** – Všechny naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení chloridů

#### Výpočty

1. Výpočet množství chromanu draselného použité pro přípravu chromanu draselného (100 g/l) na objem 100 ml.
2. Výpočet množství dusičnanu stříbrného použité pro přípravu 0,02-M  $\text{AgNO}_3$  na objem 1000 ml.
3. Výpočet množství chloridu sodného použité pro přípravu 0,02-M  $\text{NaCl}$  na objem 500 ml.
4. Výpočet přesné koncentrace pracovního odměrného roztoku dusičnanu stříbrného

$$c(\text{AgNO}_3) \cdot V(\text{AgNO}_3) = c(\text{NaCl}) \cdot V(\text{NaCl})$$

kde:

$c(\text{AgNO}_3)$  je přesná koncentrace dusičnanu stříbrného v mol/l;

$c(\text{NaCl})$  je látková koncentrace standardního srovnávacího roztoku chloridu sodného v mol/l;

$V(\text{NaCl})$  je objem standardního srovnávacího roztoku použitý pro stanovení titru v ml;

$V(\text{AgNO}_3)$  je objem standardního roztoku dusičnanu stříbrného, spotřebovaný při stanovení titru v ml.

5. Látková koncentrace chloridů ve vzorcích vody:

$$c(\text{Cl}^-) = \frac{f_t \cdot c(\text{AgNO}_3) \cdot (V_t - V_s) \cdot 10^3}{V_v}$$

kde:

$c(\text{Cl}^-)$  je látková koncentrace  $\text{Cl}^-$  ve vzorku vody v  $\text{mmol.l}^{-1}$ ;

$f_t$  je titrační faktor (zde je roven 1);

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ Cl<sup>-</sup> KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>

$c(\text{AgNO}_3)$  je přesná koncentrace odměrného roztoku  $\text{AgNO}_3$  (vypočtená viz výpočet 4) v  $\text{mol.l}^{-1}$ ;

$V_t$  je objem roztoku  $\text{AgNO}_3$ , spotřebovaný do konce titrace v ml;

$V_s$  je objem roztoku  $\text{AgNO}_3$ , spotřebovaný při slepém stanovení v ml;

$V_v$  je objem vzorku, vzatý k titraci v ml.

**6.** Hmotnostní koncentrace chloridů ve vzorcích vody:

$$\rho(\text{Cl}^-) = c(\text{Cl}^-) \cdot M(\text{Cl}^-)$$

kde:

$\rho(\text{Cl}^-)$  je hmotnostní koncentrace chloridů ve vzorku vody v mg/l;

$c(\text{Cl}^-)$  je látková koncentrace  $\text{Cl}^-$  ve vzorku vody v mmol/l;

$M(\text{Cl}^-)$  je molární hmotnost  $\text{Cl}^- = 35,453 \text{ g/mol}$ .

### *Vyjadřování výsledků*

Výsledky se zaokrouhlují na celé mg/l a tři platná místa.

### *Závěr*

Odpověď na odstavce „pracovní úkol“ a komentář k naměřeným hodnotám.

## **ČÁST 2: KOPLEXOMETRICKÉ (CHELATOMETRICKÉ) STANOVENÍ VÁPNIKU A HOŘČÍKU**

### *Pracovní úkol*

- Chelatometricky stanovte a vypočítejte obsah vápníku a hořčíku ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody.
- Výsledné hodnoty povrchové a pitné vody porovnejte s Nařízením vlády č. 61/2003 Sb., příloha č. 3 (tabulka č. 1).
- V závěru rovněž proved'te diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
- V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 8	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

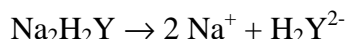
### Princip

Jednou z metod, kterou se vápník a hořčík společně stanovují, je odměrná komplexometrická (chelatometrická) metoda. V posledních letech se prosazuje stanovení vápníku metodou AAS (atomové absorpční spektrofotometrie).

**Komplexometrie (chelatometrie)** je titrační metoda, která využívá schopnosti látek (komplexonů) tvořit s kationty jednomocnými ( $\text{Me}^+$ ), dvojmocnými ( $\text{Me}^{2+}$ ), trojmocnými ( $\text{Me}^{3+}$ ) a čtyřmocnými ( $\text{Me}^{4+}$ ) kovů ( $\text{Me}$ ) v alkalickém prostředí málo disociované komplexní sloučeniny o značné pevnosti tzv. komplexy = cheláty.

### Komplexometrie přímá

Komplexony (chelatony) jsou v této metodě využívány jako titrační (odměrná) činidla: Komplexon I (kyselina nitrilotrioctová), Komplexon II (kyselina ethylendiamintetraoctová – EDTA) Komplexon IV (1,2-diaminocyklohexantetraoctová kyselina). Nejpoužívanějším komplexometrickým (chelatometrickým) činidlem je **Komplexon III** - dvojsodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové - EDTA (obchodní název Chelaton 3) symbolického vzorce  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ . Ta se ve vodném roztoku disociuje (štěpí se) za vzniku aniontu  $\text{H}_2\text{Y}^{2-}$ :

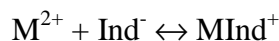


Aniont  $\text{H}_2\text{Y}^{2-}$  dále reaguje s kationty alkalických zemin ( $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ ). Produktem jsou poměrně velmi stálé komplexy (cheláty):

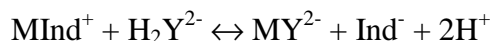


Z uvedených reakčních schémat je zřejmé, že komplexotvorné rovnováhy jsou ovlivňovány koncentrací vodíkových iontů, kterou je nutno v průběhu titrace udržovat na stálé hodnotě přidávkem pufru (regulátoru pH).

Konec titrace se zjišťuje při vizuální indikaci pomocí komplexometrických indikátorů (murexid, erichromová čerň T apod.). Jsou to organické látky (slabé kyseliny, zásady a jejich soli), které tvoří s ionty kovů obecně  $\text{M}^{2+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) v roztoku barevné komplexy:



Při titraci nejdříve reagují s aniontem Chelatonu 3 (odměrným činidlem) jen volné ionty (kationty) kovů. Ke konci titrace se začne změnou zbarvení roztoku projevovat vytěšňovací reakce:



Jakmile se zbarvení přestane měnit titrace je ukončena. Aby bylo určení konce titrace přesné, musí být barevná změna, způsobená reakcí indikátoru, náhlá.

### Komplexometrie nepřímá

Tento způsob titrace užíváme hlavně v případech, kdy kationty sice reagují s komplexonem, ale nereagují s indikátorem nebo tam, kde kationty reagují s indikátorem, ale jejich vazba je tak pevná, že blokují indikátor a k reakci nemůže dojít. Velmi pevné komplexy s eriochromovou černí T tvoří např.  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  apod.



VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 8	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

Zde provádíme titraci tím způsobem, že k roztoku přidáme známý objem komplexonu III, indikátor a přebytek komplexonu stanovíme zpětnou titrací roztokem  $\text{MgSO}_4$ .

### **Reagencie (činidla)**

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

### **Pro stanovení vápníku**

**1. Hydroxid draselný,  $c(\text{KOH}) = 5 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽIRAVINA !!!****

Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) KOH se rozpustí v destilované vodě a po ochlazení se s touto vodou doplní na objem 500 ml. Roztok se uchovává v polyethylenové láhvi.

**2. Chelaton 3,  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_{12}\text{Na} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , odměrný roztok,  $c(\text{Ch 3}) = 0,05 \text{ mol/l}$ ,**

18,6 g chelatonu 3 (disodné soli ethylendiamintetraoctové kyseliny) se rozpustí v destilované vodě, touto vodou se doplní na objem 1 l. Uchovávejte ho v polyethylenové láhvi.

**3. Fluorexon, thymoftalexon, murexid, indikátor Ca,**

0,3 g fluorexanu, 0,6 g thymolftalexonu a 0,1 g murexidu se přidá k 50 g dusičnanu draselného a směs se dokonale rozetře v třecí misce.

### **Pro společné stanovení vápníku a hořčíku**

**1. Tlumivý roztok o pH 10,**

54 g chloridu amonného ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) se za tepla rozpustí ve 200 ml destilované vody, přidá se 350 ml  $\text{NH}_4\text{OH}$  a po ochlazení se s destilovanou vodou doplní na objem 1000 ml.

**2. Erichromová čern T, indikátor Ca + Mg,**

0,5 g erichromové černi T se přidá k 100 g chloridu sodného a směs se dokonale rozetře v misce.

### **Pomůcky**

- Titrační baňky 150 ml (8 ks);
- Byreta (čirá);
- Pipety 2 ml, 50 ml;
- Laboratorní lžičky (2 ks);
- Kádinka 10 ml;
- Odměrná baňka na 500 ml, 1000 ml;
- PE láhev.

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

### Postup

#### Úkol č. 1: Chelatometrické stanovení vápníku

1. Do titrační baňky odpipetujte 50 ml vzorku povrchové, pitné a minerální vody (jednotlivé vzorky vod stanovujte postupně, nikdy ne současně).
2. Stejný postup provádějte s destilovanou vodou (slepý vzorek).
3. Ke vzorkům vody přidejte 2 ml roztoku KOH (čínidlo 1).
4. Dále přidejte lžičkou trochu indikátoru Ca (čínidlo 3) a opatrně zamíchejte.
5. Zelenou směs ihned titrujte 0,05-M odměrným roztokem Chelatonu 3 (čínidlo 2) do fialovo-růžového zbarvení.
6. Spotřebu Chelatonu 3 zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte látkovou a hmotnostní koncentraci vápníku. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

#### Úkol č. 2: Společné chelatometrické stanovení vápníku a hořčíku

Obsah hořčíku ve vzorku vody se zjistí tak, že se nejdříve stanoví látková koncentrace Ca + Mg a od této hodnoty se odečte látková koncentrace vápníku.

1. Do titrační baňky odpipetujte 50 ml vzorku povrchové, pitné a minerální vody (jednotlivé vzorky vod stanovujte postupně, nikdy ne současně).
2. Stejný postup provádějte pro vzorek s destilovanou vodou (slepý vzorek).
3. Ke vzorkům vody přidejte 10 ml tlumivého roztoku pH 10 (čínidlo 4).
4. Dále přidejte lžičkou trochu indikátoru Ca + Mg (čínidlo 5) a opatrně zamíchejte.
5. Fialovo-růžový roztok se promíchá a ihned titruje 0,05-M odměrným roztokem Chelatonu 3 (Ch 3) do zeleno-modrého zbarvení.
6. Spotřebu Chelatonu 3 zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte látkovou a hmotnostní koncentraci vápníku. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

**Tabulka** – Všechny naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení vápníku.

**Tabulka** – Všechny naměřené a vypočtené hodnoty při společném stanovení vápníku a hořčíku.

### Výpočty

1. Výpočet množství hydroxidu draselného použité pro přípravu 5 M KOH na objem 500 ml.
2. Výpočet látkové koncentrace vápníku ve vzorcích vody:

$$c(\text{Ca}) = \frac{c(\text{Ch 3}) \cdot (V_t) \cdot 10^3}{V_v}$$

kde:

$c(\text{Ca})$  je látková koncentrace Ca ve vzorku vody v mmol/l;

$c(\text{Ch 3})$  je látková koncentrace odměrného roztoku chelatonu 3 v mol/l

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

$V_t$  je objem roztoku chelatonu 3, spotřebovaný do konce titrace v ml  
 $V_v$  je objem vzorku, vzatý k titraci v ml

### 3. Hmotnostní koncentrace vápníku ve vzorku vody:

$$\rho(\text{Ca}) = c(\text{Ca}) \cdot M(\text{Ca})$$

kde:

$\rho(\text{Ca})$  je hmotnostní koncentrace vápníku ve vzorku vody v mg/l;  
 $c(\text{Ca})$  je látková koncentrace vápníku ve vzorku vody v mmol/l;  
 $M(\text{Ca})$  je molární hmotnost vápníku.

### 4. Látková koncentrace sumy Ca + Mg ve vzorku vody:

$$c(\text{Ca} + \text{Mg}) = \frac{c(\text{Ch3}) \cdot (V_t) \cdot 10^3}{V_v}$$

kde:

$c(\text{Ca} + \text{Mg})$  je látková koncentrace Ca + Mg ve vzorku vody v mmol/l;  
 $c(\text{Ch 3})$  je látková koncentrace odměrného roztoku Chelatonu 3 v mol/l;  
 $V_t$  je objem roztoku Chelatonu 3, spotřebovaného do konce titrace v ml;  
 $V_v$  je objem vzorku, vzatý k titraci v ml.

### 5. Látková koncentrace Mg ve vzorku vody:

$$c(\text{Mg}) = c(\text{Ca} + \text{Mg}) - c(\text{Ca})$$

kde:

$c(\text{Mg})$  je látková koncentrace hořčíku v mmol/l;  
 $c(\text{Ca} + \text{Mg})$  je látková koncentrace Ca + Mg v mmol/l;  
 $c(\text{Ca})$  je látková koncentrace vápníku v mmol/l.

### 6. Hmotnostní koncentrace Mg ve vzorku vody:

$$\rho(\text{Mg}) = c(\text{Mg}) \cdot M(\text{Mg})$$

kde:

$\rho(\text{Cl}^-)$  je hmotnostní koncentrace hořčíku ve vzorku vody v mg/l;  
 $c(\text{Cl}^-)$  je látková koncentrace hořčíku ve vzorku vody v mmol/l;  
 $M(\text{Cl}^-)$  je molární hmotnost hořčíku.

### *Vyjadřování výsledků*

Výsledky stanovení Ca a Mg se uvádí v mg/l na tři platné číslice.

VŠB-TU Ostrava - I EI

Předmět: Instrumentální metody

STŮL č. 8

Obor: Environmentální biotechnologie

Zpracování a zneškodňování odpadů

Environmentální inženýrství

## ODMĚRNÉ ARGENTOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Cl}^-$ KOPLEXOMETRICKÉ STANOVENÍ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

### *Závěr*

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

### **DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 9	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

### *Pracovní úkol*

1. Vytvořte kalibrační řadu roztoků pro stanovení orthofosforečnanů (viz část 1) a proveďte kalibraci přístroje pro toto stanovení.
2. Na základě Vaší kalibrace stanovte koncentraci orthofosforečnanů ve vzorku povrchové, pitné a minerální vody (viz část 1).
3. Fotometricky stanovte koncentraci orthofosforečnanů ve vzorcích povrchové, pitné a minerální vody (viz část 2).
4. V závěru proveďte diskusi (komentář), zda jste správně provedli kalibraci přístroje pro stanovení orthofosforečnanů, na základě čeho jste to určili a rovněž proveďte komentář k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
5. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### *Princip metody*

**Spektrofotometrie** patří mezi fyzikální popř. fyzikálně chemické metody analýzy, která ke stanovení látek využívá přístroje či zařízení. Z tohoto důvodu jsou častěji označovány jako instrumentální metody.

Tato metoda je založena na interakci mezi elektromagnetickým zářením a molekulou stanovované látky, kterou dané elektromagnetické záření prošlo. Pokud měřená látka je schopná absorbovat elektromagnetické záření, bude se prošlý tok lišit od vstupního. A úkolem spektrofotometrie je pak studovat, při jakých vlnových délkách a k jak intenzivnímu pohlcení došlo.

Molekuly mají schopnost pohlcovat elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek. Je to dáno tím, že mohou existovat jen v určitých kvantových stavech, které se liší obsahem energie. Jestliže má molekula přejít ze stavu s nižší energií do stavu s energií vyšší musí absorbovat záření o frekvenci  $\nu$ , která právě odpovídá rozdílu energií mezi energetickými hladinami  $E_p$  a  $E_q$  obou kvantových stavů podle Planckovy podmínky:

$$\Delta E = E_p - E_q = h \nu = h c / \lambda$$

kde  $c$  je rychlost světla,  $\lambda$  vlnová délka,  $h$  Planckova konstanta ( $6,626 \cdot 10^{-34}$  J s); podle konvence je exitovaná hladina označována indexem  $p$  (horní hladina), základním indexem  $q$  (spodní hladina).

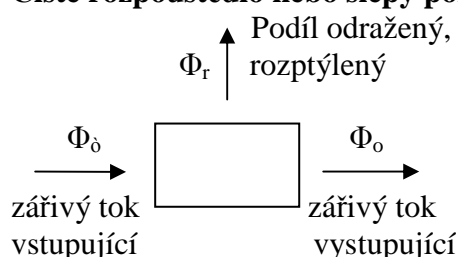
**Podstatou UV a Vis spektrometrie** je absorpce UV a Vis záření (200 až 800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů. Proto tato spektra nazýváme elektronová a spektrometrii elektronovou spektrometrii. Nejnáročnější jsou přechody mezi elektronovými energetickými hladinami. K těmto přechodům dochází při absorpci ultrafialového (190 až 400 nm) a viditelného záření (400 až 800 nm). Absorpce záření se měří na přístrojích, které se nazývají absorpční spektrofotometry.

Spektrofotometr je jen jednopaprskový a měří tedy jen vystupující tok záření. Proto je třeba provést dvě měření, kdy vedle měření vlastního vzorku  $\Phi$ , měříte ještě slepý (srovnávací pokus  $\Phi_0$ ), u kterého nedochází k absorpci (tzn. prošlý tok  $\Phi$  je stejný jako dopadající tok  $\Phi_0$ ).

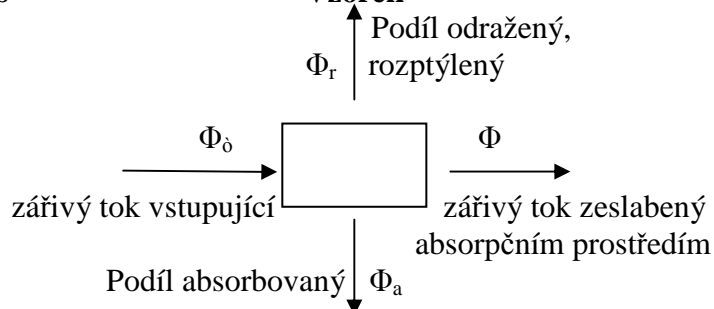
## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

Při absorpčním měření se pro stanovenou vlnovou délku porovnává tok záření  $\Phi$  prošlý měrnou kvyetou s tokem záření  $\Phi_0$ , prošlým kvyetou s čistým rozpouštědlem nebo slepým pokusem. Vstupující tok záření  $\Phi_0$ , jehož hodnota není pro měření významná, je vždy absolutně vyšší o podíl odraženého nebo rozptýleného záření  $\Phi_r$ .

### Čisté rozpouštědlo nebo slepý pokus



### Vzorek



Podíl zářivých toků  $\Phi$  a  $\Phi_0$  se nazývá propustnost neboli transmittance  $T$   $T = \Phi / \Phi_0$ .

Na spektrofotometru můžete odečíst i absorbanci  $A$ , tedy záporně vzatý logaritmus propustnosti:

$$A = -\log T = \log (\Phi_0 / \Phi)$$

Závislost propustnosti či absorbance na vlnové délce se nazývá absorpční spektrum.

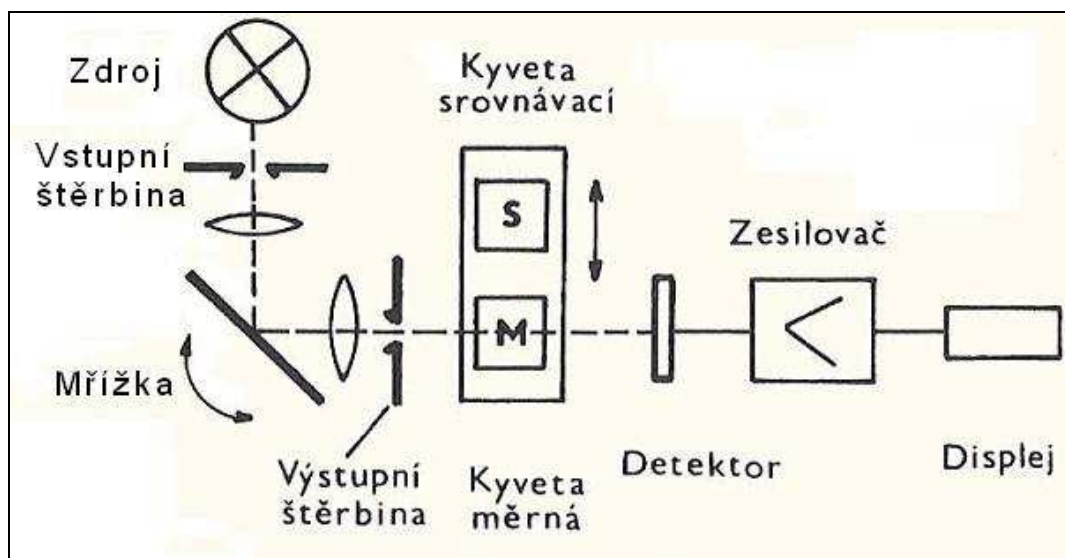
Kvantitativní analýza je založena na Lambertově-Beerově zákoně, podle kterého je hodnota absorbance  $A$  při vlnové délce  $\lambda$  přímo úměrná látkové koncentraci  $c$ . Lambert-Beerův zákon platí pro monochromatické záření a pro nízké koncentrace, řádově menší než  $10^{-2}$  mol/l. Nejjednodušším ověřením platnosti tohoto zákona je proměření závislosti absorbance na různé koncentrace několika kalibračních roztoků při stejné vlnové délce a ve stejné kvyetě. Výsledná závislost musí být přímková a nazýváme ji kalibrační křivkou.

Absorpční spektrofotometr se skládá ze 4 základních částí (viz obr. č. 1):

1. Zdroj – pro viditelnou oblast je to wolframová nebo halogenová žárovka,
2. Monochromátor – tvořený vstupní a výstupní štěrbinou, zrcadlovou nebo čočkovou soustavou a rozkladným prvkem (hranol nebo reflexní mřížka),
3. Absorpční prostředí – kvyeta s měrným nebo srovnávacím prostředím,
4. Detekční systém – fotoelektrický detektor záření a elektronické zařízení na zpracování jeho odezvy.

Ze zdroje vychází svazek polychromatického záření na vstupní štěrbinu monochromátoru. Po rozkladu se natáčením rozkladného prvku postupně zobrazují jednotlivé monochromatické obrazy záření s charakteristickým intervalem vlnových délek vstupní štěrbinou na štěrbinu výstupní. Střední hodnota tohoto intervalu je zvolená vlnová délka. Je nutné vybrat takovou vlnovou délku, při níž látka silně absorbuje. Po průchodu absorpčním prostředím dopadá monochromatické záření na fotoelektrický detektor. Signál z detektoru se zpracovává v zesilovači a jeho výstup se zobrazí na číslicovém displeji.

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE



Obrázek č. 1: Složení absorpčního spektrofotometru

### ČÁST 1: SPEKTOFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ORTHOFOSFOREČNANŮ VE VZORCÍCH VODY

#### Princip

Veškerý fosfor se vyskytuje buď ve formě anorganické ( $P_{\text{anorg}}$ ) nebo v organické ( $P_{\text{organ.}}$ ). Jsou to hlavně orthofosforečnany ( $P_{\text{ortho}}$ ) a polyfosforečnany ( $P_{\text{poly}}$ ). Nejčastější formou výskytu jsou orthofosforečnany ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ).

Zdrojem polyfosforečnanů jsou zejména výrobky s komplexotvorným účinkem (prací prostředky, prostředky pro povrchovou ochranu chladicích okruhů, apretační prostředky pro textilní průmysl, inhibitory koroze apod.). Stanovení (hmotnostní) se provádí za účelem posouzení podmínek eutrofizace.

Vhodnou předpravou vzorku lze určit jednotlivé formy fosforu:

#### V nefiltrovaném vzorku ( $P_{\text{rozp}} + P_{\text{nerozp}}$ )

- orthofosforečnany -  $P_{\text{ortho}}$
- hydrolyzované polyfosforečnany -  $P_{\text{ortho}} + P_{\text{poly}}$
- celkový fosfor po mineralizaci -  $P_{\text{celk}} = P_{\text{ortho}} + P_{\text{poly}} + P_{\text{org}}$

#### Ve filtrovaném vzorku ( $P_{\text{rozp}}$ )

- rozpuštěné orthofosforečnany -  $P_{\text{ortho}}$
- rozpuštěné hydrolyzované polyfosforečnany -  $P_{\text{ortho}} + P_{\text{poly}}$
- celkový rozpuštěný fosfor po mineralizaci -  $P_{\text{celk}} = P_{\text{ortho}} + P_{\text{poly}} + P_{\text{org}}$

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 9	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

### Reagencie (Činidla)

1. Destilovaná voda.
2. Kyselina sírová, roztok  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 9 \text{ mol/l}$ ,  
v 2000 ml kádince se k 500 ml destilované vody za neustálého míchání a chlazení přidá 500 ml koncentrované  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $\rho = 1,84 \text{ g/l}$ ).
3. Kyselina sírová, roztok  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 4,5 \text{ mol/l}$ ,  
v 2000 ml kádince se k 500 ml destilované vody za neustálého míchání a chlazení přidá 500 ml koncentrované  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 9 \text{ mol/l}$  (činidlo 2).
4. Kyselina askorbová, roztok (10%), v ledničce,  
ve 100 ml odměrné baňce se v destilované vodě rozpustí vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) kyseliny askorbové, doplní se po rysku, přelije se do láhve z hnědého skla a uchovává se v ledničce. **Roztok je stálý asi 2 týdny.**
5. Molybden amonný, kyselý roztok I., (**POZOR, TOXICKÁ LÁTKA!**), v ledničce  
v kádince se ve 100 ml destilované vody rozpustí 13 g molybdenanu amonného  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$ , v další kádince se ve 100 ml destilované vody rozpustí 0,35 g vinanu antimonylodrasselného  $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{ H}_2\text{O}$  (**POZOR, TOXICKÁ LÁTKA!**). K 300 ml kyseliny sírové o koncentraci  $(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 9 \text{ mol/l}$  (činidlo 2) se přidá za neustálého míchání roztok molybdenanu a poté roztok vinanu. Po ochlazení se roztok uchovává v láhvi z hnědého skla a v chladu. **Je stálý asi 2 měsíce.**
6. Zásobní roztok standardu, dihydrogenfosforečnan draselný,  $\rho(\text{PO}_4^{-3}) = 500 \text{ mg/l}$ ,  
v 1000 ml odměrné baňce se rozpustí v destilované vodě předem 2 hodiny vysušeného (při  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ )  $0,7165 \text{ g}$  dihydrogenfosforečnanu draselného -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a doplní se po rysku.
7. Povrchová voda – donese student
8. Pitná voda, destilovaná voda
9. Minerální (mořská) voda – donese student

### Pomůcky

- Spektrofotometr.
- Kádinka 100 ml (2 ks).
- Odměrné baňky 50 ml (11 ks), 100ml (1 ks), 2000 ml (1 ks).
- Budík.
- Kyvety 5 cm.
- Pipety 1 ml, 2 ml, 5 ml (2 ks), 10 ml.



## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

### Kalibrace

#### 1. Příprava pracovního roztoku:

Pro přípravu kalibrační řady si nejdříve musíte připravit ze zásobního roztoku (čínidlo 6), **pracovní roztok** o vhodné koncentraci. Při výpočtu postupujete dle následující rovnice:

$$V_{ZR}^P \cdot \rho_{ZR} = V_{PR}^B \cdot \rho_{PR} \quad (1)$$

kde:

$V_{ZR}^P$  = pipetovaný objem zásobního roztoku (chceme vypočítat)

$\rho_{ZR}$  = koncentrace zásobního roztoku (viz popis čínidla 6)

$V_{PR}^B$  = požadovaný objem pracovního roztoku (v našem případě tj. 1 l odměrná baňka)

$\rho_{PR}$  = požadovaná koncentrace pracovního roztoku (zjistíte odhadem, aby se vám dobře pipetovalo)

#### 2. Příprava kalibrační řady o koncentraci 0,2 mg/l – 1 mg/l orthofosforečnanů

Pro přípravu kalibrační řady použijte pracovní roztok o koncentraci, kterou jste si zvolili. Na základě pracovního roztoku si vypočítejte kalibrační řadu o koncentraci 0 mg/l a 0,2 mg/l až 1 mg/l po 0,2 mg/l. Do protokolu uveďte výpočet prvního roztoku a ostatní roztoky stačí formou tabulky (viz tabulka č. 1). Pro výpočet použijte následující rovnici:

$$V_{PR}^P \cdot \rho_{PR} = V_{KR}^B \cdot \rho_{KR} \quad (2)$$

kde:

$V_{PR}^P$  = pipetovaný objem pracovního roztoku (chceme vypočítat)

$\rho_{PR}$  = koncentrace pracovního roztoku (vypočítali jsme v 1. přípravě)

$V_{KR}^B$  = konečný objem kalibračního roztoku

$\rho_{KR}$  = koncentrace kalibračního roztoku (v našem případě tj. postupně 0; 0,2; 0,4 – 1 mg/l)

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 9	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

*Tabulka č. 1: Kalibrační řada*

Koncentrace kalibračního roztoku	Objem pracovního roztoku
mg/l	ml
0,0	
0,2	
0,4	
0,6	
0,8	
1,0	

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Vytvoření kalibrační řady pro stanovení orthofosforečnanů**

1. Ze zásobní suspenze dihydrogenfosforečnanu draselného (čínidlo 6) si nejdříve připravíte pracovní roztok dihydrogenfosforečnanu draselného, kdy si do 1000 ml odměrné baňky odměříte vypočtené množství zásobního roztoku dle výpočtu (1), který jste si udělali při kalibraci a objem po rysku doplníte destilovanou vodou.
2. Z pracovní suspenze si v odměrných baňkách o objemu 50 ml připravte řadu kalibračních suspenzí, jejichž objem jste si vypočetli dle výpočtu (2) a zapsali do tabulky č. 1.
3. Tzn. do první odměrné baňky s označením  $\text{PO}_4^{3-}$  0 mg/l nalijete destilovanou vodu (0 mg/l  $\text{PO}_4^{3-}$ ) po rysku baňky. Vezměte druhou odměrnou baňku s označením  $\text{PO}_4^{3-}$  0,2 mg/l a napipetujete vámi vypočtený objem a zbytek po rysku doplníte destilovanou vodou. Stejně pokračujete s ostatními roztoky. Kalibrační roztoky 0 mg/l a 1 mg/l připravte 2 krát.
4. Kalibrační roztoky důkladně promíchejte.
5. Z takto připravených kalibračních roztoků odpipetujte 10 ml roztoku, tak aby Vám zůstalo v odměrné baňce
6. Přidejte 1 ml kyseliny askorbové (čínidlo 4) a 2 ml kyselého roztoku molybdenanu I. (čínidlo 5).
7. Roztoky promíchejte a destilovanou vodou doplňte po rysku a nechte 15 minut stát.

#### **Úkol č. 2: Volba vhodné vlnové délky pro kalibraci**

1. Z připravené kalibrační řady (po 15 minutách) vyberte standard o koncentraci 0 mg/l a 1 mg/l  $\text{PO}_4^{3-}$  a proměřte absorbanci při vlnových délkách 698 – 702 nm v kyvetě 5 cm. Pro každou vlnovou délku použijte jako blank kalibrační roztok o koncentraci 0 mg/l (při měření postupujte dle návodu u přístroje - kalibrace).
2. Výsledky zaznamenejte do tabulky č. 2.

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

3. Vyberte vlnovou délku, při které má kalibrační roztok o koncentraci 1 mg/l nejvyšší absorpenci. Tuto vlnovou délku použijte pro další vlastní měření kalibrační křivky a stanovení orthofosforečnanů ve vzorcích vod.

*Tabulka č. 2: Absorbance*

Vlnová délka [nm]	Absorbance
698	
699	
700	
701	
702	

### Úkol č. 3: Kalibrace spektrofotometru pro stanovení orthofosforečnanů

- Postupujte podle návodu pro kalibraci přístroje (položeny u spektrofotometru - kalibrace).
- Postupně budete nalévat kalibrační roztoky (od nejmenšího obsahu orthofosforečnanů 0 až do 1 mg/l) do kyvety s optickou dráhou 5 cm a vkládat do spektrofotometru, kde budete proměřovat kalibrační roztoky při vlnové délce, kterou jste určili v úkolu č. 2.
- Z naměřených hodnot koncentrace orthofosforečnanů (osa x) a absorpance (osa y) vytvořte graf (kalibrační křivku) jejich závislosti.

### Úkol č. 4: Stanovení orthofosforečnanů ve vzorcích pitné, povrchové a minerální vody

- Do 50 ml odměrné baňky odměřte  $40 \pm 0,1$  ml roztoku vzorku povrchové, pitné, minerální a destilované vody (slepý vzorek).
- Přidejte 1 ml kyseliny askorbové (čínidlo 4) a 2 ml kyselého roztoku molybdenanu I. (čínidlo 5).
- Roztoky promíchejte a destilovanou vodou doplňte po rysku a nechte 15 minut stát.
- Dále postupujte podle návodu pro stanovení látek (položeny u spektrofotometru).
- Vzorky vod proměřujte při vlnové délce, kterou jste si zvolili v úkolu č. 2, v kyvetě optické dráhy 5 cm. Zbarvení je stále několik hodin. Stejným postupem proveďte slepé stanovení s destilovanou vodou.

**Tabulka č. 3:** Naměřené hodnoty absorpance a koncentrace orthofosforečnanů při kalibraci.

**Tabulka č. 4:** Naměřené a vypočtené hodnoty absorpance a koncentrace orthofosforečnanů ve vzorcích vody.

### Výpočty

- Výpočet přípravy pracovního roztoku standardu při kalibraci.
- Výpočet přípravy kalibračního roztoku o koncentraci 0,2 mg/l – 1 mg/l orthofosforečnanů při kalibraci.

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

3. Výpočet množství kyseliny askorbové použité pro přípravu 10 % roztoku kyseliny askorbové na objem 100 ml.

### *Vyjadřování výsledků*

Výsledky kalibrace a stanovení orthofosforečnanů ve vzorku vody se uvádí v jednotkách mg/l na 3 platné číslice.

### *Závěr*

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám. K protokolu přiložte graf závislosti absorbance a stanovené hodnoty kalibračních roztoků orthofosforečnanů – kalibrační křivku.

## **ČÁST 2: KOLORIMETRICKÉ STANOVENÍ ORTHOFOSFOREČNANŮ VE VZORCÍCH VODY**

### *Princip*

Kolorimetrie je nejstarší optická metoda. Spočívá ve vizuálním porovnávání intenzity zbarvení vzorku a standardu. Porovnáváme buď roztok vzorku se sadou různě koncentrovaných roztoků při stejných tloušťkách absorpční vrstvy, nebo měníme tloušťku absorbující vrstvy, dokud se nedosáhne shodné absorpce:

$$A_x = A_{st}$$

$$c_x l_x = c_{st} l_{st}$$

### *Reagencie (Činidla)*

1. Destilovaná voda.
2. Povrchová voda – donese student
3. Pitná voda, destilovaná voda
4. Minerální (mořská) voda – donese student
5. Standard PO<sub>4</sub>-1
6. Standard PO<sub>4</sub>-2

### *Pomůcky*

- Fotometr Multy.
- Pipeta 10 ml (2 ks).
- Kyveta 24 mm.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 9	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## ULTRAFIALOVÁ A VIDITELNÁ SPEKTROMETRIE

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Stanovení orthofosforečnanů ve vzorcích pitné, povrchové a minerální vody**

1. Do kyvety odpipetujte 10 ml vzorku povrchové, pitné a minerální vody. Do druhé kyvety odměřte 10 ml destilované vody.
2. Do každé kyvety přidejte 10 kapek  $\text{PO}_4\text{-1}$  (čínidlo 2), kyvetu zavřete a promíchejte.
3. Po promíchání do každé kyvety přidejte 2 modré lžičky  $\text{PO}_4\text{-}^2$  (čínidlo 3), kyvetu opět zavřete a promíchejte.
4. Zapněte fotometr a naťukejte číslo metody 383 a zmáčkněte ENTER.
5. Až se metoda objeví, na displeji zmáčkněte START.
6. Přístroj začne odpočítávat 5 minut, po které musí roztoky v kyvetě stát.
7. Po uplynutí této doby vložte kyvetu se slepým vzorkem (destilovaná voda) do místa pro měření a zmáčkněte ZERO.
8. Jakmile v dolní části displeje nebude svítit zeoring, kyvetu vyjměte.
9. Vložte postupně kyvety se vzorky a vždy zmáčkněte TEST. Pro měření dalšího vzorku vždy zmáčkněte TEST.
10. Naměřené hodnoty orthofosforečnanů si zapište do Vámi vytvořené tabulky.

**Tabulka č. 5:** Naměřené hodnoty koncentrace orthofosforečnanů ve vzorcích vody.

### *Závěr*

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám. Porovnejte naměřené hodnoty orthofosforečnanů a stanovené fotometricky a kolorimetricky.

### **DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník ověřený podpisem vyučujícího.

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU

### *Pracovní úkol*

1. Vytvořte kalibrační řadu roztoků pro stanovení zákalu.
2. Proveďte kalibraci přístroje pro stanovení zákalu.
3. Stanovte zákal ve vzorku povrchové, pitné a minerální vody.
4. V závěru proveďte diskusi (komentář), zda jste správně provedli kalibraci přístroje pro stanovení zákalu, na základě čeho jste to určili a rovněž proveďte komentář k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
5. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### *Princip metody*

**Spektrofotometrie** patří mezi fyzikální popř. fyzikálně chemické metody analýzy, která ke stanovení látek využívá přístroje či zařízení. Z tohoto důvodu jsou častěji označovány jako instrumentální metody.

Tato metoda je založena na interakci mezi elektromagnetickým zářením a molekulou stanovované látky, kterou dané elektromagnetické záření prošlo. Pokud měřená látka je schopná absorbovat elektromagnetické záření, bude se prošlý tok lišit od vstupního. A úkolem spektrofotometrie je pak studovat, při jakých vlnových délkách a k jak intenzivnímu pohlcení došlo.

Molekuly mají schopnost pohlcovat elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek. Je to dáno tím, že mohou existovat jen v určitých kvantových stavech, které se liší obsahem energie. Jestliže má molekula přejít ze stavu s nižší energií do stavu s energií vyšší musí absorbovat záření o frekvenci  $\nu$ , která právě odpovídá rozdílu energií mezi energetickými hladinami  $E_p$  a  $E_q$  obou kvantových stavů podle Planckovy podmínky:

$$\Delta E = E_p - E_q = h \nu = h c / \lambda$$

kde  $c$  je rychlost světla,  $\lambda$  vlnová délka,  $h$  Planckova konstanta ( $6,626 \cdot 10^{-34}$  J s); podle konvence je excitovaná hladina označována indexem  $p$  (horní hladina), základním indexem  $q$  (spodní hladina).

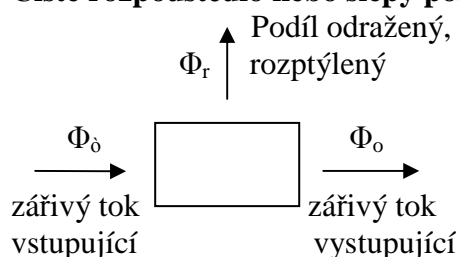
**Podstatou UV a Vis spektrometrie** je absorpce UV a Vis záření (200 až 800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů. Proto tato spektra nazýváme elektronová a spektrometrii elektronovou spektrometrii. Nejnáročnější jsou přechody mezi elektronovými energetickými hladinami. K těmto přechodům dochází při absorpci ultrafialového (190 až 400 nm) a viditelného záření (400 až 800 nm). Absorpce záření se měří na přístrojích, které se nazývají absorpční spektrofotometry.

Spektrofotometr je jen jednopaprskový a měří tedy jen vystupující tok záření. Proto je třeba provést dvě měření, kdy vedle měření vlastního vzorku  $\Phi$ , měříte ještě slepý (srovnávací pokus  $\Phi_0$ ), u kterého nedochází k absorpci (tzn. prošlý tok  $\Phi$  je stejný jako dopadající tok  $\Phi_0$ ).

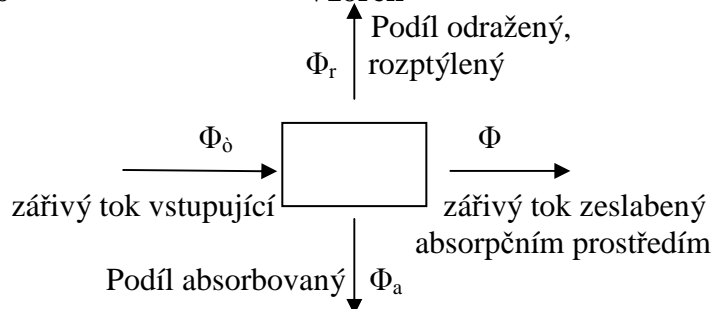
Při absorpčním měření se pro stanovenou vlnovou délku porovnává tok záření  $\Phi$  prošlý měrnou kyvetou s tokem záření  $\Phi_0$ , prošlým kyvetou s čistým rozpouštědlem nebo slepým pokusem. Vstupující tok záření  $\Phi_0$ , jehož hodnota není pro měření významná, je vždy absolutně vyšší o podíl odraženého nebo rozptýleného záření  $\Phi_r$ .

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU

### Čisté rozpouštědlo nebo slepý pokus



### Vzorek



Podíl zářivých toků  $\Phi$  a  $\Phi_0$  se nazývá propustnost neboli transmitance  $T$   $T = \Phi / \Phi_0$

Na spektrofotometru můžete odečíst i absorbanci  $A$ , tedy záporně vzatý logaritmus propustnosti:

$$A = -\log T = \log (\Phi_0 / \Phi)$$

Závislost propustnosti či absorbance na vlnové délce se nazývá absorpční spektrum.

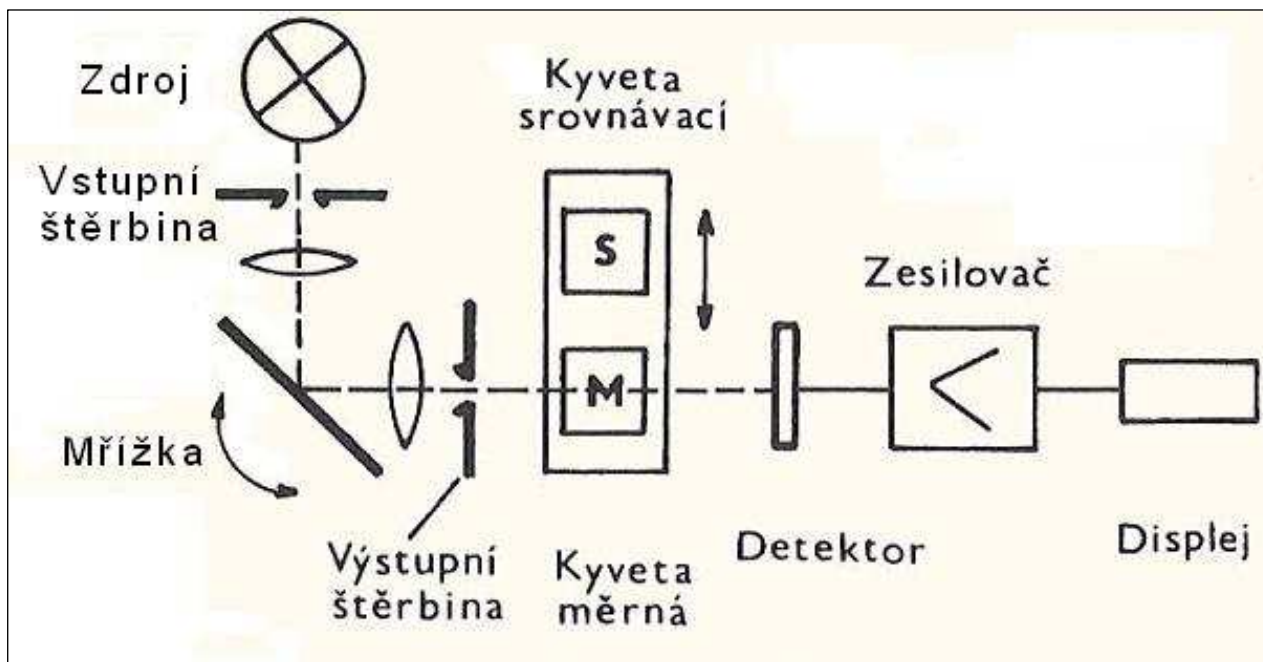
Kvantitativní analýza je založena na Lambertově-Beerově zákoně, podle kterého je hodnota absorbance  $A$  při vlnové délce  $\lambda$  přímo úměrná látkové koncentraci  $c$ . Lambert-Beerův zákon platí pro monochromatické záření a pro nízké koncentrace, řádově menší než  $10^{-2}$  mol/l. Nejjednodušším ověřením platnosti tohoto zákona je proměření závislosti absorbance na různé koncentrace několika kalibračních roztoků při stejné vlnové délce a ve stejné kyvetě. Výsledná závislost musí být přímková a nazýváme ji kalibrační křivkou.

Absorpční spektrofotometr se skládá ze 4 základních částí (viz obrázek 1):

1. Zdroj – pro viditelnou oblast je to wolframová nebo halogenová žárovka,
2. Monochromátor – tvořený vstupní a výstupní štěrbinou, zrcadlovou nebo čočkovou soustavou a rozkladným prvkem (hranol nebo reflexní mřížka),
3. Absorpční prostředí – kyveta s měrným nebo srovnávacím prostředím,
4. Detekční systém – fotoelektrický detektor záření a elektronické zařízení na zpracování jeho odezvy.

Ze zdroje vychází svazek polychromatického záření na vstupní štěrbinu monochromátoru. Po rozkladu se natáčením rozkladného prvku postupně zobrazují jednotlivé monochromatické obrazy záření s charakteristickým intervalem vlnových délek vstupní štěrbinou na štěrbinu výstupní. Střední hodnota tohoto intervalu je zvolená vlnová délka. Je nutné vybrat takovou vlnovou délku, při níž látka silně absorbuje. Po průchodu absorpčním prostředím dopadá monochromatické záření na fotoelektrický detektor. Signál z detektoru se zpracovává v zesilovači a jeho výstup se zobrazí na číslicovém displeji.

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU



Obrázek č. 1: Složení absorpčního spektrofotometru

**Princip**

Zákal povrchových vod je způsoben suspendovanými nerozpuštěnými částicemi nebo koloidními nerozpuštěnými anorganickými i organickými látkami. Jedná se především o jílové částice, hydratované oxidy železa a hliníku, organické koloidní látky, řasy, plankton a bakterie. Zákal podzemních vod bývá způsoben nerozpuštěnými anorganickými látkami. Měření zákalu se provádí u vod pitných, povrchových i odpadních.

**Reagencie****1. zásobní suspenze, formazín, zákal 400 ZF**

V odměrné baňce o objemu 500 ml se rozpustí v 25 ml destilované vody 2,5 g hexamethylentetraminu a přidá se roztok připravený použitím 0,25 g síranu hydrazínu (**POZOR TOXICKÁ LÁTKA A KARCINOGEN!**) v 25 ml destilované vody. Směs se promíchá a ponechá v klidu 24 hodin při teplotě 25 °C. Pak se doplní destilovanou vodou po rysku. Suspenze je stálá asi 1 měsíc, před použitím se musí dobře promíchat.

**2. pracovní suspenze - zákal 100 ZF**



## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU

### *Pomůcky*

- Pipety 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml.
- Odměrný válec.
- Odměrné baňky 100 ml (8 ks).
- Spektrofotometr.
- Kyvety 1 cm.
- Odměrná baňka 200 ml (1 ks), 500 ml (1 ks).

### *Postup*

#### *Kalibrace*

#### **1. Příprava pracovního roztoku:**

Pro přípravu kalibrační řady si nejdříve musíte připravit ze zásobního roztoku (činidlo 1), **pracovní roztok** o vhodné koncentraci. Při výpočtu postupujete dle následující rovnice:

$$V_{ZR}^P \cdot \rho_{ZR} = V_{PR}^B \cdot \rho_{PR} \quad (1)$$

kde:

$V_{ZR}^P$  = pipetovaný objem zásobního roztoku (chceme vypočítat)

$\rho_{ZR}$  = koncentrace zásobního roztoku (viz popis činidla 1)

$V_{PR}^B$  = požadovaný objem pracovního roztoku (v našem případě tj. 200 ml odměrná baňka)

$\rho_{PR}$  = požadovaná koncentrace pracovního roztoku (viz popis činidla 2)

#### **2. Příprava kalibrační řady o koncentraci 1 ZF – 40 ZF zákalu**

Pro přípravu kalibrační řady použijte pracovní roztok o koncentraci 100 ZF. Na základě pracovního roztoku si vypočítejte kalibrační řadu o koncentraci 0 ZF a 1 ZF až 40 ZF (viz tabulka č. 1). Do protokolu uveďte výpočet prvního roztoku a ostatní roztoky stačí formou tabulky (viz tabulka č. 1). Pro výpočet použijte následující rovnici:

$$V_{PR}^P \cdot \rho_{PR} = V_{KR}^B \cdot \rho_{KR} \quad (2)$$

kde:

$V_{PR}^P$  = pipetovaný objem pracovního roztoku (chceme vypočítat)

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 10	Obor: Environmentální biotechnologie
Předmět: Instrumentální metody		Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU

$\rho_{PR}$  = koncentrace pracovního roztoku (viz popis činidla 2)

$V_{KR}^B$  = konečný objem kalibračního roztoku

$\rho_{KR}$  = koncentrace kalibračního roztoku ( v našem případě tj. postupně 0; 1; 2 – 40 ZF)

*Tabulka č. 1: Kalibrační řada*

Koncentrace kalibračního roztoku	Objem pracovního roztoku
ZF	ml
0	
1	
2	
5	
10	
20	
30	
40	

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Vytvoření kalibrační řady pro stanovení zákalu**

1. Ze zásobní suspenze formazínu (činidlo 1) si nejdříve připravíte pracovní suspenzi formazínu (činidlo 2) dle kalibrace.
2. Z pracovní suspenze (činidlo 2) se v odměrných baňkách o objemu 100 ml připraví řada kalibračních suspenzí (viz tabulka č. 1).
3. Tzn. do první odměrné baňky s označením zákal 0 ZF, nalijete destilovanou vodu (0 ZF zákalu) po rysku baňky. Vezmete druhou odměrnou baňku s označením zákal 1 ZF a napipetujete vypočtený objem pracovní suspenze (činidlo 2) a zbytek po rysku doplníte destilovanou vodou. Stejně pokračujete s ostatními roztoky. Kalibrační roztoky 0 ZF a 40 ZF připravte 2 krát.

#### **Úkol č. 2: Volba vhodné vlnové délky pro kalibraci**

1. Z připravené kalibrační řady vyberte standard o koncentraci 0 ZF a 40 ZF PO a proměřte absorbanci při vlnových délkách 558 – 562 nm v kyvetě 1 cm. Pro každou vlnovou délku použijte jako blank kalibrační roztok o koncentraci 0 ZF (při měření postupujte dle návodu u přístroje - kalibrace).
2. Výsledky zaznamenejte do tabulky č. 2.

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU

3. Vyberte vlnovou délku, při které má kalibrační roztok o koncentraci 40 ZF nejvyšší absorpenci. Tuto vlnovou délku použijte pro další vlastní měření kalibrační křivky a stanovení zákalu ve vzorcích vod.

*Tabulka č. 2: Absorbance*

Vlnová délka [nm]	Absorbance
558	
559	
560	
561	
562	

### Úkol č. 3: Kalibrace spektrofotometru pro stanovení zákalu

- Postupujte podle návodu pro kalibraci přístroje (položený u přístroje).
- Postupně budete nalévat kalibrační roztoky (od nejmenšího obsahu zákalu 0 až do 40 ZF zákalu) do kyvety s optickou dráhou 1 cm a vkládat do spektrofotometru, kde budete proměřovat kalibrační roztoky při vlnové délce 560 nm.
- Z naměřených hodnot zákalu (osa x) a absorpance (osa y) vytvořte graf (kalibrační křivku) jejich závislosti.

### Úkol č. 4: Stanovení zákalu ve vzorcích pitné, povrchové a minerální vody

- Postupujte podle návodu pro stanovení látek (u přístroje).
- Dobře rozřepaný vzorek vody se nalije do kyvety s optickou dráhou 1 cm, proměří se absorpance při vlnové délce 560 nm.
- Během měření nesmí suspenze sedimentovat. Stejným postupem se provede slepé stanovení s destilovanou vodou.
- Naměřené hodnoty zákalu a jejich absorpance ve vzorcích vody zapište do vámi vytvořené tabulky.

*Tabulka* – Naměřené hodnoty absorpance a zákalu při kalibraci.

*Tabulka* – Naměřené hodnoty absorpance a zákalu při stanovení zákalu ve vzorcích vody.

### Vyjadřování výsledků

Výsledky kalibrace a stanovení zákalu ve vzorku vody se uvádí v jednotkách ZF a uvádí se na 2 platné číslice.

### Závěr

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám. K protokolu přiložte graf závislosti absorpance a stanovené hodnoty kalibračních roztoků zákalu – kalibrační křivku.

VŠB-TU Ostrava - I EI	STŮL č. 10	Obor: Environmentální biotechnologie Zpracování a zneškodňování odpadů Environmentální inženýrství
Předmět: Instrumentální metody		

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ZÁKALU

### DŮLEŽITÉ

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník ověřený podpisem vyučujícího.laboratorní deník, ověřený podpisem vyučujícího.

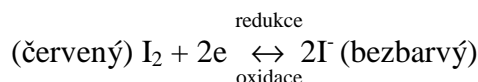
## ODMĚRNÉ JODOMETRICKÉ STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK<sub>5</sub> VE VODÁCH

### Pracovní úkol

1. Jodometricky stanovte obsah rozpuštěného kyslíku (O<sub>2</sub>) a biochemickou spotřebu kyslíku (BSK<sub>5</sub>) ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody.
2. Proveďte výpočet O<sub>2</sub> a BSK<sub>5</sub> ve vzorcích vody.
3. V závěru rovněž proveďte diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
4. Výsledné hodnoty povrchové vody porovnejte s vyhláškou č. 229/2007 Sb., příloha č. 3 (NV je vyvěšeno na nástěnce v laboratoři).
5. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

### Princip

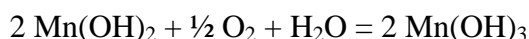
**Jodometrie** patří mezi oxidačně - redukční metody odměrné analýzy. Základem jodometrických titrací je vratná reakce, při které se jod (oxidační činidlo) redukuje na jodid (redukční činidlo) a naopak jodidový ion se oxiduje na jod podle rovnice:



Jako indikátoru se v jodometrii používá roztok škrobu, jehož účinnou složkou je polymer glukosy, β-amylasa. Ta tvoří za studena s jodem v přítomnosti jodidových iontů tmavě modrý adsorpční komplex. Škrob se při titraci roztoků obsahující jod záměrně přidává až před bodem ekvivalence, kdy původně tmavě hnědočervené zbarvení roztoku přejde na světle žluté, protože při velkých koncentracích jodu v roztoku se škrob nezvratně rozkládá.

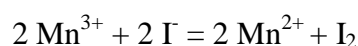
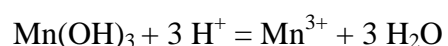
Podstatou jodometrického stanovení O<sub>2</sub> a BSK<sub>5</sub> je, že kyslík rozpuštěný ve vzorku vody po fixaci dvěma srážecími roztoky reaguje s hydroxidem manganatým v alkalickém prostředí za vzniku ekvivalentního množství hydroxidu manganitého a manganičitého.

- Po přidavku síranu manganatého (srážecí roztok I.) a hydroxidu draselného (srážecí roztok II.) do vzorku vody vznikne:



Mangan s vyšším oxidačním číslem přechází po okyselení vzorku v přítomnosti jodidu opět na iont manganatý, přičemž oxiduje jodid na ekvivalentní množství jodu.

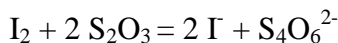
- Po přidavku kyseliny sírové (kyselé prostředí), za přítomnosti jodidu draselného (srážecí roztok II.), který byl ke vzorku přidán již s roztokem hydroxidu draselného:



Jod se pak stanoví titrací odměrným roztokem thiosíranu na škrob jako indikátor. Kyslík se tedy stanovuje **nepřím**o, a to jako jod.

## ODMĚRNÉ JODOMETRICKÉ STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK<sub>5</sub> VE VODÁCH

- Při titraci thiosíranem:



Thiosíran → tetrathionan

Kyslík je nutno stanovit nebo alespoň fixovat (konzervovat) na místě odběru vzorku, přičemž je nezbytné zaznamenat i teplotu odebírané vody, teplotu okolí a tlak vzduchu.

Vzorky ke stanovení kyslíku se odebírají přímo do kyslíkových skleněných láhví (kyslíkovek).

### Biochemická spotřeba kyslíku (BSK)

Biochemická spotřeba kyslíku (BSK) je definována jako hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku spotřebovaného za stanovených podmínek biochemickou oxidací organických, popřípadě anorganických látek ve vodě. Z biologicko-chemického hlediska je to množství kyslíku spotřebovaného mikroorganismy při biochemické oxidaci (mineralizaci) organických látek za aerobních podmínek a bez součinnosti fotosyntetizujících mikroorganismů.

Stanovenou hodnotu BSK lze považovat za míru koncentrace biologicky rozložitelných organických látek obsažených ve vodě. Organické látky jsou jednou z hlavních znečišťujících složek vody, proto BSK patří mezi důležité ukazatele čistoty či znečištění vody. BSK je také důležitým ukazatelem kyslíkového režimu vod, vzhledem k tomu, že organické látky stanovené jako BSK hrají důležitou úlohu při odčerpávání rozpuštěného kyslíku z vody. Hodnota BSK závisí na době inkubace. BSK za  $n$  dní inkubace se označuje BSK <sub>$n$</sub> .

Mezinárodní unifikovanou a tedy i celosvětově rutinně používanou metodou stanovení je standardizovaná, tzv. zředovací metoda stanovení BSK. Metoda spočívá ve stanovení obsahu rozpuštěného kyslíku v předem upraveném vzorku vody nultého a pátého dne inkubace. Úpravou vzorku se rozumí vytemperování roztoku na teplotu inkubace, nasycení vzorku kyslíkem. Inkubace vzorku spočívá v tom, že vzorek vody je ponechán v uzavřené láhvi v klidu při teplotě 20 °C bez přístupu vzduchu a světla.

BSK<sub>5</sub> se vypočítá jako rozdíl koncentrací rozpuštěného kyslíku, stanoveného nultého a pátého dne ve vzorku, inkubovaném za uzančně standardizovaných podmínek (tj. před a po biochemické oxidaci organických i anorganických látek obsažených v analyzovaném vzorku).

### Reagencie

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

#### 1. Síran manganatý, srážecí roztok I,

400 g MnSO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O (nebo 340 g MnSO<sub>4</sub> bezvodného, nebo 380 g MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O) se rozpustí v destilované vodě, doplní se na objem 1 l, není-li roztok čirý, zfiltruje se přes papírový filtr.

**ODMĚRNÉ JODOMETRICKÉ STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK<sub>5</sub> VE VODÁCH****2. Alkalický roztok jodidu s azidem, srážecí roztok II, POZOR TOXICKÁ LÁTKA!!!**

350 g NaOH (nebo 500 g KOH) a 300 g KI (nebo NaI) se rozpustí asi v 500 ml destilované vody. 10 g azidu sodného (NaN<sub>3</sub>) (POZOR TOXICKÁ LÁTKA!) se rozpustí asi v 40 ml destilované vody. Oba roztoky se smísí a po ochlazení se doplní na objem 1 l. Není-li roztok čirý, stáhne se po usazení násoskou nebo se zfiltruje přes skleněnou vatu. Roztok se uchovává v láhvi z hnědého skla.

**3. Kyselina sírová, zředěná v objemovém poměru 1:1, POZOR ŽIRAVINA!!!**

Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu; pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) koncentrované kyseliny sírové (98 %  $\rho = 1,84$  g/ml) za stálého míchání vlijte do vypočteného množství (výpočet uvést v protokolu; pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) destilované vody. Roztok připravte do 250 ml odměrné baňky.

**4. Thiosíran sodný, odměrný roztok,  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cong 0,01$  mol/l,**

Při přípravě tohoto roztoku se užívá destilovaná voda předem čerstvě převařená a ochlazená. V odměrné baňce o objemu 1 l se v této destilované vodě postupně rozpustí 2,5 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 5 H<sub>2</sub>O a 0,4 g NaOH. Po rozpuštění hydroxidu se roztok stejnou destilovanou vodou doplní po rysku.

**5. Škrob, indikátorový roztok**

4 g rozpustného bramborového škrobu a 0,2 g kyseliny salicylové (konzervační látka) se smísí asi s 50 ml destilované vody. Tato suspenze se vlije za stálého míchání do asi 1 l vroucí destilované vody a krátce se povaří. Roztok škrobu se musí při indikaci jodu zbarvovat čistě modře (nikoliv zeleně či fialově).

**6. Destilovaná voda.****7. Povrchová voda – donese student.****8. Minerální voda (mořská voda) – donese student.****Pomůcky**

- Byreta (tmavá láhev).
- Titrační baňky 250 ml (4 ks).
- Kyslíkové láhve (4 ks).
- Pipety 2 ml (2 ks).
- Automatická pipeta (2 ks).
- Násada na automatickou pipetu (2 ks).
- Odměrná baňka 1000 ml (1 ks), 250 ml (1 ks).

## ODMĚRNÉ JODOMETRICKÉ STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK<sub>5</sub> VE VODÁCH

### *Postup*

#### **Úkol č. 1: Odběr vzorku**

1. Vzorky vody ke stanovení kyslíku se odebírají přímo do kyslíkových láhví (kyslíkovek). Každá kyslíková láhev má vyryto číslo a objem.
2. Vyryté číslo musí souhlasit se stejným číslem na víčku kyslíkové láhve.
3. Při plnění kyslíkovek vodou musíte vzorek vody nechat přetéct přes hrdlo kyslíkovky.
4. Pokud máte připraveny roztoky pro fixaci vzorku, fixujte vzorek vody ihned po odběru a až potom kyslíkovku uzavřete.
5. Pro odstranění možných vzniklých vzduchových bublin poklepejte kyslíkovku jejím víčkem a ihned uzavřete.
6. Při plnění kyslíkovek pitnou vodou musíte dbát na to, aby voda měla co nejmenší průtok a kyslíkovku plňte tak dlouho, dokud se objem vzorku vody v láhvi alespoň 5 x vymění, a poté co nejrychleji láhev uzavřete.

#### **Úkol č. 2: Fixace vzorku**

1. Kyslík ve vzorku v kyslíkovce fixujte přidáním 1 ml srážecího roztoku (čínidlo I) síranu manganatého (asi 1 cm pod hladinou vzorku) pomocí automatické pipety.
2. Pak vyměňte modrý nástavec na mikropipetu nástavcem pro srážecí čínidlo II.
3. Pomocí takto upravené mikropipety přidejte 2 ml alkalického srážecího roztoku (čínidlo 2) jodidu a azidu.
4. Kyslíkovku ihned uzavřete tak, aby pod zátkou nezůstala vzduchová bublina.
5. Hrdlo láhve opláchněte pod tekoucí vodou a obsah důkladně promíchejte.
6. Obsahuje-li vzorek kyslík, vznikne rezavě hnědá sraženina hydroxidu manganatého. Pokud vzorek kyslík neobsahuje, objeví se bílá sraženina hydroxidu manganatého.

#### **Úkol č. 3: Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku**

1. Po dokonalém usazení sraženiny hydroxidu manganatého kyslíkovku opatrně otevřete a pod hladinu přidejte 1,5 ml kyseliny sírové (čínidlo 3). Kyselina musí být přidána rychle, aby sraženina neunikla z láhve.
2. Láhev ihned uzavřete, opláchněte pod tekoucí vodou a dobře protřepejte.
3. Když se sraženina rozpustí, ponechejte kyslíkovku na 5 minut ve tmě.
4. Potom obsah láhve rychle přelijte do titrační baňky a titrujte odměrným roztokem thiosíranu sodného  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cong 0,01 \text{ mol/l}$  do světložlutého zbarvení (přibližně 2 ml). Přidejte 2 ml škrobového indikátorového roztoku a titrujte dále do odbarvení modrého roztoku.
5. Spotřebu thiosíranu sodného ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) a objem kyslíkovky (vyrytý na láhvi) zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte koncentraci rozpuštěného kyslíku. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.



## ODMĚRNÉ JODOMETRICKÉ STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK<sub>5</sub> VE VODÁCH

### Úkol č. 4: Biochemická spotřeba kyslíku (BSK<sub>7</sub>)

1. Nultý den provedte nasycení vzorku vody kyslíkem pomocí probublávajícího přístroje.
2. Tyčinku vložte do polyetylenové láhve se vzorkem a přístroj zapojte do elektřiny.
3. Probublávání provádějte 10 minut.
4. Dále postupujte stejně jako u stanovení koncentrace kyslíku, tzn. úkol č. 1, 2, 3.
5. Potom opět vzorkem vody nasycený kyslíkem naplněte kyslíkovky, poklepejte a uzavřete víčkem.
6. Takto naplněné kyslíkovky se uloží do termostatu, kde je stálá teplota 20 °C (provede vyučující). Kyslíkovky se ukládají zátkou dolů do plochých misek naplněných vodou tak, aby jejich hrdla byla ponořena do vody.
7. Po uběhnutí 7 dnů budete vzorek vody v kyslíkovce zpracovávat stejně jako nultý den. Provedete fixaci vzorku (přidáte obě srážecí činidla), přidáte 1,5 ml kyseliny sírové, dáte na 5 minut do tmy, přelijete do titrační baňky a titrujete thiosíranem sodným  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cong 0,01 \text{ mol/l}$  nejdříve do světlolžlutého zbarvení roztoku (asi 2 ml), dále dáte 2 ml škrobového roztoku a titrujete do odbarvení modrého roztoku.
8. Spotřebu thiosíranu sodného ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) nultý a pátý den i objem kyslíkovky (napsaný na láhvi) zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočtete biochemickou spotřebu kyslíku. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

**Tabulky** - Naměřené a vypočtené hodnoty při koncentrace rozpuštěného kyslíku.

**Tabulky** - Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení biochemické spotřeby kyslíku.

### Výpočty

1. Výpočet kyseliny sírové zředěné v objemovém poměru 1:1 do 250 ml odměrné baňky.
2. Výpočet koncentrace rozpuštěného kyslíku

$$\rho(\text{O}_2) = \frac{f_t \cdot c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot M(\text{O}_2) \cdot 1000}{V_v} \quad V_v = V_k - V_\xi$$

kde:

- $\rho(\text{O}_2)$  je hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku vody v mg/l;  
 $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$  je látková koncentrace odměrného roztoku  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  v mol/l;  
 $f_t$  je titrační faktor (zde je roven 1/4);  
 $V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$  je objem odměrného roztoku thiosíranu sodného, spotřebovaný do konce titrace v ml;  
 $V_v$  je objem roztoku vzorku, v němž byl stanoven obsah kyslíku v ml;  
 $V_k$  je objem kyslíkovky v ml;  
 $V_\xi$  je objem srážecích roztoků přidaných do kyslíkovky při fixaci v ml;  
 $M(\text{O}_2)$  je molární hmotnost molekuly kyslíku.

## ODMĚRNÉ JODOMETRICKÉ STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK<sub>5</sub> VE VODÁCH

### 3. Výpočet biochemické spotřeby kyslíku

$$BSK_7 = \rho_0(O_2) - \rho_7(O_2)$$

kde:

$BSK_7$  je biochemická spotřeba kyslíku v mg/l;

$\rho_0(O_2)$  je hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku vody nultý den inkubace v mg/l;

$\rho_5(O_2)$  je hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku vody pátý den inkubace v mg/l.

$$\rho_0(O_2) = \rho_5(O_2) = \frac{f_t \cdot c(Na_2S_2O_3) \cdot V(Na_2S_2O_3) \cdot M(O_2) \cdot 1000}{V_v} \quad V_v = V_k - V_{\xi}$$

kde:

$\rho_{0,5}(O_2)$  je hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku vody nultý respektive pátý den v mg/l;

$c(Na_2S_2O_3)$  je látková koncentrace odměrného roztoku  $Na_2S_2O_3$  v mol/l;

$V(Na_2S_2O_3)$  je objem odměrného roztoku thiosíranu sodného, spotřebovaný do konce titrace v ml nultý respektive pátý den v ml;

$V_v$  je objem roztoku vzorku, v němž byl stanoven obsah kyslíku v ml;

$V_k$  je objem kyslíkovky v ml;

$V_{\xi}$  je objem srážecích roztoků přidávaných do kyslíkovky při fixaci v ml;

$f_t$  je titrační faktor (zde je roven 1/4);

$M(O_2)$  je molární hmotnost molekuly kyslíku.

### Vyjadřování výsledků

Výsledky měření koncentrace rozpuštěného kyslíku a BSK<sub>5</sub> se uvádí na desetiny.

### Závěr

Odpověď na odstavce „pracovní úkol“ a komentář k naměřeným hodnotám.

### DŮLEŽITÉ

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
3. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
4. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
5. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník ověřený podpisem vyučujícího.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU****ČÁST 1: POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH*****Pracovní úkol***

4. Stanovte pH ve vzorku pitné, povrchové, destilované a minerální (mořské) vody.
5. V závěru rovněž proved'te diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
6. Výsledné hodnoty porovnejte s vyhláškou č. 229/2007 Sb., příloha č. 3 a s vyhláškou 252/2004 Sb., příloha č. 1. (umístěny na nástěnce v laboratoři).

***Princip***

**Potenciometrie** je metoda využívající pro stanovení aktivity (koncentrace) sledované látky měření elektromotorického napětí elektrochemických článků.

1. Přímá potenciometrie – koncentrace sledované látky lze určit přímo z naměřené hodnoty napětí článku (stanovení hodnoty pH).
2. Nepřímá potenciometrie - koncentrace sledované látky lze určit ze změny napětí článku v závislosti na přidávku titračního činidla (potenciometrická titrace s potenciometrickou indikací bodu ekvivalence).

Elektrochemické články (elektrody) používané při potenciometrických metodách sestávají ze dvou elektrod:

1. Elektroda měrná (indikační) – její potenciál je závislý na koncentraci stanovované látky, je tvořena skleněnou membránou ze sodno-vápenatého skla.
2. Elektroda srovnávací (referentní) – její potenciál nezávisí na koncentraci stanovované látky, např. chloridostříbrná nebo merkurochloridová (kamelová) elektroda.

Nejčastěji se však používá skleněná kombinovaná elektroda spojená s referentní elektrodou.

Hodnota pH neboli koncentrace vodíkových iontů je definována jako záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iontů. Významně ovlivňuje chemické, fyzikálně chemické a biologické procesy probíhající ve vodách. Umožňuje také rozlišit jednotlivé formy výskytu některých prvků ve vodách a je jedním z hledisek pro posuzování agresivity vody.

Hodnota pH povrchových vod se pohybuje v rozmezí od 6,5 do 8,5. Pokles pH vody pod 4,5 je způsoben přítomností anorganických i organických volných kyselin (např. huminové látky). Vody s pH nad 8,3 obsahují ionty  $\text{CO}_3^-$  nebo  $\text{OH}^-$ . Krátkodobá zvýšení hodnoty pH (10 – 11) vodního prostředí vlivem intenzivní fotosyntézy, fytoplanktonu a ponořené makrovegetace bývají spojeny s biogenní dekalifikací, což mívá zpravidla katastrofální důsledky pro ryby a ostatní vodní živočichy.

Vzorky se odebírají do polyethylenových láhví nebo do skleněných láhví.

Hodnota pH se stanovuje různými metodami, počínaje jednoduchými způsoby při užití indikátorových papírků, barevných indikátorů a konče složitějšími elektrometrickými

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU**

metodami. Kolorimetrické metody využívají barevnou změnu použitých indikátorů, mají pouze omezenou přesnost, a proto vyhovují pouze pro orientační stanovení hodnoty pH vody nebo pro terénní měření. Kromě univerzálního indikátoru, který pokrývá významnou část rozsahu pH stupnice, se v literatuře uvádí celá řada acidobazických indikátorů, pracujících pouze v úzkém rozsahu hodnot pH. Zabarvení vzorku po přidání těchto indikátorů se pak srovnává se zabarvením standardních tlumivých roztoků a na základě tohoto srovnání se určuje hodnota pH vzorku.

Nejčastěji se dnes hodnota pH stanovuje potenciometricky (pomocí pH-metru). pH-metry mohou být buď laboratorní, nebo přenosné. Každý pH-metr se musí před každým měřením kalibrovat. Kalibrace pH-metru se provádí pomocí přiložených kalibračních pufrů a změřené teploty. Lze provést jednobodovou kalibraci za použití jednoho pufru (pufr 7 – neutrální). U dvoubodové kalibrace se volí pufr 7 a dále pufr podle předpokládané hodnoty pH prostředí (kyselé – pufr 4, zásadité – pufr 10). Pokud se provádí třibodová kalibrace, používají se tři pufrы, a to buď vzestupně (nejdříve pufr 4, pak pufr 7 a nakonec pufr 10) nebo sestupně (pufr 10, pak pufr 7 a nakonec pufr 4).

***Reagencie***

1. Destilovaná voda.
2. Povrchová voda – donese student.
3. Minerální voda (mořská voda) – donese student.
4. Pitná voda.
5. Pufr 4, 7, 10.

***Pomůcky***

- pH - metr.
- Titrační baňky (4 ks).
- PE stříčka.

***Postup***

1. Vzorek povrchové, pitné, minerální a destilované vody nalijte do titrační baňky tak, aby byla z poloviny naplněna.
2. Množství vzorku vody zvolte tak, aby elektroda pH-metru byla z poloviny ponořena.
3. Poté proveďte kalibraci pH-metru pomocí přiložených kalibračních pufrů a změřené teploty. Proveďte jednobodovou kalibraci pH-metru, tzn., volíte pouze pufr 7.
4. Následně můžete provést vlastní měření, a to tak, že vložíte elektrodu do kádinky se vzorkem a po 2 minutách odečtete hodnotu pH. Pokud měříte více vzorků, je nutné vždy po skončení měření opláchnout elektrodu destilovanou vodou.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU*****Vyjadřování výsledků***

Výsledné hodnoty stanovení pH se uvádí na 2 desetinná místa.

***Závěr***

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

**ČÁST 2: STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU  
VE VZORKU*****Pracovní úkol***

1. Potenciometricky stanovte a vypočítejte koncentraci kyseliny fosforečné v Coca-Cole.
2. Odměrnou neutralizační analýzou stanovte a vypočítejte koncentraci kyseliny fosforečné ve vzorku.
3. Zakreslete titrační křivku kyseliny fosforečné.

***Princip***

Kyselina fosforečná je trojsytná kyselina a přísluší jí tedy tři disociační konstanty:

$$K_{a,1} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{H}_3\text{PO}_4]} = 7,5 \cdot 10^{-3}, pK_{a,1} = 2,12$$

$$K_{a,2} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 6,2 \cdot 10^{-8}, pK_{a,2} = 7,21$$

$$K_{a,3} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]} = 4,8 \cdot 10^{-13}, pK_{a,3} = 12,32$$

Jak vyplývá z výrazu pro disociační konstantu a z obrázku, je složení roztoku kyseliny fosforečné závislé na hodnotě pH. Experimentální hodnoty disociační konstanty kyseliny fosforečné se odečte z titrační křivky jako hodnoty pH v bodech, kde jsou poměry koncentrací konjugované kyseliny a zásady právě roven jedné, tedy:

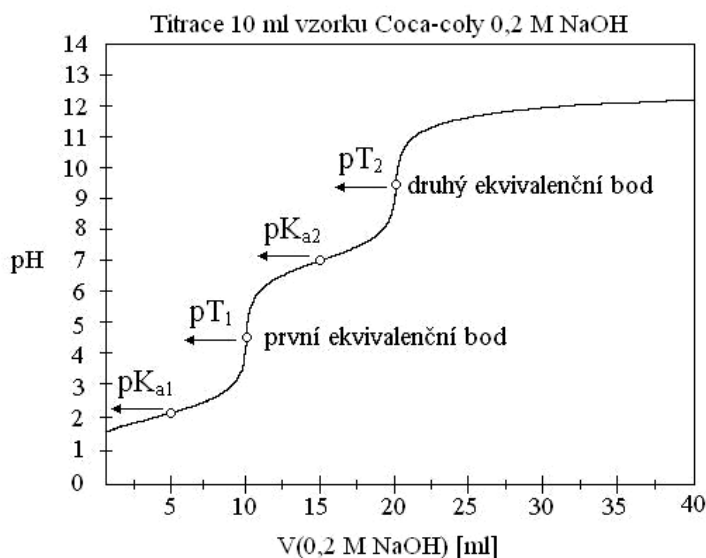
**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU**

$$[\text{H}_3\text{PO}_4] / [\text{H}_2\text{PO}_4^-] = 1,$$

$$[\text{H}_2\text{PO}_4^-] / [\text{HPO}_4^{2-}] = 1$$

$$[\text{HPO}_4^{2-}] / [\text{PO}_4^{3-}] = 1.$$

Nápoj typu „Cola“ obsahuje kyselinu fosforečnou (Coca-Cola), případně citronovou (Pepsi-Cola), jejichž koncentraci lze stanovit titrací roztokem NaOH. Tmavé zbarvení nápoje znemožňuje použití barevných indikátorů, a proto je nutno stanovit body ekvivalence potenciometricky. Potenciometrie je nejčastější fyzikální metodou, kde se bod ekvivalence vyhodnocuje ze závislosti napětí mezi dvěma elektrodami ponořenými v titrovaném roztoku na objemu přidávaného činidla.



**Obrázek 1:** Titrací křivka kyseliny fosforečné

Při potenciometrické titraci použijete skleněnou elektrodu jako indikační neboli měrnou a kombinovanou elektrodu jako referenční neboli srovnávací. Budete měřit závislost pH titrovaného roztoku na množství přidaného titračního činidla, 0,2 M odměrného roztoku NaOH. Měřené hodnoty budete zapisovat do tabulky a po jejich vynesení na milimetrový papír získáte titrační křivku kyseliny fosforečné. Vyhodnocením této křivky určíte ekvivalenční body, což je pH v bodě ekvivalence. Při vyhodnocení využijeme skutečnosti, že daná kyselina je vícesytná, takže jako spotřebu k výpočtu bereme rozdíl mezi prvním a druhým bodem ekvivalence. Je-li spotřeba do prvního bodu ekvivalence menší než mezi prvním a druhým bodem, je kyselina už částečně zneutralizována.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU**

Kyseliny fosforečnou lze stanovit i alkalimetricky. Při alkalimetrickém stanovení je možné rozlišit disociaci pouze do prvního a druhého stupně; třetí stupeň disociace již nelze rozlišit, neboť  $\text{HPO}_4^{2-}$  je již příliš slabá kyselina. Pro zjištění ekvivalenčního bodu lze použít acidobazické indikátory. Pro titraci do 1. stupně methylová oranž a pro titraci do 2. stupně fenolftalein.

Při titraci původního vzorku by rušivě působil oxid uhličitý, který se ve vodě rozpouští za vzniku kyseliny uhličitě  $\text{H}_2\text{CO}_3$  a je ho proto nutné před titrací odstranit vyvařením.

**Reagencie (činnidla)**

1. *Hydroxid sodný*, odměrný roztok,  $c(\text{NaOH}) = 0,2 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽÍRAVINA!!!**  
K asi 200 ml vody se pomalu za stálého míchání přidá vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete výpočet uvést i v laboratorním deníku) hydroxidu sodného. Po ochlazení se odměrná baňka doplní na objem 500 ml.
2. *Fenolftalein*, indikátorový roztok (0,5 %),  
0,5 g fenolftaleinu se rozpustí v 50 ml ethanolu (96 %), zředí se 50 ml destilované vody a dobře se promíchá. K roztoku se po kapkách přidává roztok NaOH o koncentraci 0,01 mol/l až do prvního postřehnutelného růžového zbarvení. Indikátor se uchovává v láhvi z hnědého skla.
3. *Methylová oranž*, indikátorový roztok (0,05 %),  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku) sodné soli methylové oranže se rozpustí v 100 ml horké destilované vody a po vychladnutí se zfiltruje.
4. Nápoj Coca-Cola (Pepsi-Cola) – **student donese**,
5. 1 M kyselina fosforečná - vzorek
6. Pufry 4, 7, 10.

**Pomůcky**

- Odměrná baňka na 500 ml (1 ks).
- Byreta (1 ks).
- Pipeta 10 ml (1 ks).
- Kádinka 250 ml (1 ks), 600 ml (1 ks).
- Titrační baňky (2 ks).
- pH-metr.
- Upevňovací šroub.
- Stojan (2 ks).
- Tyčinka (1 ks).
- Vaříč.

**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU****Postup****Úkol č. 1: Potenciometrické stanovení koncentrace kyseliny fosforečné v Coca-Cole**

1. Do 600 ml kádinky nalijte cca 200 ml Coca-Coly a zahřejte na vařiči nebo kahanu, aby došlo k vytěkání veškerého oxidu uhličitého. Vzorek nevařte, protože odpařením vody by se změnil objem. Ochlaďte.
2. Zkontrolujte nastavení pH-metru pomocí kalibračních roztoků, případně jej nakalibrujte (nejprve pH 7, poté 4).
3. Odpipetujte 50 ml vychladlého vzorku do kádinky.
4. Změřte pH roztoku a hodnotu zapište. Tato hodnota odpovídá nulové spotřebě odměrného roztoku (0,2-M NaOH).
5. Roztok Coca-Coly titrujte roztokem hydroxidu sodného 0,2 mol/l při přidavcích po 1 ml a vždy promíchejte. Po každém jednotlivém přidavku titračního činidla měřte pH roztoku. Titrujte do pH 12 nebo do spotřeby 25 ml. Údaje o pH roztoku Coca-Coly a objemu titračního činidla v jednotlivých přidavcích vynášejte do grafu závislosti (titrační křivky).
6. Zopakujte titraci s tím, že v okolí bodů ekvivalence (strmější změna pH) zmenšete přidávek na 0,5 ml.
7. Na základě rozdílu hodnot spotřeby NaOH v 1. a 2. bodě ekvivalence vypočítejte koncentraci kyseliny fosforečné v Coca-Cole.

**Úkol č. 2: Alkalimetrické stanovení kyseliny fosforečné ve vzorku**

1. Přes nálevku přelijte odpovídající množství NaOH do byrety.
2. Ze vzorku  $H_3PO_4$  (1-M  $H_3PO_4$ ) odpipetujte 10 ml do 100 ml odměrné baňky a destilovanou vodou doplňte po rysku.
3. Do titrační baňky odpipetujte 5 ml tohoto vzorku.
4. Přidejte 2 kapky methylové oranže.
5. Růžový roztok titrujte za stálého míchání odměrným roztokem 0,2-M NaOH (POZOR ŽIRAVINA!!!) do prvního trvalého žlutého zbarvení.
6. Odečtěte spotřebu odměrného roztoku (0,2-M NaOH) v 1. bodě ekvivalence.
7. Do další titrační baňky odpipetujte opět 5 ml zředěného vzorku.
8. Přidejte 3 kapky indikátoru fenolftaleinu a dále roztok titrujte roztokem 0,2-M NaOH (POZOR ŽIRAVINA!!!) do růžového zbarvení.
9. Odečtěte spotřebu odměrného roztoku (0,2-M NaOH) v 2. bodě ekvivalence.
10. Obě titraci opakujte ještě 2x a na základě rozdílu hodnot spotřeby NaOH v 1. a 2. bodě ekvivalence vypočítejte koncentraci kyseliny fosforečné v Coca-Cole.

**Tabulka** – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace kyseliny fosforečné v Coca-Cole potenciometricky.



**POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ pH VE VODÁCH****STANOVENÍ OBSAHU KYSELINY FOSFOREČNÉ V COCA-COLE  
POTENCIOMETRICKY A ODMĚRNOU NEUTRALIZAČNÍ ANALÝZOU VE  
VZORKU**

**Tabulka** – Naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení koncentrace kyseliny fosforečné ve vzorku alkalimetricky.

**Výpočty**

1. Výpočet množství hydroxidu sodného použité pro přípravu 0,2-M NaOH na objem 500 ml.
2. Výpočet množství methylové oranže použité pro přípravu 0,05 % roztoku methylové oranže na objem 100 ml.
3. Výpočet koncentrace kyseliny fosforečné v Coca-Cole a ve vzorku stanovené potenciometricky a alkalimetricky

$$c(\text{H}_3\text{PO}_4) \cdot V(\text{H}_3\text{PO}_4) = c(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

Kde

$c(\text{H}_3\text{PO}_4)$  je přesná látková koncentrace kyseliny fosforečné v mol/l;

$V(\text{H}_3\text{PO}_4)$  je objem vzorku kyseliny fosforečné odpipetovaný k analýze v ml;

$c(\text{NaOH})$  je látková koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol/l;

$V(\text{NaOH})$  je rozdíl spotřeby NaOH v 1. a 2. bodě ekvivalence v ml;

**Závěr:**

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

**DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník ověřený podpisem vyučujícího.

**STANOVENÍ SÍRANŮ ODMĚRNOU METODOU S  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$** **Pracovní úkol**

1. Odměrnou metodou stanovte a vypočítejte obsah rozpuštěných síranů ve vzorku pitné, povrchové a minerální vody nebo mořské vodě.
2. Výsledné hodnoty povrchové a pitné vody porovnejte s Nařízením vlády č. 61/2003 Sb., příloha č. 3 (NV je vyvěšeno na nástěnce v laboratoři).
3. V závěru rovněž proved'te diskusi (komentář) k naměřeným hodnotám tří rozdílných vzorků vody.
4. V protokolu musí být veškeré výpočty pro přípravu jednotlivých roztoků a to i v případě, pokud jsou roztoky již připraveny.

**Princip**

**Odměrná analýza (Volumetrie)** se používá ke kvantitativnímu (obsah, množství) určování látek ve vzorku. Podstatou je chemická reakce mezi **stanovovanou látkou** a **odměrným** (titračním) **čínidlem**. K roztoku zkoumané látky přidáváme z byrety roztok odměrného čínidla (titračního čínidla) o přesné známé koncentraci (**titr roztoku**) tak dlouho, dokud množství přidávaného titračního čínidla je chemicky ekvivalentní látkovému množství stanovované látky (reakce proběhla kvantitativně), neboli dokud nebylo dosaženo tzv. **bodu ekvivalence**.

Konec reakce resp. bod ekvivalence poznáme (identifikujeme) pomocí:

- **použití indikátoru** – barevná změna indikátoru přidaného do titrovaného roztoku nebo změna barvy roztoku způsobená přebytkem titračního čínidla (subjektivní vizuální metody),
- **použití přístrojů** (objektivní přístrojové metody), např. potenciometrie (strmá změna pH), konduktometrie (změna konduktivity) apod.

Postup přidávání titračního čínidla o známé koncentraci se nazývá **titrace**. Hledané množství látky se pak vypočte na základě zjištěného objemu spotřebovaného titračního čínidla.

- **Přímé titrace**, které jsou založené na bezprostřední reakci účinné látky v odměrném roztoku se stanovovanou složkou v roztoku
- **Zpětné titrace**, při kterých se využívá pomocná reakce. Tato titrace je charakterizována vyšší chybou, protože počet měření je vyšší.

Při stanovování látek ve vzorku odměrnou analýzou je nutné znát přesnou látkovou koncentraci roztoku odměrného (titračního) čínidla. Vzhledem k tomu, že většina odměrných roztoků se připravuje ne zcela čistých chemikálií, musíme ke stanovení jejich přesné koncentrace použít tzv. **základních (standardních) látek** (jsou stále na vzduchu, musí být velmi čisté a musí mít přesně definované složení a při přípravě roztoků musí být stabilní).

Přesná koncentrace odměrného roztoku se zjistí titrací roztoku, v kterém je známé množství základní látky, roztokem titračního čínidla přibližné koncentraci. Ze spotřeby odměrného čínidla o přibližné koncentraci, se vypočte přesná koncentrace titračního čínidla.

## STANOVENÍ SÍRANŮ ODMĚRNOU METODOU S $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

Síranové ionty reagují s ionty olovnatými za vzniku málo rozpustné sraženiny síranu olovnatého, jehož rozpustnost je snížena přidávkem ethanolu nebo acetonu. Konec titrace, tj. nadbytek olovnatých iontů, je indikován barevnou změnou indikátoru dithiozonu, z modré do fialovo-růžové barvy.

### Reagencie (činnidla)

Pokud je připraveno dostatečné množství chemických sloučenin používaných ke stanovení, nemusíte je připravovat, ale v protokolu bude vždy jejich výpočet (pokud tedy není u chemikálie uvedeno jinak).

1. *Kyselina dusičná*, koncentrovaná,  $\rho(\text{HNO}_3) = 1,42 \text{ g/ml}$ , **POZOR ŽIRAVINA!!!**
2. *Dusičnan olovnatý*, odměrný roztok,  $c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] = 0,01 \text{ mol/l}$ , **POZOR TOXICKÁ LÁTKA!!!**  
Ve vodě okyselené 4 ml kyseliny dusičné (činnidlo 1) se rozpustí 3,312 g  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  sušeného při teplotě 180 °C po dobu 2 h a vodou se doplní v odměrné baňce na 1000 ml po rysku.
3. *Dithizon*, *kyselina benzoová*, indikátorová směs  
Dithizon se smísí s kyselinou benzoovou v objemovém poměru 1:50 a směs se rozetře na jemný prášek.
4. Čistý *ethanol*, 96 % nebo 97 %
5. *Kyselina chlorovodíková*, zředěná, k regeneraci katexu,  $\rho(\text{HCl}) = 1,42 \text{ g/ml}$ , **POZOR ŽIRAVINA!!!**  
Opatrně se smísí 14 ml  $\pm$  1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové,  $\rho(\text{HCl}) = 1,42 \text{ g/ml}$  s vodou a doplní se v odměrné baňce vodou na 100 ml.
6. *Dusičnan stříbrný*, roztok  $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$ , **POZOR TOXICKÁ LÁTKA!!!**  
Vypočtené množství (výpočet uvést v protokolu, pokud roztok připravujete, výpočet uvést i v laboratorním deníku)  $\text{AgNO}_3$ , se v odměrné baňce o objemu 1 l rozpustí v destilované vodě a doplní se po rysku.
7. *Kyselina dusičná*, zředěná,  $c(\text{HNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$ , **POZOR ŽIRAVINA!!!**  
V odměrné baňce o objemu 500 ml se asi v 200 ml destilované vodě rozpustí 4,85 ml koncentrované kyseliny dusičné a doplní se destilovanou vodou po rysku.
8. *Síran sodný*, zásobní roztok standardu,  $c(\text{SO}_4^{2-}) = 0,01 \text{ mol/l}$ ,  
V odměrné baňce na 1000 ml se rozpustí ve vodě 1,4205 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  předem vysušeného při teplotě 200 °C a doplní se vodou po rysku.
9. Povrchová voda – donese student
10. Pitná voda, destilovaná voda
11. Minerální (mořská) voda – donese student

**STANOVENÍ SÍRÁNŮ ODMĚRNOU METODOU S  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$** ***Pomůcky***

- Titrační baňky (5 ks);
- Pipeta 1 ml (3 ks), 5 ml (1 ks), 10 ml (1 ks);
- Tyčinky (4 ks);
- Lžička (1 ks);
- Odměrná baňka 100 ml (1 ks), 500 ml (1 ks), 1000 ml (1 ks);
- Byreta (tmavá);
- Kolona naplněná katexem;
- Kádinka (5 ks);
- Stojan na kolonu;
- Stojany pro filtraci;
- Filtrační papír;
- Nálevky (4 ks).

***Postup*****Úkol č. 1: Regenerace katexu**

Regenerace katexu se provádí vždy před samotným měřením vlastních vzorků a po ukončení práce na koloně.

1. Kolonou s katexem nechte protéct asi 50 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (činidlo 5).
2. Kolonu následně promývejte destilovanou vodou, tak dlouho, dokud promývací voda bude obsahovat chloridy a průběžně budete provádět zkoušku na chloridy.
3. Zkoušku na chloridy provedete tak, že k 5 ml promývací vody přidáte 3 kapky zředěné kyseliny dusičné  $c(\text{HNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$  (činidlo 7) a 1 ml roztoku dusičnanu stříbrného  $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$  (činidlo 6).
4. Pokud se roztok promývací vody zakalí, obsahuje promývací voda stále chloridy a pokračujete v promývání. Jestliže roztok promývací vody zůstane čirý, promývací voda již neobsahuje chloridy a kolonu máte připravenou k následnému měření.

**Úkol č. 2: Stanovení přesné koncentrace odměrného roztoku dusičnanu olovnatého**

1. Do titrační baňky odpipetujte 10 ml pracovního roztoku standardu  $c(\text{SO}_4^{2-}) = 0,01 \text{ mol/l}$  (činidlo 9).
2. Ke zkoušenému objemu přidejte 20 ml čistého ethanolu (činidlo 4) a malé množství indikátorové směsi (činidlo 3).
3. Titrujte odměrným roztokem dusičnanu olovnatého  $c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] = 0,01 \text{ mol/l}$  (činidlo 2) do barevné změny indikátoru (z modrého zbarvení do fialovo-růžového zbarvení).
4. Spotřebu dusičnanu olovnatého zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočítejte přesnou koncentraci odměrného roztoku dusičnanu olovnatého. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

## STANOVENÍ SÍRANŮ ODMĚRNOU METODOU S $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

### Úkol č. 3: Stanovení síranů v různých vzorcích vody

1. Vzorky destilované, pitné, povrchové a minerální (mořské) přefiltrujte přes přiložené filtry.
2. Asi 80 ml přefiltrovaného vzorku povrchové, pitné a minerální vody nebo mořské vody (jednotlivé vzorky vod stanovujte postupně, nikdy ne současně) nechte prokapat kolonou rychlostí 0,1 ml/s.
3. Prvních 50 ml až 70 ml eluátu vylejte. Zbytek eluátu jímejte do suché nádoby, ze které odpipetujte 10 ml zkoušeného objemu do titrační baňky.
4. K 10 ml zkoušeného objemu přidejte 20 ml čistého etanolu (činidlo 4) a malé množství indikátorové směsi (činidlo 3).
5. Titrujte odměrným roztokem dusičnanu olovnatého  $c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] = 0,01 \text{ mol/l}$  (činidlo 2) do barevné změny indikátoru (z modrého zbarvení do růžového zbarvení).
6. Spotřebu dusičnanu olovnatého zapište do vámi vytvořené tabulky v protokolu i v laboratorním deníku a vypočtete látkovou a hmotnostní koncentraci síranů. Výpočet uveďte v laboratorním deníku i v protokolu.

**Tabulka** – Všechny naměřené a vypočtené hodnoty při stanovení síranů.

#### Výpočty

1. Výpočet množství dusičnanu stříbrného použité pro přípravu 0,1-M  $\text{AgNO}_3$  na objem 1000 ml.
2. Výpočet přesné koncentrace odměrného roztoku dusičnanu olovnatého:

$$c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] = \frac{c(\text{NaSO}_4) \cdot V_1 \cdot f_t}{V_2}$$

kde:

$c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$  je přesná koncentrace  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  v mol/l;

$c(\text{NaSO}_4)$  je látková koncentrace roztoku standardu  $\text{NaSO}_4$  v mol/l;

$V_1$  je objem roztoku standardu  $\text{NaSO}_4$ , vzatý k titraci v ml;

$V_2$  je spotřeba odměrného roztoku  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  v ml;

$f_t$  je titrační faktor, v tomto případě roven 1.

3. Výpočet látkové koncentrace síranů:

$$c(\text{SO}_4^{2-}) = \frac{[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] \cdot (V_2 - V_{sl}) \cdot f_t \cdot 1000}{V_3}$$

kde:

$c(\text{SO}_4^{2-})$  je látková koncentrace síranů v mmol/l;

$c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$  je přesná koncentrace  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  v mol/l;

$V_3$  je zkoušený objem vzorku v ml;

$V_2$  je objem odměrného roztoku  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ , spotřebovaný do konce titrace v ml;

**STANOVENÍ SÍRANŮ ODMĚRNOU METODOU S  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$** 

$V_{\text{sl}}$  je objem odměrného roztoku  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ , spotřebovaný při titraci slepého vzorku v ml;

$f_t$  je titrační faktor, v tomto případě roven 1.

**4. Hmotnostní koncentrace síranů ve vzorku vody:**

$$\rho(\text{SO}_4^{2-}) = c(\text{SO}_4^{2-}) \cdot M(\text{SO}_4^{2-})$$

kde:

$\rho(\text{SO}_4^{2-})$  je hmotnostní koncentrace síranů ve vzorku vody v mg/l;

$c(\text{SO}_4^{2-})$  je látková koncentrace síranů ve vzorku vody v mmol/l;

$M(\text{SO}_4^{2-})$  je molární hmotnost síranů g/mol.

***Vyjadřování výsledků***

Výsledky stanovení síranů se uvádí v mg/l na tři platné číslice.

***Závěr***

Odpověď na odstavec pracovní úkol a komentář k naměřeným hodnotám.

**DŮLEŽITÉ**

1. Používejte jen činidla, sklo a další pomůcky určené pro danou úlohu.
2. Neberte nic z jiných stolů, pokud nebudete mít svolení od vyučujícího.
3. O doplnění chybějících pomůcek žádejte vyučujícího.
4. Po ukončení úlohy umyjte veškeré sklo, včetně pipet a opláchněte v destilované vodě.
5. Pracovní úkol, postup a důležité výpočty (u kterých je uvedeno, že mají být v laboratorním deníku) budou uvedeny v laboratorním deníku.
6. Opustit své pracoviště můžete, až budete mít:
  - zkontrolováno pracoviště, zda je uvedeno do původního stavu,
  - zkontrolován laboratorní deník ověřený podpisem vyučujícího.