UNIVERZITA PAVLA JOZEFA ŠAFÁRIKA V KOŠICIACH

POKROČILÉ PRAKTIKUM Z ANALYTICKEJ CHÉMIE

Rastislav Serbin, Jana Šandrejová

Prírodovedecká fakulta

Košice 2017

PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA UPJŠ
ÚSTAV CHEMICKÝCH VIED
KATEDRA ANALYTICKEJ CHÉMIE

Pokročilé praktikum z analytickej chémie

Rastislav Serbin, Jana Šandrejová

Košice 2017

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v
Košiciach, Prírodovedecká fakulta

Pokročilé praktikum z analytickej chémie
Vysokoškolský učebný text

Autori:
RNDr. Rastislav Serbin, PhD.
RNDr. Jana Šandrejová, PhD.
Prírodovedecká fakulta Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Recenzenti:
RNDr. Silvia Demčáková, PhD.
Fakulta materiálov, metalurgie a recyklácie TU v Košiciach
RNDr. Zdenka Bedlovičová, PhD.
Ústav farmaceutickej chémie UVLF v Košiciach

© 2017 Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta

Všetky práva vyhradené. Toto dielo ani žiadnu jeho časť nemožno reprodukovať, ukladať do informačných systémov alebo inak rozširovať bez súhlasu majiteľov práv.
Za odbornú stránku tejto publikáciu zodpovedajú autori.

ISBN 978-80-8152-573-5

Obsah

1 Elektrochemické analytické metódy 5

1.1 Konduktometrické stanovenie slabej a silnej kyseliny vedľa seba 5

1.2 Potenciometrické titrácie - stanovenie neznámej vzorky kyseliny s potenciometrickou indikáciou ekvivalentného bodu 9

1.3 Využitie potenciometrie na indikáciu bodu ekvivalencie pri zrážacích titráciách, stanovenie Cl^-, Br^-, I^- vedľa seba argentometricky 14

2 Optické analytické metódy 16

2.1 Stanovenie metanolu vo vodných roztokoch ponorným refraktometrom 16

2.2 Absorpčná spektrálna analýza - spektrofotometrické stanovenie Cu 22

2.3 Stanovenie manganistanu a chromanu draselného v zmesi 24

2.4 Stanovenie zloženia iónového asociátu kyseliny pikrovej s Astrafloxínom 26

2.5 Stanovenie spektroskopických a protolytických vlastností farbiva Quinaldine Red. 30

2.6 Stanovenie kovov metódou atómovej absorpčnej spektrometrie 33

2.7 Infračervená spektrometria. Kvalitatívna analýza neznámych vzoriek farbív 36

3 Plynová Chromatografia 46

3.1 Kvalitatívna analýza organických kontaminantov vo vode metódou kapilárnej plynovej chromatografie 47

4 Prietokové systémy (Šandrejová) 50

4.1 Sekvenčná injekčná analýza. Spektrofotometrické stanovenie kadmia metódou SIA (Šandrejová) 50

Úvod

V rámci obsahovej a metodologickej inovácie v predmete "Pokročilé praktikum z analytickej chémie" sa do praktických cvičení zaviedli úlohy so stručnou teóriou k jednotlivým témam. Tieto skriptá nenahrádzajú základnú študijnú literatúru z analytickej chémie.

Predmetom praktických cvičení sú metódy inštrumentálnej (prístrojovej) analýzy, t. j. elektrochemické, optické a separačné metódy.

Študenti sa nepochybne stanú účastníkmi vzrušujúcich objavov v rôznych oblastiach vedy, výskumu, ako aj v chémii. Ak sa tieto návody stanú užitočnou pomôckou pri štúdiu a aspoň malou mierou prispejú k záujmu o chémiu, alebo ktorúkoľvek jej časť, potom splnia svoj cieľ.

Učebný text je určený poslucháčom 3. ročníka bakalárskeho štúdia a 1. ročníka magisterského štúdia odboru Analytická chémia a vznikol vďaka významnej podpore projektu KEGA - 002UPJŠ-4/2015 „Inovácia obsahu, foriem a metód praktických cvičení z anorganickej, organickej a analytickej chémie a biochémie pre zvýšenie uplatniteľnosti absolventov v praxi“.

Autori

1 Elektrochemické analytické metódy

Elektrochemické metódy využívajú vzťah medzi kvalitou resp. kvantitou skúmanej látky a niektorou jej elektrickou a/alebo elektrochemickou veličinou. Podľa dejov, ktoré prebiehajú na elektródach, elektrochemické metódy delíme na tri skupiny:

I. Metódy spojene s elektródovou reakciou:
   1. Pri nulovom faradayickom prúde (potenciometria),
   2. Pri nenulovom faradayickom prúde:
      a) s nestacionárnym elektródovým dejom, pričom ide o závislosť meraných veličín od času (polarografia, amperometrické titrácie s kvapkovou elektródou);
      b) so stacionárnym elektródovým dejom (potenciometria pri konštantnom prúde, amperometrická titrácia s dvoma indikačnými elektródami);
      c) s použitím striedavých zložiek napätia, alebo prúdu (derivačná pulzová polarografia).

II. Metódy, pri ktorých neprebieha elektrochemická reakcia a nevzniká elektrická dvojvrstva a difúzny transport je zanedbateľný (konduktometria, dielektrimetria).

III. Metódy s elektrolýzou v celom objeme roztoku. Sú založené na Faradayovom zákone. Patrí sem potenciostatická coulometria, elektrogravimetria, coulometrické titrácie.

1.1 Konduktometrické stanovenie slabej a silnej kyseliny vedľa seba

Princíp

Princíp konduktometrie ako analytickej metódy spočíva v sledovaní zmeny vodivosti elektrolytu počas jeho titrácie. U vodičov druhej triedy vodivosť elektrolytu je podmienená prítomnosťou elektricky nabitých iónov. Ak prebieha chemická reakcia v elektrolyte tak, aby počas nej nastávala merateľná zmena vodivosti elektrolytu od množstva titračného činidla známej koncentrácie, môžeme objektívne určiť bod ekvivalencie. Teda spotreba odmerného činidla nám umožňuje stanoviť titrovaný ión v roztoku.

Konduktometrické titrácie sú založené na meraní zmien vodivosti počas titrácie.

Pri konduktometrickej titrácii prebieha reakcia:

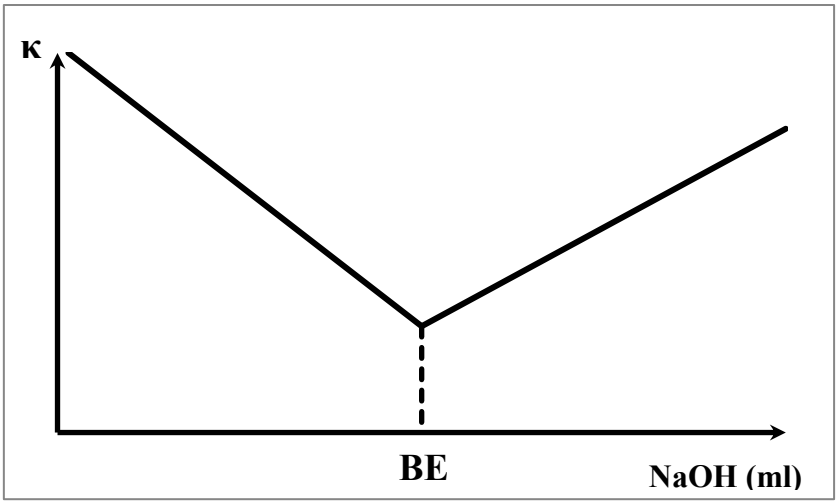
$$A^+ + B^- + C^+ + D^- = AD + B^- + C^+$$

kde AD je nerozpustná, pripadne málo disociovaná látka. Počas titrácie sa ióny A^+ nahradzujú iónmi C^+. Podľa toho, či pohyblivosť iónov C^+ je väčšia alebo menšia ako pohyblivosť iónov A^+, vodivosť pri titrácii stúpa alebo klesá.

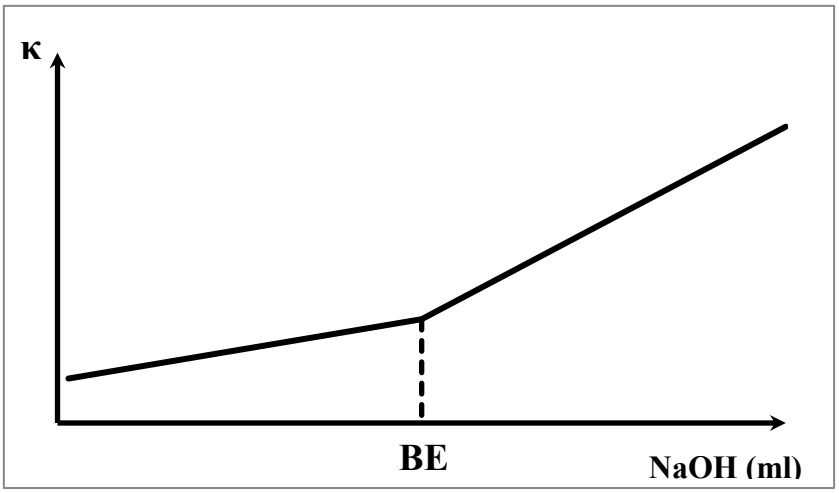
Pri konduktometrických titráciách kyselín so zásadami môžu nastať tri prípady:

a) Ak pohyblivosť A^+ je väčšia ako pohyblivosť C^+, bude vodivosť roztoku AB po pridaní roztoku CD klesať. Tento prípad nastáva pri neutralizácii silných kyselín a zásad. Keďže ióny H^+ a OH^-, ktorých pohyblivosť je mnohonásobne vyššia než ostatných iónov, zlučujú sa na prakticky nedisociovanú vodu. Klesanie vodivosti v roztoku pokračuje potiaľ, kým sa dosiahne ekvivalentný bod. Prebytok titračného činidla sa prejaví opäť vzrastom vodivosti, pretože sa do roztoku dostanú voľné ióny OH^-.
b) Ak je pohyblivosť A^+ rovná pohyblivosti C^+, vodivosť roztoku sa pridaním titračného činidla nemení. Tento prípad môže nastať pri zrážaní roztoku $AgNO_3$ roztokom $BaCl_2$. Takéto reakcie nemožno použiť pre konduktometrickú titráciu.
c) Ak pohyblivosť A^+ je menšia ako pohyblivosť C^+, vodivosť stúpa zo začiatku pomaly, až v ekvivalentom bode začne stúpať prudko. Tento prípad nastáva vtedy, ak sa neutralizuje roztok slabej kyseliny, ktorej disociačný stupeň je prakticky zanedbateľný. Pri neutralizácii vzniká dobre disociovaná soľ, a tým stúpa i vodivosť roztoku.

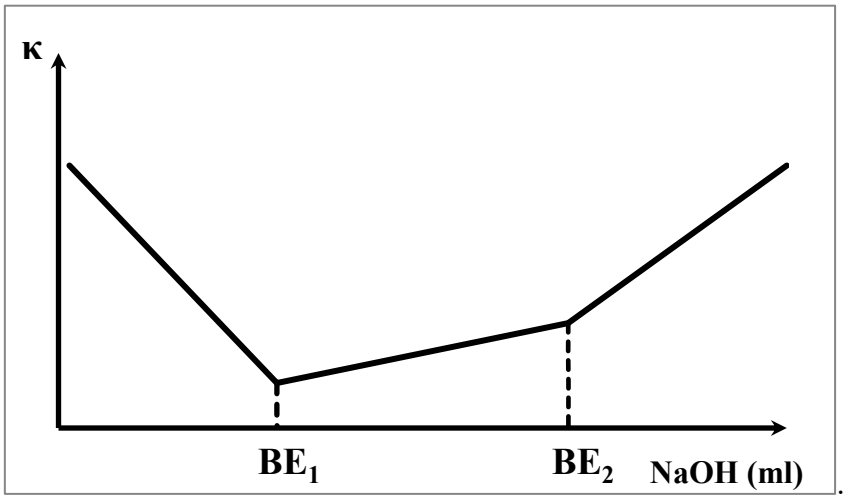
Na obrázku 1 je znázornená konduktometrická titračná krivka alkalimetrickej titrácie silnej kyseliny silnou zásadou, na obrázku 2 je znázornená konduktometrická titračná krivka alkalimetrickej titrácie slabej kyseliny silnou zásadou a na obrázku 3 je znázornená konduktometrická titračná krivka alkalimetrickej titrácie zmesi silnej a slabej kyseliny so silnou zásadou.



Obr. 1. Titračná krivka silnej kyseliny silnou zásadou



Obr. 2. Titračná krivka slabej kyseliny silnou zásadou



Obr.3 Titračná krivka zmesi silnej a slabej kyseliny silnou zásadou

Konduktometrická titrácia sa používa aj na stanovenie zmesi kyselín rôznej sily, napr. na stanovenie množstva kyseliny chlorovodíkovej vedľa kyseliny octovej.

Postup

Konduktometrické titrácie uskutočňujeme v kadičke, do ktorej je ponorená zvonková elektróda s platinovými prstencami pokrytými platinovou čerňou. Objemová zmena pri titrácii nemá byť väčšia ako 5%. Titračný roztok pridávame z byrety a vodivosť roztoku odčítavame na stupnici pristroja. Pri meraní stačí zmerať vodivosť roztoku po 4 – 5 pridaniach titračného činidla pred ekvivalentným bodom a po 4 – 5 pridaniach za ekvivalentným bodom. Po každom pridaní roztok dôkladne premiešame (elektromagnetickým miešadlom) a po vypnutí miešania zmeriame vodivosť roztoku. Aby objemové zmeny boli čo najmenšie, použijeme titračné činidlo aspoň 10 krát koncentrovanejšie. Priebeh titrácie znázornime graficky ako závislosť vodivosti od ml titračného činidla. Z priesečníka priamok určíme ekvivalentný bod.

Konduktometrické meranie sa môže realizovať aj bez galvanického styku (oscilometria) elektrolytu s elektródami, a to za použitia vysokofrekvenčného prúdu.

a) <u>Štandardizácia 0,1 M NaOH na kyselinu šťaveľovú</u>

Do kadičky nalejeme 10 ml 0,05 M kyseliny šťaveľovej. Pridáme toľko destilovanej vody, aby minimálne dva platinové prstence zvonkovej vodivostnej elektródy boli ponorené v roztoku. Titračné činidlo 0,1 M NaOH pridávame z byrety po 0,5 až 1 ml. Po každom pridaní roztok premiešame (elektromagnetické miešadlo) a zmeriame vodivosť. Namerané hodnoty zaznamenávame do tabuliek a vynesieme do grafu ako závislosť κ = f(ml 0,1 M NaOH). Zo získaných priesečníkov priamok určíme spotrebu ml titračného činidla do prvého a druhého stupňa. Spotreby pre jednotlivé stupne by mali byť rovnaké, no líšia sa tým viac, čím viac uhličitanu sodného obsahuje roztok hydroxidu sodného. Oxid uhličitý, uvoľnený pri titrácii, sa neutralizuje až pri titrácii do druhého stupňa. Preto spotreba do druhého stupňa je väčšia. Spotreba titračného činidla do prvého stupňa udáva správnejšiu hodnotu a používame ju na výpočet správnej koncentrácie. Meranie opakujeme tri krát. Za správnu hodnotu berieme aritmetický priemer jednotlivých spotrieb. Z priemernej spotreby titračného činidlá vypočítame jeho presnú koncentráciu.

b) <u>Stanovenie koncentrácie zmesi kyselín</u>

Vzorku kvantitatívne prelejeme do kadičky, do ktorej ponoríme zvonkovú elektródu. Z byrety pridávame po 1 ml 0,1 M NaOH a po premiešaní roztoku odčítavame na prístroji

príslušné hodnoty vodivosti. Namerané hodnoty zaznamenávame do tabuľky a zostrojíme grafickú závislosť vodivosti na spotrebe titračného činidla. Na grafe dostaneme dva zlomy, ktoré odpovedajú dvom ekvivalentným bodom, a síce V_1 (NaOH) spotrebe titračného činidla pre silnú kyselinu a V_2 (NaOH) spotrebe titračného činidla pre slabú kyselinu. Zo spotrieb 0,1 M NaOH pre jednotlivé kyseliny môžeme vypočítať koncentráciu alebo množstvo silnej a slabej kyseliny v mg v neznámej vzorke.

1.2 Potenciometrické titrácie - stanovenie neznámej vzorky kyseliny s potenciometrickou indikáciou ekvivalentného bodu

Princíp

Potenciometria je elektroanalytická metóda, pri ktorej sa sleduje závislosť potenciálu indikačnej elektródy vzťahovanej k referenčnej elektróde v závislosti od zloženia elektrolytu. Potenciometricky môžeme určovať pH, disociačné konštanty, aktivitné koeficienty, atď. Rozlišujeme priame potenciometrické stanovenia, pri ktorých sa priamo z nameraného rovnovážneho potenciálu posudzuje aktivita niektorej súčasti elektrolytu (napr. meranie pH) a nepriame potenciometrické stanovenia (potenciometrické titrácie, t.j. titrácie s potenciometrickou indikáciou), pri ktorých sa zo zmien meraného potenciálu posudzujú zmeny aktivity (koncentrácie) niektorej zložky roztoku.

Elektródy používané v potenciometrii

Pri potenciometrických meraniach musíme mať vždy galvanický článok zložený z dvoch elektród, a to indikačnej a referenčnej elektródy. Indikačné elektródy indikujú zmenu koncentrácie meraného iónu. Referenčné elektródy majú potenciál konštantný a nezávislý od zloženia meraného roztoku.

Reverzibilne elektródy

Pod pojmom reverzibilná elektróda rozumieme v elektrochémii elektródu, na ktorej sa ustaľuje rovnováha príslušného vratného elektródového procesu. Reverzibilné elektródy delíme na:

1. Elektródy prvého druhu. Patria sem elektródy katiónové (kovové, amalgámové), na ktorých sa ustaľuje rovnováha medzi atómami kovu a ich príslušnými katiónmi v roztoku a aniónové, na ktorých sa ustaľuje rovnováha medzi atómami a aniónmi.

2. Elektródy druhého druhu. Sú zložené z troch fáz. Kov je pokrytý vrstvou svojej málo rozpustnej soli a je ponorený do roztoku s aniónmi tejto soli. Vyznačujú sa stálosťou a dobrou reprodukovateľnosťou svojho potenciálu, a preto sa používajú ako referenčné (porovnávacie) elektródy.
3. Elektródy oxidačno-redukčné. Indiferentný kov (Pt, Au, Hg) je ponorený do roztoku dvoch oxidačných foriem tej istej látky. Rovnováhu sprostredkúvajú elektróny.
4. Membránové iónovoselektívne elektródy. Sem patria elektródy, ktorých elektródová reakcia je reakciou iónovovýmennou.

Sklená elektróda

Je najuniverzálnejšou a najvhodnejšou elektródou na meranie pH takmer vo všetkých prostrediach. Výhodnejšie sú elektródy vysoko ohmové ako elektródy nízko ohmové, pretože majú malú membránu a sú mechanicky odolnejšie ako elektródy nízko ohmové.

Sklená elektróda je iónovovýmenná membránová elektróda s veľkou selektivitou k vodíkovým iónom v širokom rozmedzí pH. Vznik potenciálu na elektróde je výsledkom difúznych a výmenných dejov, a nie dejov oxidačno-redukčných, a preto na jej potenciál nemajú vplyv žiadne oxidačno-redukčné látky. Sklená elektróda pozostáva zo sklenej banky s veľmi tenkou stenou (0,1-0,01 mm) zo špeciálneho Corningovho skla (sodné sklo 22% Na_2O, 6% CaO a 72% SiO_2) a je naplnená roztokom o určitej hodnote pH.

Zásady pri používaní sklenej elektródy:

1. Aby bola nová sklená elektróda pripravená na meranie, musíme z nej ponorením do CCl_4 odstrániť ochrannú vrstvičku parafínu.
2. Sklená elektróda sa môže používať na meranie až po vytvorení aktívnej gélovitej vrstvy kyseliny kremičitej na povrchu membrány. Preto musí byť vonkajšia strana membrány v ustavičnom styku s destilovanou vodou. Pri nízko ohmovej elektróde možno začať merať po máčaní elektródy v destilovanej vode už po 48 hodinách, avšak pri vysoko ohmovej elektróde až po 7 – 14 dňoch.
3. Aktivovaná elektróda nesmie nikdy vyschnúť, ale musí sa uchovávať v destilovanej vode. Ak používame elektródu v zásaditom prostredí, uchovávame ju v prostredí 0,01 M HCl.
4. Po každom meraní musíme elektródu dôkladne opláchnuť destilovanou vodou.

5. Pri meraní ponárame elektródu do roztoku tak, aby bola ponorená len membrána a krk i driek elektródy ostali suché, aby sme tak zabránili tzv. plazivým prúdom [v prípade tzv. kombinovaných sklených elektród (referenčná elektróda je súčasťou konštrukcie sklenej elektródy) ju ponárame tak, aby bola do roztoku ponorená aj referenčná elektróda].
6. Na meranie pH silne alkalických prostredí (nad pH 10) sa používajú špeciálne elektródy z lítneho skla. Elektróda sa nesmie použiť v roztoku fluoridov, najmä pod pH 7.

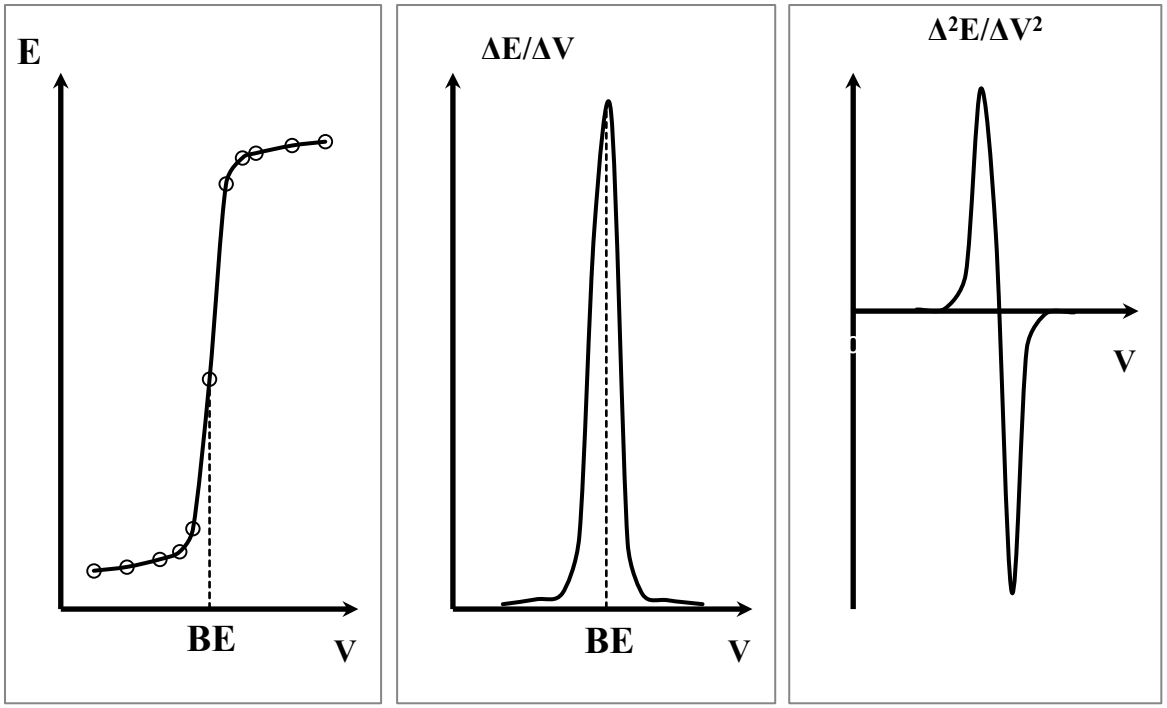
Potenciometrické titrácie

Pri potenciometrických titráciách sledujeme závislosť potenciálu vhodnej indikačnej elektródy vzťahovanej k referenčnej elektróde od objemu pridaného titračného činidla. Priebeh titračnej krivky pozostáva z dvoch častí, z ktorých obidve predstavujú logaritmickú funkciu. O priebehu krivky rozhodujú vlastnosti reagujúcich látok vznikajúcich produktov a použité rozpúšťadlo.

Vyhodnotenie potenciometrických titrácii

Potenciometrická titračná krivka vyjadruje závislosť potenciálu indikačnej elektródy od stupňa titrácie, resp. objemu pridaného odmerného roztoku. Krivka sleduje logaritmickú závislosť potenciálu od koncentrácie v zmysle Nernstovej – Petersovej rovnice. V lineárnych súradniciach ma bilogaritmický tvar (krivka tvaru S). Pred dosiahnutím bodu ekvivalencie potenciál sleduje pokles koncentrácie stanovovanej latky a za bodom ekvivalencie narastanie koncentrácie účinnej zložky odmerného roztoku. Zmena potenciálu indikačnej elektródy, zodpovedajúca objemovej jednotke pridávaného odmerného roztoku, je najväčšia v oblasti bodu ekvivalencie. Bod chemickej ekvivalencie na titračnej krivke predstavuje inflexný bod krivky, čo sa využíva pri prístrojovej aplikácii (derivácia), ako i pri použití faktorovej analýzy na separáciu dvoch dejov.

Na obrázku 4 je uvedený príklad priebehu potenciometrickej titračnej krivky a jej prvej a druhej derivácie.



Obr. 4 Potenciometrická titračná krivka, jej prvá derivácia a druhá derivácia

Voľba spôsobu určenia konca titrácie závisí od požiadaviek na presnosť a správnosť výsledkov, od experimentálnych možností a od charakteru krivky, ktorá môže byť symetrická, nesymetrická, prípadne plochá. Koniec titrácie pri potenciometrickej indikácii možno vo všeobecnosti určiť:

a) priamo experimentálnou technikou
b) výpočtovým vyhodnotením titračnej krivky,
c) grafickými metódami vyhodnotenia titračných údajov.

Na určenie konca potenciometrickej titrácie priamo experimentálnou technikou je viac spôsobov, z ktorých najvýznamnejšie sú tie, ktoré umožňujú realizovať automatické potenciometrické titračné analýzy. Tieto bývajú založené buď na sledovaní derivácie titračnej krivky, alebo na titráciách po dostatočné reprodukovateľnú hodnotu potenciálu elektródy v bode ekvivalencie. Najjednoduchšie výpočtové metódy využívajú hodnoty prvých, prípadne druhých derivácii a rôzne interpelačné postupy.

K najrozšírenejším patria grafické metódy. Namerané hodnoty potenciálu sa vynášajú do grafu oproti objemu pridaného titračného činidla. Nepravidelnosti vzniknuté nepresnosťou pri odčítaní potenciálu a polohy menisku sa pri znázorňovaní krivky vyrovnávajú a niektorou z metód sa určí ekvivalentný bod, odpovedajúci koncu titrácie. Rovnako možno

vyhodnocovať aj titračné krivky, automaticky registrované počas titrácie vhodným zapisovačom, spriahnutým s mechanickou byretou.

Postup

Ako odmerné činidlo používame 0,1 M roztok NaOH, ktorým titrujeme neznámu vzorku kyseliny.

a) Kalibrácia pH metra

Keďže pH meter je potenciometer so zobrazovaním potenciálu ako pH, je nutné pred začiatkom merania vykonať jeho kalibráciu (priradenie príslušných hodnôt pH nameranému potenciálu). Merací prístroj podľa návodu na obsluhu pripravíme na meranie. Ako indikačnú elektródu používame sklenú elektródu a ako referenčnú elektródu používame kalomelovú elektródu. Podľa rozsahu pH hodnôt, ktorý sa bude počas merania využívať, si vyberieme dva vhodné tlmivé roztoky (okrajove hodnoty pH využívaného rozsahu). Do kadičky nalejeme najprv tlmivý roztok s vyššou hodnotou pH (nižšia koncentrácia H^+), a to toľko, aby boli elektródy pH metra ponorené. Príslušným prepínačom (napr. Std.1) nastavíme odpovedajúcu hodnotu pH tlmivého roztoku. Opláchneme elektródy destilovanou vodou a do kadičky nalejeme druhý zvolený tlmivý roztok s nižšou hodnotou pH (vyššia koncentrácia H^+) tak, aby boli elektródy pH metra ponorené. Príslušným prepínačom (napr. Std. 2) nastavíme odpovedajúcu hodnotu pH zvoleného tlmivého roztoku.

b) Štandardizácia 0,1 M NaOH na 0,05 M kyselinu šťaveľovú potenciometrickou indikáciou

K meraniu je potrebné zvoliť ako indikačnú elektródu sklenú elektródu a ako referenčnú elektródu kalomelovú elektródu. Pripravíme si zásobný roztok 100 ml 0,05 M kyseliny šťaveľovej. Z neho odpipetujeme 10 ml do kadičky. Objem roztoku zriedime destilovanou vodou tak, aby elektródy (resp. kombinovaná elektróda) boli ponorené. Z byrety pridávame po 0,5 ml 0,1 M roztok NaOH. Roztok v kadičke premiešavame elektromagnetickým miešadlom. Na prístroji odčítame príslušné hodnoty pH. Namerané hodnoty pH, ako aj spotrebu titračného činidla zaznamenávame do tabuľky. Z grafickej závislosti pH na objeme (ml) titračného činidla zistíme ekvivalentný bod, ktorý zodpovedá spotrebe NaOH, a teda môžeme určiť (vypočítať) presnú koncentráciu NaOH. Meranie opakujeme aspoň tri krát.

c) Vlastné stanovenie neznámej vzorky kyseliny

Prvú vzorku neznámej kyseliny zriedime destilovanou vodou tak, aby boli elektródy (resp. kombinovaná elektróda) pH metra ponorené. Titračné činidlo 0,1 M NaOH (štandardizovaný) pridávame z byrety po 0,5 ml za stáleho miešania. Namerané hodnoty pH ako aj spotrebu titračného činidla zaznamenávame do tabuľky. Zostrojíme grafickú závislosť pH = f(V_{NaOH}). Zo zostrojenej titračnej krivky určíme ekvivalentný bod a k nemu odpovedajúcu spotrebu titračného činidla. Na základe tvaru titračnej krivky ako aj hodnoty pH vzorky nameranej pred začiatkom titrácie (V_{NaOH} = 0 ml) určíme, či sa vo vzorke nachádzala slabá kyselina octová alebo silná kyselina chlorovodíková a následne vypočítame jej množstvo v mg. Tento istý postup aplikujeme aj na druhú vzorku neznámej kyseliny.

1.3 Využitie potenciometrie na indikáciu bodu ekvivalencie pri zrážacích titráciách, stanovenie Cl^-, Br^-, I^- vedľa seba argentometricky

Princíp

Pri titrácii halogenidového aniónu s $AgNO_3$ sa v roztoku vylučuje nerozpustný AgX, pričom klesá koncentrácia halogenidu a zväčšuje sa koncentrácia strieborného iónu. Titrácia je sprevádzaná náhlou zmenou koncentrácie strieborného iónu v okolí bodu ekvivalencie a prejavuje sa na titračnej krivke strmým ohybom. Bod ekvivalencie je totožný s inflexným bodom titračnej krivky a jeho presnú polohu je možné zistiť numericky.

Stanovenie halogenidov vedľa seba je umožnené ich rozdielnou rozpustnosťou.

$$S_{AgCl} = 1{,}56 \cdot 10^{-10}$$

$$S_{AgBr} = 7{,}7 \cdot 10^{-13}$$

$$S_{AgI} = 1{,}5 \cdot 10^{-16}$$

Pri zrážaní sa vylučujú zrazeniny v poradí AgI, AgBr, AgCl. Na titračnej krivke sa objavia zlomy odpovedajúce vylúčeniu jednotlivých AgX. Aby nedochádzalo k tvorbe zmesných kryštálov, do titrovaného roztoku sa pridáva dusičnan bárnatý a titrácia sa uskutočňuje pomaly.

Postup

a) Štandardizácia 0,05 M $AgNO_3$

Do titračnej banky odpipetujeme presne 10 ml 0,05 M NaCl a zriedime destilovanou vodou tak, aby elektródy boli ponorené. Striebornú elektródu zapojíme ako indikačnú elektródu a kalomelovú elektródu ako referenčnú elektródu. Z byrety pridáme titračné činidlo 0,05 M $AgNO_3$ po 0,5 ml. Homogenitu roztoku zabezpečíme miešaním na elektromagnetickej miešačke. Do tabuľky zaznamenávame spotrebu $AgNO_3$ a mV. Z grafickej závislosti mV = f(ml_{AgNO_3}) určíme ekvivalentný bod (presnú spotrebu $AgNO_3$).Ekvivalentný bod určíme tiež numericky. Potom vypočítame presnú koncentráciu $AgNO_3$.

b) Stanovenie obsahu halogenidov vo vzorke

Vzorku kvantitatívne prenesieme do 100 ml odmernej banky a doplníme po rysku destilovanou vodou. Z nej odpipetujeme presne 25 ml do kadičky. Obsah kadičky doplníme destilovanou vodou asi na 60 ml (dôležité je, aby elektródy boli ponorené v roztoku). Pridáme približne 5 g dusičnanu bárnatého a titrujeme s 0,05 M $AgNO_3$. Titračné činidlo pridávame po 0,5 ml. Do tabuľky zaznamenávame hodnoty spotreby 0,05 M $AgNO_3$ a potenciál (mV). Grafickým znázornením závislosti mV = f(ml 0,05 $AgNO_3$) dostaneme tri zlomy na titračnej krivke. Je to sprevádzané príslušným sfarbením vylučujúcej sa zrazeniny. Výsledky udávame v mg jednotlivých halogenidov.

Numerická metóda stanovenia bodu ekvivalencie:

V_{AgNO3} [ml]	EMN [mV]	Δ V [mV]	Δ EMN [mV]	Δ Δ EMN [mV]

Ekvivalentný bod je v inflexnom bode krivky (tam je druha derivácia približne rovná nule). Presné miesto inflexného bodu na krivke vypočítame podľa vzťahu:

$V_{BE} = V_1 + (V_2 - V_1) \,.\, \Delta\Delta_1 / \Delta\Delta_1 - \Delta\Delta_2$

Kde V_1 a V_2 sú objemy a $\Delta\Delta_1$, $\Delta\Delta_2$ sú druhé diferencie EMN; a to pred a za maximálnou hodnotou EMN.

2 Optické analytické metódy

Optické metódy v analytickej chémii využívajú jednak javy spojené so vznikom elektromagnetického žiarenia a javy pozorovaní pri vzájomnej interakcii žiarenia a analyzovanej sústavy.

Optické metódy rozdeľujeme na dve skupiny:

1. Metódy založené na sledovaní javov vzájomných interakcií látky a elektromagnetického žiarenia, pri ktorých sa nemení vlnová dĺžka, či frekvencia žiarenia, mení sa len jeho smer alebo rýchlosť. Patria sem refraktometria a zákalomerné metódy.
2. Spektrálne metódy, založené na sledovaní emisných spektier, pri ktorých sama analyzovaná látka je zdrojom sekundárne emitovaného žiarenia, alebo absorpčných spektier, pri ktorých sa zisťuje zloženie sústavy podľa pohltenia alebo vyžiarenia intenzity žiarenia skúmanou vzorkou v závislosti od vlnovej dĺžky. Sú to:
   a) Emisná spektrálna analýza
   b) Absorpčné spektrálne metódy
   c) Rezonančné metódy
   d) Metódy röntgenovej analýzy a elektrónovej mikroanalýzy

2.1 Stanovenie metanolu vo vodných roztokoch ponorným refraktometrom

Princíp

Refraktometria je optická metóda, ktorá je založená na meraní indexu lomu kvapalných alebo tuhých látok a roztokov. Index lomu je dôležitá fyzikálna konštanta a je mierou čistoty kvapalín ako aj koncentrácie anorganických i organických látok v roztoku. Meranie indexu lomu sa vhodne využíva na hodnotenie mazív a olejov.

Refrakcia vodných roztokov závisí od ich zložiek. Ak je v roztoku jediná látka, tak s jej vzrastajúcim obsahom zákonite vzrastá i jej refrakcia, avšak nie lineárne. Pre určenie koncentrácie musíme preto pre nameraný údaj refrakcie použiť tabuľky. Takto môžeme refraktometricky stanoviť anorganické i organické kyseliny, soli, zásady a iné látky.

Pri prechode svetelného lúča z jedného homogénneho prostredia do druhého, dochádza na rozhraní oboch prostredí k zmene jeho rýchlosti. Pri dopade lúča na rozhranie, zmena jeho

rýchlosti zapríčiňuje odchýlku od pôvodného smeru. Uvedený jav sa nazýva lom svetla alebo svetelná refrakcia. Zákonitosť lomu svetla je vyjadrená Snellovym vzťahom:

$$n_{1,2} = \frac{c_1}{c_2} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

kde c_1 a c_2 sú rýchlosti žiarenia v jednotlivých prostrediach, α je uhol dopadu, β je uhol lomu a $n_{1,2}$ udáva relatívny index lomu prechodu lúča z jedného prostredia n_1 do druhého prostredia n_2.

Úplný (totálny) odraz

Svetelný lúč pri prechode z prostredia opticky redšieho do prostredia opticky hustejšieho sa láme ku kolmici. Naopak pri prechode z prostredia opticky hustejšieho do opticky redšieho sa svetelný lúč láme od kolmice.

Je zrejmé, že musí existovať taký uhol dopadu (medzný uhol) $\alpha_m < 90°$, pri ktorom je uhol lomu $\beta = 90°$, t. j. lomený lúč leží v lámavej ploche. Ak je uhol dopadu $\alpha > \alpha_m$ svetelný lúč sa neláme a všetko dopadajúce svetlo sa úplne odráža (totálny reflex). Úplný odraz je možný len pri prechode z prostredia opticky hustejšieho do prostredia opticky redšieho.

Všetky lúče dopadajúce z prostredia opticky redšieho do toho istého bodu rozhrania sú v opticky hustejšom prostredí uzavreté v kužeľovom priestore s vrcholovým uhlom 2 α. Úplný odraz sa využíva v optických prístrojoch a je základom refraktometrov slúžiacich na meranie indexu lomu.

Merná a mólová refrakcia

Index lomu je závislý od teploty, vlnovej dĺžky dopadajúceho svetla, tlaku, skupenstva a povahy samotnej latky. Aby sa vylúčila závislosť od tlaku a teploty bola na základe Maxwellovej elektromagnetickej teórie svetla odvodená tzv. merná refrakcia, pre ktorú platí Lorenz-Lorentzov vzťah:

$$r = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \cdot \frac{1}{\rho}$$

kde ρ je hustota prostredia.

Mólovú refrakciu môžeme definovať ako:

$$R = r.M = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \frac{\mathrm{M}}{\rho}$$

Kde M je mólová hmotnosť.

Mólová refrakcia je dôležitá konštanta a v zlúčeninách s kovalentnými väzbami má aditívny charakter. Hodnotu mólovej refrakcie možno vyjadriť ako súčet jednotlivých atómových refrakcií a inkrementov príslušných väzieb.

Meranie indexu lomu

Prístroje na meranie indexu lomu, refraktometre, sú zväčša založené na meraní medzného uhla. Medzný uhol na rozhraní dvoch látok závisí len od indexu lomu týchto látok. Ak teda poznáme index lomu jednej z látok, potom index lomu druhej latky možno vypočítať z rovnice:

$$n_2 = n_1 . sin\, \alpha_m$$

Pri meraní stačí teda stanoviť medzný uhol, aby sme získali index lomu. Základnou časťou refraktometra je merací hranol z optického skla s presne známym indexom lomu N. Na jednu stenu hranola sa dá meraná látka s indexom n N. Uhol dopadu svetelných lúčov volíme rovný 90°. Lom svetla pozorujeme okulárom. Uhol α medzi vstupnou a výstupnou hranou hranola sa nazýva lámavý uhol. Obyčajne sa nemeria bezprostredne medzný uhol α_m, ale uhol β.

Rozličné typy refraktometrov sa líšia lámavým uhlom meracieho hranola, veľkosťou ich indexu lomu N, konštrukciou uhlomerného zariadenia, ako aj zdrojom použitého svetla.

Refraktometrické merania

Na meranie indexu lomu sa používajú prístroje nazývané refraktometre. Rozdeľujeme ich na suché a ponorné.

Postup

Príprava ponorného refraktometra na meranie

Vodný kúpeľ naplníme destilovanou vodou a vytemperujeme na 20 °C. Do tohto kúpeľa vložíme merné kadičky tak, aby boli čo najviac ponorené. Potom nastavíme polohu osvetľovacieho zrkadla tak aby od neho odrazene svetlo dopadlo na dno mernej kadičky, vsunutej do otvoru držiaka, ktorú sme predtým naplnili destilovanou vodou. Refraktometer

upevníme do jeho držiaka a opatrne ho vsunieme do kadičky tak, aby bol cely merný hranol ponorený. Ak bolo zrkadlo správne nastavené, zorné pole je rovnomerne osvetlené. Ak rozhranie svetla a tmy nie je dosť ostré a pozorujeme na ňom farebné pruhy, tieto odstránime natáčaním prstenca kompenzátora a zaostríme okulárom. Podmienkou správneho merania je, aby nielen meraný roztok, (v našom prípade destilovaná voda), ale aj samotný merný hranol, mal tú istú teplotu. Preto pred konečným odčítaním musíme chvíľu vyčkať, aby sa teploty vyrovnali a ustálili na príslušnú hodnotu (20°C), čo sa prejaví ustálením polohy svetelného rozhrania. Odčítanie na stupnici robíme tak, že mikrometrickou skrutkou otáčame dovtedy, kým svetelné rozhranie nedosiahne najbližšieho nižšieho celého dielika stupnice (za predpokladu, že sa pôvodne nekrylo s celým dielikom). Potom k hodnote celých dielikov, odčítaných na stupnici, pripočítame desatinu dielu, ktorú nám ukazuje údaj na mikrometrickej skrutke.

Za predpokladu, že prístroj je presne nastavený, má pri 20°C ukazovať pre destilovanú vodu 10,0 dielikov. V opačnom prípade musíme refraktometer justovať. Stupnica ponorného refraktometra je empirická, preto ak chceme zistiť index lomu meranej látky, musíme ho odčítať z tabuliek.

Tabuľka 1. Prepočet dielikov stupnice ponorného refraktometra na index lomu n_D

Dielik	n_D	Δ_D	Dielik	n_D	Δ_D	Dielik	n_D	Δ_D
-5	1,32656	43	17	596	42	39	514	42
-4	699	43	18	1,33638	42	40	556	41
-3	742	43	19	680	42	41	1,34597	41
-2	785	43	20	722	42	42	638	41
-1	828	43	21	764	42	43	679	41
0	871	43	22	1,33806	42	44	720	41
1	914	43	23	848	42	45	761	41
2	957	43	24	890	42	46	802	41
3	1,33000	43	25	932	42	47	843	41
4	1,33043	43	26	974	42	48	884	41
5	86	42	27	1,34016	42	49	925	41

6	128	43	28	58	42	50	966	40
7	171	43	29	100	41	51	1,35006	41
8	214	42	30	141	42	52	47	40
9	259	43	31	183	41	53	87	41
10	299	42	32	224	42	54	128	41
11	341	43	33	266	42	55	169	40
12	384	42	34	308	41	56	209	40
13	1,33426	43	35	349	41	57	249	41
14	469	42	36	390	42	58	290	40
15	511	42	37	432	41	59	330	41
16	553	43	38	473	41	60	371	40
61	411	41	76	1,36009	40	91	596	38
62	451	40	77	49	39	92	1,36634	39
63	491	40	78	1,36088	40	93	673	38
64	1,35531	40	79	127	39	94	711	39
65	571	40	80	166	39	95	750	39
66	611	40	81	205	40	96	789	38
67	651	40	82	245	39	97	827	38
68	691	40	83	284	39	98	865	39
69	731	40	84	323	39	99	904	38
70	771	40	85	362	39	100	1,36942	39
71	811	39	86	401	39	101	981	38
72	850	40	87	440	39	102	1,37019	38
73	890	40	88	479	39	103	57	38
74	930	40	89	518	39	104	1,37095	38
75	970	40	90	557	39	105	133	38

Tabuľka 2. Interpolačná tabuľka

43		42		41		40		39		38	
1	4,3	1	4,2	1	4,1	1	4,0	1	3,9	1	3,8
2	8,6	2	8,4	2	8,2	2	8,0	2	7,8	2	7,6
3	12,9	3	12,6	3	12,3	3	12,0	3	11,7	3	11,4
4	17,2	4	16,8	4	16,4	4	16,0	4	15,6	4	15,2
5	21,5	5	21,0	5	20,5	5	20,0	5	19,5	5	19,0
6	25,8	6	25,2	6	24,6	6	24,0	6	23,4	6	22,8
7	30,1	7	29,4	7	28,7	7	28,0	7	27,3	7	26,6
8	34,4	8	33,6	8	32,8	8	32,0	8	31,2	8	30,4
9	38,7	9	37,8	9	36,9	9	36,0	9	35,1	9	34,2

Stanovenie metanolu vo vodných roztokoch ponorným refraktometrom

Závislosť indexu lomu vodných roztokov metanolu na objemových percentách metanolu nie je priamková, ale tvarom sa podobá parabole s maximom pri 60 % metanolu.

Z toho vyplýva, že spravidla jednému indexu lomu odpovedajú dve zmesi s rôznym zložením. Je preto nutné urobiť dve merania, aby sme z meraného indexu lomu určili správnu koncentráciu. Prvým meraním určíme index lomu zmesi a druhým meraním, po nasledujúcom zriedení skúmanej zmesi vodou, určíme podľa toho, čí index lomu stúpol alebo klesol, na ktorej vetve kalibračnej vetvy je treba hľadať zlozenie vzorky.

Pomôcky, chemikálie, roztoky:

10 odmerných baniek 25 ml, 10 ml pipeta delená, metanol

Pracovný postup

a) Zostrojenie kalibračnej krivky

Do sady 25 ml odmerných baniek odpipetujeme postupne 1, 3, 5, 6, 9, až 24 ml metanolu a doplníme po značku destilovanou vodou. Pri 20°C zmeriame indexy lomu všetkých zmesí, ako aj index lomu destilovanej vody a čistého metanolu. Z nameraných indexov lomu zostrojíme kalibračnú krivku, kde na os x nanášame objemové percentá metanolu a na os y zodpovedajúce hodnoty indexu lomu. Kalibračná krivka má tvar paraboly.

b) Vlastná analýza

Pri 20°C zmeriame index lomu vzorky a z kalibračnej krivky odčítame dve možné zodpovedajúce dvojice % metanolu a vody. Potom zriedime 5 ml vzorky 1 ml destilovanej vody a opäť zmeriame index lomu pri 20°C. Ak po zriedení vzorky vodou index lomu stúpol, odpovedá zloženie hodnote odčítanej na zostupnej časti krivky, a ak klesol, odpovedá zloženie hodnote odčítanej na vzostupnej časti.

2.2 Absorpčná spektrálna analýza - spektrofotometrické stanovenie Cu

Princíp

Princípom absorpčných spektrálnych metód je absorpcia žiarenia vzorkou. Rozoznávame:

1. Absorpčnú spektrometriu, pri ktorej sa sleduje závislosť absorbancie od vlnovej dĺžky pri zvolenej koncentrácii a hrúbke vrstvy absorbujúceho prostredia. Grafická závislosť absorbancie od vlnovej dĺžky predstavuje absorpčné spektrum. Prístroje používané pri tejto metóde sa nazývajú spektrometre.
2. Absorpčnú molekulovú spektrometriu (spektrofotometriu), ktorá sleduje závislosť absorbancie od koncentrácie pri zvolenej vlnovej dĺžke a hrúbke absorbujúceho prostredia. Používané prístroje sa nazývajú fotometre (objektívny alebo vizuálny).
3. Kolorimetriu, ktorá sleduje závislosť hrúbky vrstvy od koncentrácie pri konštantnej absorbancii a konštantnej vlnovej dĺžke. Používané prístroje sa nazývajú kolorimetre.

Základom absorpčnej spektrálnej analýzy je Lambert-Beerov zákon a vyjadruje ho vzťah medzi absorpciou žiarenia, koncentráciou absorbujúcej látky a hrúbkou vrstvy absorbujúceho prostredia $A = \varepsilon c l$, kde A je absorbancia, ktorá je pre určitý skúmaný roztok a pri konštantnej

hrúbke kyvety s použitím monochromatického žiarenia úmerná koncentrácii skúmanej látky, ε je mólový absorpčný koeficient a je charakteristicky pre každú látku a l je hrúbka kyvety.

Súbor metód, ktorý sa zaoberá získavaním absorpčných kriviek t. j. premeriavaním absorpcie, transmitancie, alebo absorbancie v závislosti od vlnovej dĺžky, sa nazýva spektrometria. Grafickým znázornením závislosti absorpcie od vlnovej dĺžky získame absorpčné spektrum v podobe absorpčnej krivky. Na absorpčnej krivke sú znázornené absorpčné maximá, pri ktorých dochádza k absorpcii pri určitých vlnových dĺžkach, ktorých poloha je pre každú skúmanú látku charakteristická. Okrem získavania absorpčných kriviek slúži spektrometria aj na stanovenie koncentrácie látok. V tomto prípade sa meria absorpcia žiarenia len pri určitej vlnovej dĺžke, zodpovedajúcej maximu na absorpčnej krivke.

Postup

Chemikálie:

$CuSO_4 . 5H_2O$, NH_4OH 12,5% (1:1)

Úloha 1: Zistenie absorpčnej krivky – analytickej krivky a určenie λ_{max}

Úloha 2: Zistenie neznámej koncentrácie Cu metódou kalibračnej krivky

Pripravíme si 50 ml zásobného štandardného roztoku medi s koncentráciou medi (ako Cu) 1 mg ml^{-1}. Zo zásobného roztoku pipetujeme do 50 ml odmerných baniek po 0 (slepý pokus – blank), 1, 3, 5, 7 a 9 ml. Do každej banky (vrátene tej bez prídavku zásobného roztoku) pridáme po 5 ml 12,5 % NH_4OH. Doplníme po značku destilovanou vodou a premiešame.

1. Na zistenie absorpčnej krivky zoberieme štandardný roztok s 9 ml medi, ktorý nalejeme do mernej kyvety. Do porovnávacej kyvety nalejeme roztok slepého pokusu (pripravený z 5 ml 12,5 % NH_4OH a 45 ml destilovanej vody). Meranie absorbancie robíme v rozmedzí 400 – 700 nm. Zostrojíme grafickú závislosť A = f(λ). Vlnová dĺžka, pri ktorej leží vrchol tejto závislosti, udáva absorpčné maximum (λ_{max}) komplexu $Cu(NH_3)_4^{2+}$.
2. Kvantitatívnu analýzu realizujeme metódou kalibračnej krivky. Pri λ_{max} zisťujeme hodnoty absorbancie pre všetky štandardné roztoky. Meranie oproti slepému pokusu (pripravený z 5 ml 12,5 % NH_4OH a 45 ml destilovanej vody). K vzorke medi pridáme 5 ml 12,5 % NH_4OH a doplníme v 50 ml odmernej banke po značku destilovanou vodou. Potom odmeriame absorbanciu vzorky A_x oproti porovnávaciemu

roztoku. Hmotnosť medi vo vzorke určíme odčítaním nameranej A_x z kalibračnej krivky alebo dosadením výslednej hodnoty absorbancie vzorky do rovnice kalibračnej závislosti (excel), ktorú zostrojíme ako závislosť $A = f(c_{Cu})$.

2.3 Stanovenie manganistanu a chrómanu draselného v zmesi

Postup

Príprava 100 ml 0,02 M $KMnO_4$:

Vypočítané a odvážené množstvo $KMnO_4$ sa po rozpustení kvantitatívne preleje do 100 ml odmernej banky, doplní sa po rysku destilovanou vodou a obsah banky sa premieša, čím sa roztok zhomogenizuje.

Príprava 100 ml 0,02 M K_2CrO_4:

Vypočítané a odvážené množstvo K_2CrO_4 sa po rozpustení kvantitatívne preleje do 100 ml odmernej banky, doplní sa po rysku destilovanou vodou a obsah banky sa premieša, čím sa roztok zhomogenizuje.

Absorpčné spektrum $KMnO_4$:

Na zistenie absorpčného spektra $KMnO_4$ použijeme zásobný pracovný roztok manganistanu draselného s koncentráciou 0,02 M. Z tohto roztoku odpipetujeme postupne 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml a 0,5 ml do 25 ml odmerných baniek a doplníme po rysku destilovanou vodou. Takto pripravené roztoky manganistanu draselného nalejeme po premiešaní do mernej kyvety o dĺžke 1 cm a meriame ich absorbanciu oproti destilovanej vode ako rozpúšťadla v závislosti na vlnovej dĺžke v rozsahu 350 – 600 nm. Získame grafickú závislosť $A = f(\lambda)$. Vlnová dĺžka λ_{max1}, pri ktorej leží vrchol tejto závislosti, udáva absorpčné maximum manganistanu draselného.

Absorpčné spektrum K_2CrO_4:

Na zistenie absorpčného spektra K_2CrO_4 použijeme zásobný pracovný roztok chrómanu draselného s koncentráciou 0,02 M. Do 25 ml odmerných baniek postupne odpipetujeme 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml a 0,5 ml tohto zásobného roztoku a doplníme po rysku destilovanou vodou. Takto pripravené roztoky chrómanu draselného dáme po premiešaní do mernej kyvety o hrúbke 1 cm. Do porovnávacej kyvety dáme destilovanú vodu. Meranie absorbancie realizujeme v rozmedzí 350 – 600 nm. Získame grafickú závislosť $A = f(\lambda)$.

Vlnová dĺžka λ_{max2}, pri ktorej leží vrchol tejto závislosti, udáva absorpčné maximum chrómanu draselného.

Stanovenie koncentrácie manganistanu a chrómanu draselného v zmesi

Pre stanovenie zmesi obsahujúcej *n* zložiek je potrebné uskutočniť *n* meraní pri *n* rôznych vlnových dĺžkach a následne riešiť rovnicu $A = \varepsilon.c.l$. Vhodné vlnové dĺžky sa volia na základe vopred nameraných absorpčných spektier každej zložky tak, aby vždy jedna zložka vykazovala maximálnu absorbanciu, zatiaľ čo zostávajúce $n - 1$ zložky mali práve pri tejto vlnovej dĺžke absorbanciu minimálnu. Napríklad pre výpočet zloženia binárnej zmesi látok X a Y je možné ich koncentráciu vypočítať za predpokladu, že sú známe absorpčné koeficienty ε_{X1}, ε_{Y1}, ε_{X2}, ε_{Y2} pre zvolené vlnové dĺžky λ_1 a λ_2 pri l = konšt. Pre výpočet koncentrácie oboch zložiek platí:

$$c_x = \frac{\frac{1}{l} A_{\lambda \max 1} \varepsilon_{Y2} - \frac{1}{l} A_{\lambda \max 2} \varepsilon_{Y1}}{\varepsilon_{X1}\varepsilon_{Y2} - \varepsilon_{X2}\varepsilon_{Y1}} \qquad c_Y = \frac{\frac{1}{l} A_{\lambda \max 2} \varepsilon_{X1} - \frac{1}{l} A_{\lambda \max 1} \varepsilon_{X2}}{\varepsilon_{X1}\varepsilon_{Y2} - \varepsilon_{X2}\varepsilon_{Y1}}$$

ε_{X1} - absorpčný koeficient $KMnO_4$ pri absorpčnom maxime $KMnO_4$ λ_{max1}

ε_{Y1} - absorpčný koeficient K_2CrO_4 pri absorpčnom maxime $KMnO_4$ λ_{max1}

ε_{X2} - absorpčný koeficient $KMnO_4$ pri absorpčnom maxime K_2CrO_4 λ_{max2}

ε_{Y2} - absorpčný koeficient K_2CrO_4 pri absorpčnom maxime K_2CrO_4 λ_{max2}

Zložitejšie je súčasné stanovenie troch alebo viacerých zložiek vedľa seba. Pri trojzložkovom systéme sa na riešenie rovníc používajú determinanty, štyri- a viaczložkové systémy už vyžadujú použitie modernej výpočtovej techniky.

Príprava a meranie zmesi manganistanu a chrómanu draselného:

Zmesi manganistanu a chrómanu draselného v pomere 1:1; 1:2; 2:1; 1:3 atď. pripravíme zo zásobných pracovných roztokov manganistanu a chrómanu draselného s koncentráciou 0,02 M.

a) Príprava zmesi v pomere 1:1 - do 25 ml odmernej banky odpipetujeme 0,3 ml $KMnO_4$ a 0,3 ml K_2CrO_4, doplníme destilovanou vodou po rysku a premiešame.

b) Príprava zmesi v pomere 1:2 - do 25 ml odmernej banky odpipetujeme 0,3 ml $KMnO_4$ a 0,6 ml K_2CrO_4, doplníme destilovanou vodou po rysku a premiešame.

c) Príprava zmesi v pomere 2:1 - do 25 ml odmernej banky odpipetujeme 0,6 ml $KMnO_4$ a 0,3 ml K_2CrO_4, doplníme destilovanou vodou po rysku a premiešame.

d) Príprava zmesi v pomere 1:3 - do 25 ml odmernej banky odpipetujeme 0,2 ml $KMnO_4$ a 0,6 ml K_2CrO_4, doplníme destilovanou vodou po rysku a premiešame.

Takto pripravené zmesi manganistanu a chrómanu draselného dáme po premiešaní do mernej kyvety s hrúbkou 1 cm. Do porovnávacej kyvety dáme destilovanú vodu. Meranie absorbancie realizujeme pri λ_{max1} pre $KMnO_4$ a λ_{max2} pre K_2CrO_4.

Výpočet koncentrácie manganistanu c_X a chrómanu draselného c_Y v zmesi:

V našom prípade ide o zmes pozostávajúcu z dvoch zložiek, $KMnO_4$ a K_2CrO_4. Z nameraných absorpčných spektier vyčítame λ_{max1}; λ_{max2} a ε_{X1}, ε_{Y1}, ε_{X2}, ε_{Y2} pre namerané vlnové dĺžky. Je známe, že chróman draselný už neabsorbuje pri absorpčnom maxime manganistanu draselného. Preto $\varepsilon_{Y1} = 0$, čím sa nám výpočet značne zjednoduší a namiesto hore uvedeného vzťahu pre c_X a c_Y použijeme nasledujúce rovnice:

$$A_{\lambda max1} = \varepsilon_{X1.}\, c_X.l + \varepsilon_{Y1.}\, c_Y.l = \varepsilon_{X1.}\, c_X.l \qquad A_{\lambda max2} = \varepsilon_{X2.}\, c_X.l + \varepsilon_{Y2.}\, c_Y.l$$

2.4 Stanovenie zloženia iónového asociátu kyseliny pikrovej s Astrafloxínom

Princíp

Iónový asociát (IA)

Už v roku 1927 Eegrive pozoroval, že po pridaní roztoku Rodamínu 6G ku chloridovým roztokom ortuti, antimónu a tália vznikajú zrazeniny a dochádza k zmene sfarbenia roztokov. Mechanizmus podobných reakcií vysvetlil až v roku 1964 Kuznecov. Kovový ión vytvára s halogenidovými iónmi aniónové komplexy, ktoré reagujú s katiónom farbiva (organické činidlo) za vzniku tzv. iónových asociátov. Vznik iónových asociátov prebieha v dôsledku elektrostatických interakcií, vďaka čomu sú, v porovnaní s vodnými roztokmi organických činidiel, absorpčné maximá iónových asociátov posunuté iba o 5 – 30 nm. To znamená, že poloha absorpčného maxima ako aj mólový absorpčný koeficient závisia predovšetkým od vlastností príslušného činidla.

Niektorí autori nepovažujú podobné zlúčeniny za iónové asociáty, ale za komplexy vo vonkajšej sfére, neuvádzajú však potrebné dôkazy. Najdôležitejšie vlastnosti iónových asociátov v roztokoch sú: slabá rozpustnosť vo vode, dobrá rozpustnosť v niektorých organických rozpúšťadlách, vysoká hodnota mólového absorpčného koeficientu. Efektívne využitie uvedených vlastností umožňuje vypracovať vysoko dôkazuschopné, selektívne a rýchle metódy analýzy, ktoré vyhovujú súčasným požiadavkám pre stanovenie viacerých prvkov v zložitých vzorkách.

Stanovenie zloženia iónových asociátov

Vytvorenie väzby v iónových asociátoch je úzko spojené so zmenou optických vlastností. Pre štúdium rovnováh sú vhodné metódy, ktoré sú založené na meraní absorbancie žiarenia, pričom základnou požiadavkou tohto prístupu je, aby absorbancia všetkých zložiek bola v súlade s Lambert-Beerovým zákonom. Absorbancia roztoku je priamo úmerná rovnovážnej koncentrácii komplexnej častice. Pre určenie stechiometrického zloženia komplexov sa používaju rôzne metódy a jednou z nich je aj tzv. metóda izomolárnej série (Jobova metóda). Izomolárna séria je séria roztokov so stálou celkovou koncentráciou reagujúcich zložiek [kovu (M) a činidla (R)], ale s rôznym pomerom ich koncentrácií (c_M : c_R). Metóda izomolárnej série je založená na stanovení pomeru izomolárnych koncentrácií reagujúcich látok, ktorý zodpovedá maximálnemu výťažku vznikajúceho iónového asociátu. Na základe nameraných hodnôt absorbancie sa zostrojí grafická závislosť:

$$A = f\left(\frac{c_R}{c_M + c_R}\right)$$

Poloha extrémneho bodu na tejto krivke je jednoznačne spojená so stechiometrickými koeficientmi

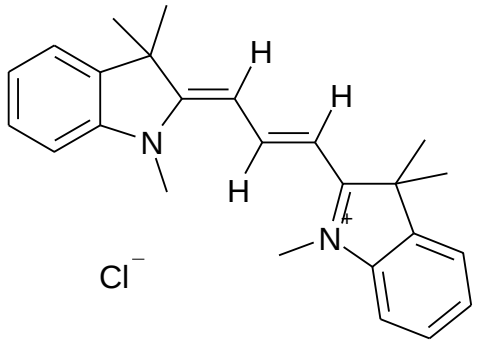
$$x = \frac{c_R}{c_M + c_R} = \frac{n}{m+n}$$

Postup

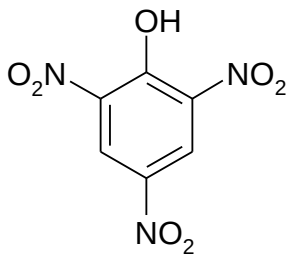
Príprava 50 ml 10^{-3} M, 50 ml 5×10^{-4} M a 50 ml 2×10^{-4} M Astrafloxínu:

Po odvážení vypočítaného množstva farbiva AF (obr. 5) na analytických váhach a jeho rozpustení v malom množstve (1-2 kvapky) metanolu sa roztok kvantitatívne preleje do 50 ml odmernej banky a doplní sa po rysku destilovanou vodou.

Roztoky farbiva AF s koncentráciou 5×10^{-4} M a 2×10^{-4} M sa pripravia viacnásobným riedením zásobného roztoku AF (10^{-3} M) destilovanou vodou.



AF (R^+Cl^-)



2,4,6 – TNP

Obr. 5. Štruktúrne vzorce farbiva astrafloxín a kyseliny pikrovej

<u>Príprava 50 ml 10^{-3} M, 50 ml 5×10^{-4} M a 50 ml 2×10^{-4} M kyseliny pikrovej:</u>

Roztoky kyseliny pikrovej (obr.5) s koncentráciou 10^{-3} M, 5×10^{-4} M a 2×10^{-4} M sa pripravia viacnásobným riedením už pripraveného zásobného roztoku kyseliny pikrovej (10^{-2} M) destilovanou vodou.

<u>Zistenie absorpčnej krivky (absorpčného spektra) farbiva AF.</u>

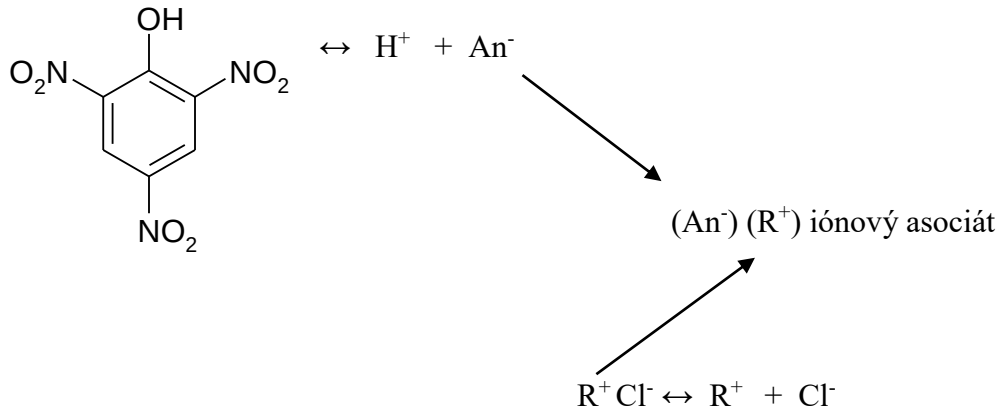
Absorpčné spektrum je funkčnou závislosťou absorbancie od vlnovej dĺžky, tj. A = f (λ). Na zistenie absorpčného spektra použijeme pracovné roztoky farbiva AF s koncentráciami 10^{-3} M, 5×10^{-4} M a 2×10^{-4} M. Do skúmavky napipetujeme 0,5 ml roztoku farbiva a pridáme presne 4,5 ml destilovanej vody. Po premiešaní roztok prelejeme do mernej kyvety o vhodnej optickej dĺžke (1 cm; 0,5 cm alebo 0,2 cm), pričom dĺžku kyvety zvolíme podľa intenzity signálu (hodnota absorbancie). Ak má absorbancia príliš vysokú hodnotu (>1,5), je potrebné znížiť dĺžku kyvety, čím sa zníži aj hodnota absorbancie. Do porovnávacej kyvety nalejeme destilovanú vodu. Meranie absorbancie realizujeme v rozmedzí vlnových dĺžok 400 – 600 nm. Získame grafickú závislosť A = f (λ). Vlnová dĺžka, pri ktorej leží vrchol tejto závislosti, udáva absorpčné maximum farbiva AF.

Zistenie absorpčnej krivky (absorpčného spektra) iónového asociátu v pomere 1:1 (AF a kyselina pikrová).

Na zistenie absorpčného spektra iónového asociátu použijeme pracovné roztoky farbiva AF a kyseliny pikrovej s rovnakou koncentráciou. Do skúmavky napipetujeme 0,5 ml roztoku farbiva (10^{-3} M, 5×10^{-4} M a 2×10^{-4} M), 0,5 ml roztoku kyseliny pikrovej (10^{-3} M, 5×10^{-4} M a 2×10^{-4} M) a pridáme presne 4 ml destilovanej vody. Po premiešaní obsahu skúmavky pridáme 5 ml toluénu a extrahujeme 1 minútu. Vyextrahovaný iónový asociát prelejeme do mernej kyvety s vhodnou dĺžkou (1 cm; 0,5 cm alebo 0,2 cm). Do porovnávacej kyvety dáme toluén. Meranie absorbancie realizujeme v rozsahu vlnových dĺžok 400 – 600 nm. Získame grafickú závislosť A = f (λ). Vlnová dĺžka, pri ktorej leží vrchol tejto závislosti, udáva absorpčné maximum iónového asociátu (AF s kyselinou pikrovou).

Stanovenie zloženia iónového asociátu kyseliny pikrovej s Astrafloxínom

Na stanovenie zloženia iónového asociátu kyseliny pikrovej s Astrafloxínom použijeme metódu izomolárnej série (Jóbovu metódu). Podstata tejto metódy spočíva v stanovení pomeru izomolárnych koncentrácii reagujúcich látok, t.j. kyseliny pikrovej a Astrafloxínu. Pripravené roztoky kyseliny pikrovej a Astrafloxínu s rovnakou koncentráciou zmiešame v alikvótnych pomeroch 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, 10:0, pričom zachováme stály objem roztoku. Do skúmavky pridáme potrebné množstvo destilovanej vody tak, aby bol celkový objem 5 ml. Premiešame, pridáme 5 ml toluénu a extrahujeme 1 minútu. Vyextrahované iónové asociáty v pomeroch 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, 10:0 po jednom prelejeme do mernej kyvety s vhodnou dĺžkou (1 cm; 0,5 cm alebo 0,2 cm). Do porovnávacej kyvety dáme toluén. Meranie absorbancie realizujeme pri vlnovej dĺžke, pri ktorej má iónový asociát (AF a kyselina pikrová) maximálnu absorbanciu λ_{max}. Zostrojíme grafickú závislosť A = f ($c_{AF}/c_{AF} + c_{2,4,6-TNP}$). Optimálne zloženie iónového asociátu kyseliny pikrovej s Astrafloxínom udáva maximum závislosti A = f ($c_{AF}/c_{AF} + c_{2,4,6-TNP}$). Ak nevzniká ostré maximum, je potrebné jednotlivými vetvami krivky preložiť dotyčnice a ich spojnica udáva optimalne zloženie IA.Na obrázku 6 je načrtnutá schéma mechanizmu vzniku iónového asociátu v tomto systéme.

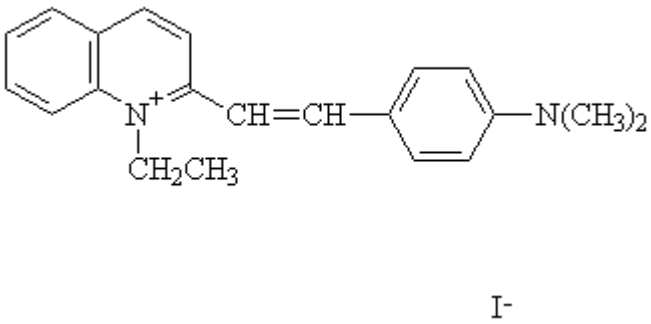


Obr. 6. Schéma mechanizmu vzniku iónového asociátu AF - 2,4,6 TNP

2.5 Stanovenie spektroskopických a protolytických vlastností farbiva Quinaldine Red

Princíp

Absorpčná spektrometria sa využíva aj na sledovanie a popis spektroskopických a protolytických vlastností rôznych látok, ktoré môžu byť využité ako nové a selektívne činidlá pre stanovovanie rôznych anorganických a organických látok. Jedným z takýchto činidiel je aj organické zásadité farbivo s komerčným názvom Quinaldine red (QR), ktorého štruktúra je zobrazená na obrázku 7.



Obr. 7. Štruktúra Quinaldine red

Zistenie absorpčnej krivky – absorpčné spektrum a určenie λ_{max}, ε (mólový absorpčný koeficient).

Absorpčné spektrum je funkčnou závislosťou absorbancie od vlnovej dĺžky, tj. A = f (λ). Na zistenie absorpčného spektra použijeme pracovný roztok farbiva QR s koncentráciou 10^{-3} M. Do skúmavky napipetujeme 0,5 ml tohto roztoku a pridáme presne 4,5 ml destilovanej vody. Po premiešaní roztok prelejeme do mernej kyvety. Do porovnávacej kyvety nalejeme destilovanú vodu. Meranie absorbancie realizujeme v rozsahu vlnových dĺžok 350 – 650 nm. Získame grafickú závislosť A = f (λ). Vlnová dĺžka, pri ktorej leží vrchol tejto závislosti, udáva absorpčné maximum fabiva QR. Pre výpočet ε (mólového absorpčného koeficientu) použite Lambert-Beerov zákon.

Zistenie závislosti absorbancie od pH, t.j. A = f (pH); určenie rovnovážnej konštanty protolýzy ($pK_{pr.}$) grafickou a výpočtovou metódou.

Sledovanie závislosti A = f (pH) sa najčastejšie využíva pri zisťovaní acidobázických vlastností farbív a iónových asociátov. Vhodná analytická metóda má mať čo najširší použiteľný rozsah pH, min. 0,5 až 1. Túto vyhovujúcu a žiadanú oblasť určuje vodorovná časť krivky A = f (pH), ktorá súčasne ukazuje, kedy je príslušný komplex resp. absorbujúca zložka kvantitatívne vytvorená. Stúpajúca, resp. klesajúca časť krivky vymedzuje oblasť pH, v ktorej sa komplex tvorí, jeden typ komplexu prechádza na iný, alebo jedna forma farbiva sa mení na inú. Závislosť na pH je najvýhodnejšie namerať pri maximálnej absorbancii (λ_{max}) komplexu alebo činidla, v našom prípade farbiva.

Na zistenie závislosti A = f (pH) použijeme pracovný roztok farbiva QR s koncentráciou 10^{-3} M. Do skúmavky napipetujeme 0,5 ml tohto roztoku, pridáme 1 ml tlmivého roztoku a doplníme destilovanou vodou na objem 5 ml. Po premiešaní roztok prelejeme do mernej kyvety. Do porovnávacej kyvety nalejeme destilovanú vodu. Rovnaký postup použijeme pre všetky pH roztoky. Meranie absorbancie uskutočňujeme pri vlnovej dĺžke, pri ktorej má farbivo maximálnu absorbanciu λ_{max}. Zostrojíme grafickú závislosť A = f (pH).

Ak je známy mechanizmus reakcie, zo závislosti A = f (pH) je možné stanoviť konštantu protolýzy ($pK_{pr.}$).

$$R^{+} \xrightarrow{H_3O^{+}} RH^{2+} + H_2O$$

a) grafickou metódou:

- rovnovážna konštanta protolýzy ($pK_{pr.}$) je daná stredom stúpajúcej časti krivky ($pH_{1/2}$)

($pH_{1/2} = pK_{pr.}$)

b) výpočtovou metódou:

$pK_{pr.} = - \log K_{pr.}$

$\log K_{pr.} = \log (A/A_0-A) - pH$

kde A_0 je absorbancia vodorovnej časti krivky; A je ľubovoľne zvolená absorbancia zo stúpajúcej časti krivky s prislúchajúcou hodnotou pH

Postup

Príprava 50 ml 10^{-3} M QR:

Po odvážení vypočítaného množstva farbiva QR na analytických váhach a jeho rozpustení v metanole (5 ml CH_3OH – 10 %; 10 ml CH_3OH – 20 %; 15 ml CH_3OH – 30 %; 25 ml CH_3OH – 50 %) sa roztok kvantitatívne preleje do 50 ml odmernej banky a doplní sa po rysku destilovanou vodou. Prípravu tlmivých roztokov urobíme podľa tabuľky 3.

Tabuľka 3. Príprava acetátovo amoniakálnych tlmivých roztokov

pH	3	4	5	6	7	8	9	10	11
V(CH_3COOH) 1M	99,3	85,9	59,7	51,2	50	48,8	40,3	14,1	0,7
V(NH_4OH) 1M	0,7	14,1	40,3	48,8	50	51,2	59,7	85,9	99,3

Na prípravu roztokov s pH menej ako 3 použijete 1 M kyselinu chlorovodíkovú a na prípravu roztokov s pH > 11 použijete roztok 1 M NaOH.

Príprava 500 ml 1 M CH_3COOH:

Vypočítaný a odmeraný objem CH_3COOH sa vleje do 500 ml odmernej banky, v ktorej je malé množstvo destilovanej vody a doplní sa po značku destilovanou vodou.

Príprava 500 ml 1M NH_4OH:

Vypočítaný a odmeraný objem NH_4OH sa vleje do 500 ml odmernej banky, v ktorej je malé množstvo destilovanej vody a doplní sa po značku destilovanou vodou.

Príprava 1 L 1 M HCl (zo štandardu - normanal):

Normanal kyseliny chlorovodíkovej prenesiete do kadičky a odtiaľ kvantitatívne prenesiete do 1L odmernej banky, v ktorej je malé množstvo destilovanej vody. Doplníte po značku destilovanou vodou a premiešate.

2.6 Stanovenie kovov metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

Princíp

Princípom absorpčných spektrálnych metód je absorpcia žiarenia vzorkou. Podstatou atómovej absorpčnej spektrometrie (AAS) je meranie zoslabenia elektromagnetického žiarenia (absorbancie), spôsobeného absorpciou voľnými atómami prvku, ktoré musia byť v plynnom stave. Atómy látky vzorky sa do plynnej fázy dostávajú v procese atomizácie, pričom jej podmienky sa volia tak, aby sa atómy pri absorpcii žiarenia neexcitovali, ale aby zostali v základnom energetickom stave. Atómová absorpčná spektrometria je založená na platnosti Kirchhoffovho zákona, podľa ktorého každá látka absorbuje žiarenie tej vlnovej dĺžky, ktorú sama môže vyžarovať. Princíp metódy spočíva v meraní úbytku žiarenia, ktorý je spôsobený absorpciou voľnými atómami stanovovaného prvku a je úmerný jeho koncentrácii. Energia pohlteného žiarenia zodpovedá prechodu valenčného elektrónu zo základného stavu na niektorú vyššiu energetickú hladinu. Vlnová dĺžka žiarenia, ktoré voľné atómy selektívne absorbujú, je pre daný prvok charakteristická.

Pre experimentálne podmienky AAS možno absorpciu žiarenia pri danej vlnovej dĺžke vyjadriť pomocou tzv. absorbancie, ktorá je daná rovnicou

$$A = -\log (\Phi / \Phi_0)\, \lambda = -\log_{\tau},$$

kde Φ_0 a Φ sú žiarivé toky pred prechodom cez absorbujúce prostredie a po ňom, ktoré sa vzťahujú na selektívnu absorpciu rezonančnej spektrálnej čiary s vlnovou dĺžkou λ, a τ (transmitancia, priepustnosť) predstavuje podiel žiarivých tokov Φ a Φ_0. Vzťah medzi absorpciou, hrúbkou absorbujúceho prostredia a jeho koncentráciou je daný Lambert-

Beerovým zákonom. Podľa tohto zákona vyjadruje vzájomný vzťah uvedených veličín už spomenutá absorbancia

$$A = \varepsilon_\lambda c L,$$

ktorá je pre určitý skúmaný roztok pri konštantnej hrúbke vrstvy L a monochromatickom žiarení priamo úmerná koncentrácii c skúmanej látky, pričom ε_λ je molárny absorpčný koeficient, konštanta závislá od vlnovej dĺžky absorbovaného žiarenia. Lambert-Beerov zákon platí pre zriedené roztoky, kde $c < 10^{-2}$ mol dm^{-3}. Odvodený vzťah Lambert-Beerovho zákona platí pre prípad, že v skúmanom roztoku je iba jedna absorbujúca zložka. Ak sú v roztoku dve alebo viac absorbujúcich zložiek, výsledná absorbancia bude súčtom všetkých absorbancií prislúchajúcich jednotlivým zložkám roztoku s koncentráciami c1, c2, c3... c_n s molárnymi absorpčnými koeficientmi ε_1, ε_2, ε_3... ε_n pri rovnakej hrúbke absorpčného prostredia (kyvety) L. Pre celkovú nameranú absorbanciu platí: $A = \varepsilon_1 c_1 L + \varepsilon_2 c_2 L +... + \varepsilon_n c_n L = L \Sigma \varepsilon_i c_i$. Tento vzťah sa využíva pri fotometrickom stanovovaní dvoch alebo viacerých zložiek vedľa seba tak, že sa premeriava ich absorbancia pri dvoch alebo viacerých vlnových dĺžkach. Každý atómový absorpčný spektrometer má päť základných častí:

- zdroj žiarenia,
- atomizátor vzorky, ktorý je súčasne absorpčným prostredím (plameň),
- monochromátor,
- detektor
- indikačný systém.

Na zdroj monochromatického žiarenia sa v AAS kladú značné požiadavky. Žiarenie musí byť stabilné, s vysokou intenzitou a rezonančná čiara stanovovaného prvku musí byť čo najužšia, v intervale vyčlenenom monochromátorom. Tieto požiadavky spĺňajú výbojky s dutou katódou. Takáto katóda sa realizuje ako evakuovaná sklená banka naplnená neónom alebo argónom na nízky tlak. Katódou v banke je kovový valček z kovu, ktorý sa má stanoviť. Po vystavení elektrickému napätiu nastáva výboj, pričom vznikajú ionizované atómy vzácneho plynu, ktoré bombardujú katódu a vyvolávajú elektrónové prechody atómov kovu, ich excitáciu. Pri deexcitácii týchto atómov vzniká žiarenie, ktoré sa prejaví ako čiarové spektrum daného kovu. Keďže katóda je iba z jedného kovu, takáto výbojka je vhodná iba na stanovovanie jedného prvku. Vyrábajú sa aj výbojky, ktoré obsahujú viacprvkové katódy, ale takéto lampy kladú zvýšené požiadavky na monochromatizáciu, pretože v nich vzniká spojité

spektrum. Výsledkom môže byť menšia presnosť analýzy. Ako atomizátor, resp. absorpčné prostredie sa v AAS najčastejšie používa vysokoteplotný plameň. Kvapalná vzorka sa nasaje do atomizátora, pričom vzniká aerosól, ktorý sa zmiešava s palivom v horáku. Absorpčným prostredím je plameň horáka s teplotou 2 000 až 3 000 °K. Prechod prvku do atomizovaného stavu závisí od viacerých faktorov, napr. od teploty, transportu vzorky a paliva, zloženia vzorky, ale aj spaľovacích plynov. Najvhodnejšie podmienky na dané stanovovania sa určujú experimentálne. Zriedkavejšie používaná, ale značne efektívna je tzv. bezplameňová termoelektrická atomizácia. V tomto prípade sa teplo vytvára elektrickým rozžeravením grafitovej podložky, na ktorú sa aplikuje malé množstvo vzorky. Vzorka sa s rastúcou teplotou podložky postupne vysušuje, splyňuje a nakoniec atomizuje. V porovnaní s plameňovou atomizáciou je signál menej stály, ale efektívnosť atomizácie je veľmi vysoká. Bezplameňová technika je preto vhodná hlavne na stanovovanie ultranízkych koncentrácií (10-12 g). Na izoláciu žiarenia požadovanej analytickej čiary sa väčšinou používajú jednoduché monochromátory – mriežky a hranoly, pretože výbojka s dutou katódou tvorenou jedným kovom poskytuje jednoduché čiarové spektrum. Ako detektor sa v AAS najčastejšie používa fotonásobič, ktorý sa vyznačuje vysokou citlivosťou v širokom intervale vlnových dĺžok. AAS je vhodná na stanovovanie asi 60 prvkov. Možno ju použiť na stanovovanie širokej škály koncentrácií, dokonca aj na ultrastopovú analýzu. Využíva sa pri analýze anorganických aj organických látok, látok biologickej povahy. Dnes je jej použitie rozšírené v metalurgii, geológii, silikátovej chémii, pri analýze vôd, v agrochémii, ale aj v potravinárstve, v medicíne, pri kontrole životného prostredia a pod. Nevýhodou AAS je použitie veľkého počtu výbojok (pre každý prvok samostatná výbojka). V prípade plameňovej atomizácie musí byť vzorka v kvapalnom stave, avšak mnoho prvkov existuje vo forme pomerne stálych oxidov, ktoré sa nedajú atomizovať plameňom. V tomto prípade treba použiť bezplameňovú atómovú absorpčnú spektrometriu napr. atomovu absorpčnú spektrometriu s elektrotermickou atomizáciou.

Postup

Urobte analýzu dvoch dodaných vzoriek vody. Stanovte Ca, Mg a Cu pomocou AAS. Pre každý prvok urobte kalibráciu prístroja pomocou štandardov. Zmerajte koncentráciu prvkov v oboch vzorkách, prípadne zrieďte vzorky tak, aby sa koncentrácie kovov pohybovali v rozsahu kalibrácie. (Napr. pre stanovene koncentrácie Mg je nutné vzorku zriediť asi 25x) Pre Ca a Mg prepočítajte výsledky v mg/L na „tvrdosť“ v mmol/l Pri nastavení prístroja vychádzajte z návodu k obsluhe a úvodnej inštruktáže. Pred zapálením plameňa skontrolujte,

či ste zapli príslušné plyny – acetylén a vzduch. Pokiaľ sa zapálenie nepodarí, venujte pozornosť chybovým hláseniam. Pri výmene „lampy“, vždy najskôr vypnite jej žeravenie.

2.7 Infračervená spektrometria. Kvalitatívna analýza neznámych vzoriek farbív

Úvod

Infračervená spektroskopia patrí do skupiny nedeštruktívnych analytických metód, kde analyzovaná vzorka nie je samotnou analýzou nijako poškodená, a aj napriek tomu poskytuje informácie o svojom zložení. Získané hodnoty vibračných energií súvisia s pevnosťou chemických väzieb a tiež s molekulovou geometriou a hmotnosťami jadier, čiže s molekulovou štruktúrou. Tieto skutočnosti predurčujú spektroskopiu v infračervenej oblasti ako vynikajúcu experimentálnu techniku, ktorá okrem kvantitatívnej a kvalitatívnej analýzy hrá dôležitú úlohu pri výskume molekulovej dynamiky, chemických vlastností molekúl, vplyvu prostredia na študované molekuly a mnohých iných oblastí. Aj keď je infračervená spektroskopia využívaná pri analýze makroskopických vzoriek, jej podstatou je interakcia častíc (molekúl), ktoré túto vzorku utvárajú, s infračerveným žiarením.

Princíp

Infračervená spektroskopia je založená na meraní absorpcie infračerveného žiarenia vzorkou. Pod infračerveným žiarením rozumieme elektromagnetické žiarenie v rozsahu vlnočtov (najpoužívanejšia jednotka v infračervenej spektroskopii je vlnočet, ktorý je zviazaný s vlnovou dĺžkou vzťahom $\tilde{\nu} = 1/\lambda$ a s frekvenciou $\tilde{\nu} = \nu/c$) 12 500 až 20 cm^{-1} a vlnových dĺžok 800 nm až 0,5 mm (uvedený rozsah je nutné brať s určitou rezervou, neexistujú presné hranice pre vymedzenie infračerveného žiarenia v elektromagnetickom spektre. Boli však zvolené isté hranice, ktoré sa občas v rôznych literárnych prameňoch líšia). Infračervené žiarenie teda na jednej strane nadväzuje na žiarenie viditeľné a na druhej strane na žiarenie mikrovlnné. Podľa zaužívanej konvencie a z praktických dôvodov delíme infračervenú spektroskopiu na tzv. ďalekú (FIR z angl. far infrared), strednú (MIR z angl. middle infrared) a blízku (NIR z angl. near infrared). Pre identifikáciu a určovanie chemickej štruktúry má najväčší význam stredná infračervená oblasť (4000-200 cm^{-1}).Využíva sa predovšetkým na identifikáciu molekúl (kvalitatívna analýza), ako aj na ich stanovenie (kvantitatívna analýza).

Na rozdiel od väčšiny metód, kde sa lúče identifikujú pomocou vlnovej dĺžky λ, v infračervenej spektroskopii sa za rovnakým účelom využíva vlnočet $\tilde{\nu}$. Základný model

popisujúci interakciu medzi vzorkou a elektromagnetickým žiarením považuje molekuly látky za kvantový systém, ktorý sa môže nachádzať len v určitých stavoch s diskrétnymi hodnotami energie. Preto je látka schopná absorbovať resp. emitovať iba elektromagnetické žiarenie s konkrétnymi frekvenciami. Pri prechode z nižšej energetickej hladiny na vyššiu sa žiarenie absorbuje (excitácia), naopak, pri prechode z vyššej hladiny na nižšiu sa žiarenie emituje (deexcitácia). Medzi zmenou energie $\Delta E = E2 - E1$ a frekvenciou ν absorbovaného resp. emitovaného žiarenia platí vzťah:

$$\Delta E = h.\nu = \frac{h.c}{\lambda} \Rightarrow \lambda = \frac{h.c}{\Delta E}$$

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\Delta E}{h.c}$$

kde h je Planckova konštanta ($6{,}625.10^{-34}$ J s), ν – frekvencia pohlteného žiarenia (s^{-1}), c – rýchlosť svetla vo vakuu ($2{,}9976.10^{8}$ m s^{-1}), λ – vlnová dĺžka absorbovaného žiarenia (cm). Z uvedeného vyplýva, že zatiaľ čo λ je nepriamo úmerná, vlnočet $\tilde{\nu}$ je priamo úmerný energii žiarenia a udáva sa v jednotkách cm^{-1} (počet vĺn pripadajúcich na 1 cm).

Každá molekula má množstvo vnútorných energetických stavov. Pre vibračno-rotačnú spektroskopiu sú najdôležitejšie energetické stavy zodpovedajúce rotácii molekuly ako celku a stavy zodpovedajúce vibráciám jadier atómov. Rotačné stavy majú oproti vibračným stavom rádovo menšie energetické rozdiely medzi susednými hladinami, takže detekcia týchto prechodov je náročnejšia. V kondenzovaných sústavách, ako sú kvapaliny a pevné látky, je rotácia molekúl obmedzená alebo úplne znemožnená. V praxi sa teda využívajú vibračno-rotačné prechody, ktoré sa objavujú v blízkej (12 500 – 4 000 cm^{-1}) a strednej (4 000 – 200 cm^{-1}) oblasti infračerveného spektra. Samotné rotačné prechody sa pozorujú v ďalekej (200 – 10 cm^{-1}) infračervenej oblasti, ktorá sa v dôsledku vysokej inštrumentálnej náročnosti využíva v oveľa menšej miere.

Absorpcia fotónu z infračervenej oblasti spektra molekulou spôsobuje prechod molekuly na vyššiu vibračnú hladinu. Súčasne sa mení aj rotačná hladina molekuly. V dôsledku toho je vibračný prechod spojený s absorpciou žiarenia viacerých vlnových dĺžok, ktoré tvoria molekulový absorpčný pás. Absorpčné spektrá sú značne zložité. Sú natoľko charakteristické, že prakticky neexistujú dve zlúčeniny, ktoré by mali úplne rovnaké IČ spektrá. Pomocou IČ-spektra môžeme identifikovať danú látku využitím tzv. knižníc spektier.

SDBS - http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi

FDM Reference Spectra Databases - http://www.fdmspectra.com

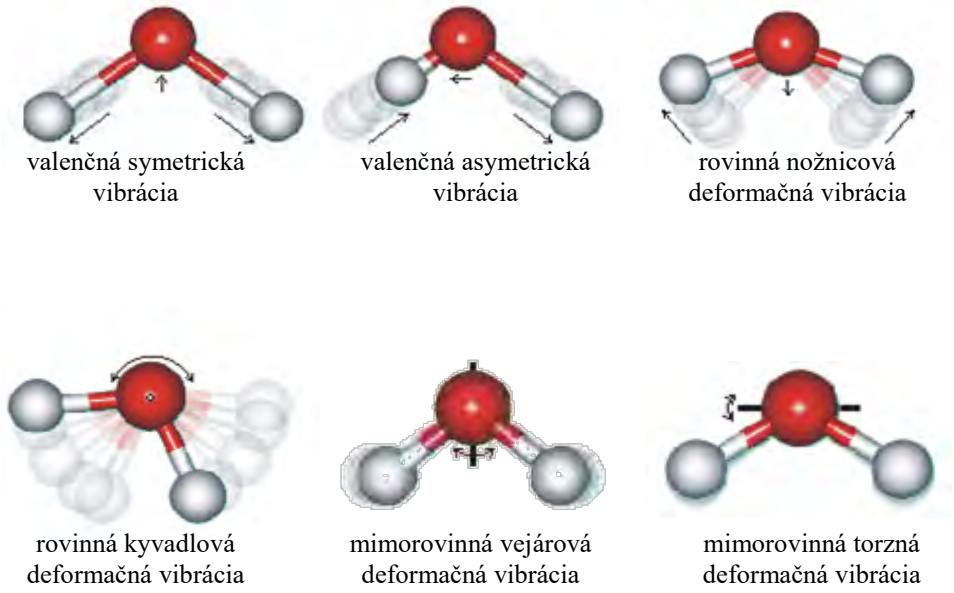
NIST chemistry webbook - http://webbook.nist.gov/chemistry

TeleSpec - Interactive - http://www2.chemie.uni-erlangen.de/services/telespec

ComSpec3D - http://www2.chemie.uni-erlangen.de/services/vrmlvib/index.html

Na druhej strane sa však jednotlivé funkčné skupiny prejavujú v spektre podobne, čiže, analýzou infračerveného spektra je možné zistiť prítomnosť funkčných skupín v molekule, ale taktiež aj vylúčiť výskyt iných funkčných skupín.

Popri rôznych väzbách v molekule, na ktorých dochádza k vibračným prechodom existujú aj rôzne druhy vibrácií (Obr. 8).



Obrázok 8: Valenčné a deformačné vibrácie molekuly.

Interpretácia IČ spektra

1. IČ spektrum skúmame od najvyšších hodnôt frekvencií po tie najnižšie.
2. V prvom rade preskúmame najintenzívnejšie pásy.
3. Sledujeme tvar pásov a ich symetriu.
4. Zohľadňujeme pásy prislúchajúce rozpúšťadlu, prípadne emulzii.

Oblasť charakteristických skupinových vibrácií môžeme rozdeliť na tri skupiny:

- Oblasť valenčných vibrácií X–H (2500 – 4000 cm^{-1})

–OH široký pás medzi 3500-3700 cm^{-1}

–NH 3000-3500 cm^{-1}

–CH 2700-3300 cm^{-1}

- Oblasť valenčných vibrácií trojitých väzieb (2000 – 2500 cm^{-1})

–C≡C 2050-2300 cm^{-1}

–C≡N 2200-2300 cm^{-1}

–X=Y=Z – zlúčeniny s kumulovanými dvojitými alebo trojitými väzbami (–OCN, –NCO, –SCN, –NCS, $–N_3$)

- Oblasť valenčných vibrácií dvojitých väzieb (1500 – 2000 cm^{-1})

–C=C okolo 1650 cm^{-1}

–C=O charakteristický 1650-1830 cm^{-1}

–C=X, –N=O

Stupeň nasýtenia SN (DBE – double bond equivalent)

Stupeň nasýtenia SN (ekvivalent dvojitej väzby alebo úroveň nenasýtenosti) je počet nenasýtení prítomných v organickej molekule. Termín nenasýtenosť znamená dvojitú (trojitú) väzbu alebo kruhový systém. Vyjadruje počet dvojitých väzieb, resp. kruhov (jedna dvojitá väzba alebo jeden kruh je SN = 1), trojitých väzieb (jedná trojitá väzba je SN = 2), aromatických jadier (napr. jedno aromatické jadro benzénu je SN = 4, pretože pozostáva z jedného kruhu a troch dvojitých väzieb), atď. Treba poznamenať, že prítomnosť atómu kyslíka alebo iných dvojväzbových atómov v štruktúre molekuly nemá na SN vplyv. Stupeň nasýtenia je možné vypočítať z molekulového vzorca zlúčeniny podľa vzťahu:

$$SN = C + \frac{N}{2} - \frac{H,X}{2} + 1$$

kde C – súčet celkového počtu uhlíkov a iných štvorväzbových atómov v štruktúre

H, X – súčet počtu vodíkov, halogénov a iných jednoväzbových atómov v štruktúre

N – súčet počtu dusíkov a iných trojväzbových atómov v štruktúre

Tabuľka 4: **Spektrálne rozsahy vybraných funkčných skupín.**

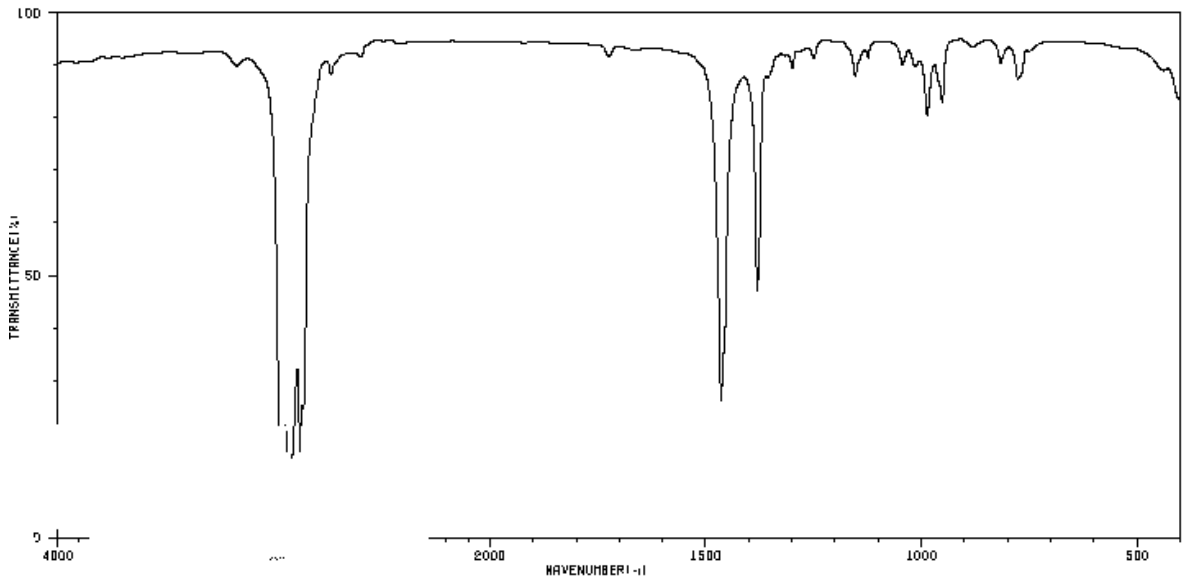
	Valenčné vibrácie			**Deformačné vibrácie**		
	vlnočet (cm^{-1})		**vibrácie**	**vlnočet (cm^{-1})**		**vibrácie**
Alkány	2800-3000	str	CH_3, CH_2, CH 2 alebo 3 pásy	1350-1470 720-725	med wk	CH_2, CH_3 CH_3 deformačné CH_2 kyvadlové
Alkény	3020-3100 1630-1680 1900-2000	med var str	=C-H, =CH_2 C=C sym. C=C asym.	880-995 780-850 675-730	str med med	=C-H, =CH_2 mimorovinné *cis*-RCH=CHR *trans* izomér- silný pás pri 970 (*cis*-slabý alebo vôbec)
Alkíny	3300 2100-2200	str var	C-H C≡C	600-700	str	C-H deformačné
Aromatické zlúčeniny	3000-3100 1500-1600	var med-wk	C-H (prekryté pásy) C=C (v kruhu)	690-900	str-med	C-H deformačné
Alkoholy, fenoly	3580-3650 3200-3550 970-1250	br str	O-H (voľná) O-H (H-viazané) C-O	1330-1430 650-770	med var-wk	O-H rovinné O-H mimorovinné
Amíny	3100-3500 1000-1250	wk med	N-H (primárne, 2 pásy), N-H (sekundárne, 1 pás) C-N	1550-1650 660-900	med-str var	NH_2(prim.) NH_2, N-H
Aldehydy, ketóny	2690-2840 (2 pásy) 1720-1740 1710-1720 1690	med str str str	C-H (ald. C-H) C=O (aldehyd) C=O (ketón) aryl ketón	1350-1360 1400-1450 1100	str str med	α-CH_3 α-CH_2 C-C-C

Karboxyl. kyseliny a ich deriváty	2500-3300 (kys.) prekryv s C-H 1705-1720 (kys.) 1210-1320 (kys.) 1785-1815 (acyl-halogenidy) 1750 a 1820 (anhydridy) 1040-1100 1735-1750 (estery) 1000-1300 1630-1695 (amidy) 3100-3500	str str med-str str str str str str str	O-H (**br**) C=O (H-viazané) HO-C C=O C=O (2-pásy) O-C C=O O-C (2-pásy) C=O N-H (2-pásy)	1395-1440 1590-1650 1500-1560	med med med	C-O-H N-H (primárne) N-H (sekundárne)
Nitro zlúčeniny	1500-1650 1300-1370	med-str med-str	ν_{as} (NO_2) ν_{sym} (NO_2)	500-800	str	NO_2
Kyanidy -C≡N **Izokyanidy** -N≡C **Tiokyanáty** -S-C≡N **Izotiokyanáty** -N=C=S **Alény** C=C=C **Izokyanáty** -N=C=O **Karboimidy** -N=C=N- **Azidy** $-N_3$ **Ketény** C=C=O **Keténimíny** -C=C=N	2200-2300 2120-2200 2140-2180 1990-2140 1930-1950 2250-2275 2120-2160 2080-2170 2150 2000	C≡N (sh) N≡C				

br – broad (široký pás), sh – sharp (ostrý pás), med – medium (stredná intenzita), str – strong (silná intenzita), var – variable (premenlivá intenzita), wk – weak (slabá intenzita)

Príklad

Na základe IČ spektra (obr. 9.) určte štruktúru organickej zlúčeniny s molekulovým vzorcom C_6H_{14}.



Obr. 9. IČ spektrum látky s molekulovým vzorcom C_6H_{14}

Postup riešenia:

Vypočítame stupeň nasýtenia, SN = 0, teda ide o nasýtený uhľovodík. Infračervené spektrum je pomerne jednoduché, v takýchto prípadoch možno porovnať s tabuľkami. Uhľovodík je rozvetvený, pretože sa v spektre nenachádza absorpčný pás pri 720 cm^{-1}. Absorpčný pás pri 1380 cm^{-1} nie je rozštiepený, takže sa v štruktúre nenachádza izopropylová skupina. Priradíme si pozorované absorpčné pásy:

$\tilde{\nu}$ (cm^{-1})	skupina	typ vibrácie
3000 (str)	CH_3–, CH_2–	valenčná
1460 (sh)	CH_3–, CH_2–	deformačná
1380 (sh)	CH_3–	deformačná
775 (wk)	CH_3CH_2–	deformačná

Predpokladaná štruktúra: 3-metylpentán

Pri meraní na infračervenom spektrometri môžeme kvalitu spektra a taktiež informácie, ktoré nám toto spektrum poskytne veľmi významne ovplyvniť tak vonkajšími podmienkami, pri ktorých spektrum meriame, ako aj nastavením parametrov prístroja. Pri

nevhodne upravenej vzorke alebo chybnom nastavení prístroja môže byť výsledné spektrum úplne znehodnotené výskytom deformovaných pásov.

Meranie infračervených spektier sa realizuje na troch základných typoch prístrojov: disperzných, nedisperzných a interferometrických.

Disperzný spektrometer

Zdrojom žiarenia je najčastejšie keramická tyčinka, na ktorej povrchu alebo vnútri je navinutý odporový drôt žeravený na teplotu 1000 až 1400 °C. Toto rozžeravené teleso predstavuje čierne teleso a emituje žiarenie v oblasti infračerveného spektra .Žiarenie prechádza vzorkou, ktorá je umiestnená v transparentnej **kyvete** (halogenidy kovov, predovšetkým alkalických: NaCl, KBr, CsI, CaF_2, TlI, TlBr). Za kyvetou sa lúč privádza na vstupnú štrbinu monochromátora. Funkciou monochromátora je rozklad alebo disperzia infračerveného žiarenia na difrakčnej mriežke, ktorá tvorí spolu so vstupnou a výstupnou štrbinou a kolimačnými zrkadlami monochromátor. Otáčaním difrakčnej mriežky sa na detektor postupne privádza žiarenie vybraného vlnočtu (frekvencie či energie). Ako detektory sa používajú dva základne typy: termoelektrický detektor (elektrický prúd vzniká v dôsledku ohrevu spoja dvoch rôznych kovov dopadajúcim infračerveným žiarením) a pyroelektrický detektor (dopadom infračerveného žiarenia dochádza ku zmene vlastností dielektrika medzi dvoma elektródami a týmto ku zmene kapacity kondenzátora).

Nedisperzný spektrometer

Má v podstate rovnakú konštrukciu ako disperzný typ, ale neobsahuje žiadny disperzný prvok. Monochromatickosť je zaistená už samotnou povahou zdrojov infračerveného žiarenia. Ako zdroje žiarenia sa používajú vysoko monochromatické lasery, či už plynové alebo v posledných rokoch čim ďalej tým častejšie používané pevnolátkové lasery – laserové diody.

Interferometrický spektrometer

Zdrojom žiarenia v interferometrických spektrometroch je rovnako ako v disperznom prístroji keramická tyčinka, ktorá pri zahriati emituje spojité žiarenie v infračervenej oblasti. Na rozdiel od disperzného prístroja obsahuje tento typ spektrometra interferometer pracujúci najčastejšie na princípe Michelsonovho interferometra, ktorého hlavnými súčasťami sú delič lúčov, pohyblivé a pevné zrkadlo. Pre strednú infračervenú oblasť sa ako delič lúčov používa polopriepustné zrkadlo, ktoré je vyrobené depozíciou tenkej germániovej vrstvy na doštičke z

bromidu draselného. žiarenie zo zdroja dopadá pod uhlom 45° na polopriepustný delič lúčov, ktorým prejde lúč s 50% priepustnosťou na pohyblivé zrkadlo. Druhá časť vstupného žiarenia je odrazená smerom k pevnému zrkadlu. Lúče sa spätne odrážajú od obidvoch rovinných, vzájomne kolmých zrkadiel a na deliči lúčov sa podľa aktuálnej polohy pohyblivého zrkadla buď konštruktívne alebo deštruktívne skladajú, tj. dochádza k interferencii. Ku konštruktívnej interferencii dochádza vtedy, keď dráhový rozdiel oboch na delič vracajúcich sa lúčov je celým násobkom vlnovej dĺžky prechádzajúceho žiarenia. Pokiaľ táto podmienka nie je splnená, lúče interferujú deštruktívne, čo vedie k redukcii intenzity, ktorá bude maximálna pre dráhový rozdiel rovný jednej polovici vlnovej dĺžky alebo jej celým nepárnym násobkom. Rekombinovaný lúč je potom odrazený do kyvetového priestoru a potom dopadá na detektor. Signál je na detektore snímaný v závislosti na pohybe zrkadla v interferometri od +δ do -δ. Rýchlosť pohybu zrkadla je preto prispôsobená časovej odozve detektora, závislé od typu použitého detektora. Keďže je na vstupe polychromatické žiarenie, je signál opušťajúci interferometer a dopadajúci na detektor súčtom všetkých konštruktívnych a deštruktívnych interferencii pri všetkých možných frekvenciách. Každý zaznamenaný **interferogram** tak obsahuje všetky spektrálne informácie. Z jedného pohybu zrkadla je získaný jeden interferogram, ktorý sa Furierovou (Fourierovou) transformáciou prevádza z časovej škály do frekvenčnej alebo vlnočtovej na spektrum odpovedajúce jednému skenu. S opakovaným pohybom zrkadla sú zaznamenávane ďalšie interferogramy, z ktorých je potom vypočítavaný priemerný interferogram prevedený Furierovou transformáciou na spektrum, ktoré má na osi *x* vlnočtovú stupnicu. Prístroj pracuje ako jednolúčový, tzn., že pre zistenie transmitancie musíme najskôr získať vlnočtovú závislosť detegovaného signálu pre tok žiarenia dopadajúceho na vzorku (tzv. pozadie, angl. background), potom rovnakú závislosť pre tok ktorý prešiel vzorkou. Až potom pomer týchto hodnôt vedie ku spektru, tj. vlnočtovej závislosti transmitancie, resp. absorbancie, ktoré má pre analytického chemika výpovednú hodnotu.

Najbežnejšie používanými detektormi sú pyroelektrické detektory - deuterovaný triglycinsulfát (DTGS). Drahšie prístroje sú vybavené citlivejším mercury-cadmium-telluride (MCT) detektorom, ktorý vyžaduje chladenie kvapalným dusíkom.

V tejto laboratórnej úlohe sa zoznámite s meraním infračervených spektier pevných látok pomocou infračerveného spektrometra s Furierovou transformaciou (FTIR spektrometer) s tzv. technikou zoslabeného úplného odrazu (ATR).

FTIR spektrometer s ATR technikou

Technika zoslabeného úplného odrazu (ATR) (ATR - Attenuated Total Reflection) je založená na princípe jednoduchého či viacnásobného úplného odrazu žiarenia na fázovom rozhraní meranej vzorky a meracieho kryštálu s dostatočne vysokým indexom lomu. Kryštál je väčšinou planárny, v tvare lichobežníkového hranola, prevažne umiestený v horizontálnom usporiadaní. Na kryštál sa nanáša vzorka. Zväzok lúčov je privedený do kryštálu sústavou zrkadiel tak, aby uhol dopadu na fázové rozhranie vyhovel podmienke úplného (totálneho) odrazu. Meraná vzorka musí byť v dokonalom kontakte s ATR kryštálom kvôli dostatočnému preniku žiarenia vo forme evanescentnej (viazaná na rozhranie, nevyžaruje do okolia) vlny do vzorky. Pokiaľ meraná vzorka absorbuje žiarenie o určitej frekvencii, tak táto zložka bude v totálne odrazenom žiarení zoslabená. Takto získané spektrum sa do značnej miery podobá spektru zmeranému v transmisnom režime, čiže v kyvete. Penetračná hĺbka žiarenia do povrchu vzorky je rádovo v jednotkách μm, tzn. že charakterizujeme len veľmi tenké povrchové vrstvy vzorkovaného materiálu, avšak vzhľadom k možnosti viacnásobného odrazu na fázovom rozhraní získame veľmi kvalitné spektrum, ekvivalentné transmisnému spektru meranému pri hrúbke vzorky rádovo desiatok μm. Malá penetračná hĺbka je naopak výhodou pri meraní silne absorbujúcich vodných roztokov, pretože nedochádza k deformácii tvaru pásmi vody, a teda je ich možné jednoducho odčítať.

ATR je účinná a rýchla technika merania IČ spektier, ktorá oproti transmisnému meraniu v kyvete vyžaduje minimálnu prípravu vzorky pre analýzu. Táto analýza je tak dostatočne rýchla a môže byť automatizovaná.

Úlohy:

1. V chemickom sklade zákazníka došlo vplyvom vlhkosti k odlepeniu etikiet z piatich práškových organických farbív. Analýzou pomocou infračervenej spektroskopie priraďte jednotlivé etikety príslušným farbivám.
2. Zmerajte infračervené spektra daných organických farbív ATR technikou.
3. Identifikujte pásy jednotlivých funkčných skupín v nameraných spektrách.
4. Na základe analýzy infračervených spektier organických vzoriek určte o aké látky sa jedná, prípadne akú majú štruktúru.

Postup

Pred meraním spektra pozadia skontrolujeme, či povrch ATR kryštálu je suchý a čistý. Potom klikneme na ikonu označenú textom „Col Bkg“ a potvrdíme, že je všetko pripravené na meranie spektra pozadia. Behom merania spektra pozadia je možné na monitore sledovať príslušné „priebežné“ jednolúčové spektrum a v spodnej časti okna je vidieť, koľko skenov z celkového požadovaného počtu už bolo odmerané. Po ukončenom meraní už spektrum nie je možné viackrát zobraziť, ale je uložené v pamäti pre porovnávanie s jednolúčovými spektrami následne meraných vzoriek.

Na pracovnom stole si nájdete 5 práškových suchých organických farbív a zoznam ich názvov ako aj molekulových hmotností. Nevie sa však, ktoré farbivo je ktoré.

Naneste veľmi malé množstvo vzorky prvého farbiva (bez hrudiek) na kryštál a kryštál prekryte krytom tak, aby sa látka nemohla behom merania uvoľniť. Zmerajte spektrum vzorky a uložte ho. Potom na kryštál kvapnite maximálne dve kvapky acetónu a odsajte ho vatovou tyčinkou tak, aby sa kryštálu dotkla len špička vaty (jemná vata kryštál neodrie na rozdiel od tyčinky). Nakvapkanie acetónu, ľahké utretie vatou a odparenie zvyšku acetónu minimálne tri krát zopakujte, aby pri spustení „náhľadu spektra“ neboli viditeľné žiadne spektrálne rysy predchádzajúcej vzorky (nedostatočné prepláchnutie acetónom) alebo acetónu (je potrebné počkať na úplne odparenie acetónu). Až potom je možné pristúpiť k meraniu ďalšej vzorky.

Spracovanie výsledkov

Vašou úlohou je určiť pri jednotlivých zmeraných vzorkách o aké farbivá sa jedná. Z dostupných literárnych zdrojov (katalógy, KBU, internet) si zistíte všetky štruktúry farbív uvedených na zozname. Na základe infračerveného spektra asi nezistíte vždy presnú štruktúru, ale zo spektra by ste mali rozlíšiť základný skelet organickej látky, typ substitúcie (pokiaľ je to možné) a príslušné substituenty. Pri interpretácii použite charakteristické vlnočty vibrácií funkčných skupín.

V prípade, že sa Vám na základe vyhodnotenia IČ spektier nepodarí jednoznačne rozlíšiť niektoré z vybraných farbív, skúste použiť ďalší potvrdzujúci resp. vylučujúci analytický údaj (sfarbenie v roztokoch rôznych rozpúšťadiel, vplyv pH, VIS- spektrum a podobne).

3 Plynová chromatografia

Chromatografia (z gréckeho chroma = farba a grafein = písať) je fyzikálno chemická separačná metóda. Jej podstatou je rozdeľovanie zložiek zmesi medzi dvoma fázami:

nepohyblivou (stacionárnou) a pohyblivou (mobilnou), ktoré sa od seba odlišujú niektorou základnou fyzikálno-chemickou vlastnosťou (napr. polaritou). Rozdelenie jednotlivých zložiek zmesi je dôsledkom ich rôznej afinity k týmto dvom fázam.

Chromatografické metódy sa dajú klasifikovať z rôznych hľadísk (z hľadiska mobilnej fázy, mechanizmu separácie, fyzického usporiadania systému, spôsobu vyvíjania chromatogramu). Z hľadiska mobilnej fázy rozlišujeme plynovú chromatografiu GC (gas chromatography), kde mobilnou fázou je plyn a kvapalinovú chromatografiu LC (liquid chromatography), kde mobilnou fázou je kvapalina.

Vznik GC sa datuje rokom 1952, keď A. T. James a A. J. P. Martin publikovali delenie nižších mastných kyselín použitím plynu ako mobilnej fázy a kvapaliny, ako stacionárnej fázy. Použitie plynovej chromatografie v chemickej analýze viedlo k značnému pokroku v mnohých oblastiach analytickej chémie a k zásadným zmenám v organickej analýze. Mnohé analýzy, ktoré sa predtým nedali uskutočniť, alebo boli značne prácne, sa stali pomocou plynovej chromatografie bežnými. Pomocou GC možno získať úplnejšie informácie o kvalitatívnom a kvantitatívnom zložení mnohozložkových zmesí. Plynovou chromatografiou možno analyzovať všetky plynné, kvapalné i tuhé látky, ktoré sú v chromatografických podmienkach prchavé a stabilné, ako i látky, ktoré možno chemickými premenami na takéto upraviť. Plynová chromatografia sa používa najmä ako analytická metóda, umožňuje však uskutočniť i separácie v preparatívnom, resp. výrobnom meradle.

3.1 Kvalitatívna analýza organických kontaminantov vo vode metódou kapilárnej plynovej chromatografie

Cieľom práce je využiť základné princípy plynovej chromatografie na identifikáciu organických kontaminantov – aromatických uhľovodíkov vo vode s použitím extrakcie ako predseparačnej úpravy vzorky.

Úlohy:

1. Vyextrahovať organické kontaminanty zo vzorky vody
2. Určiť retenčné časy štandardov aromatických uhľovodíkov
3. Identifikovať aromatické látky prítomné vo vode po ich extrakcii porovnaním retenčných časov so štandardami

Postup

Podmienky analýzy:

extrakčné činidlo : n-pentán

kolóna: kremenná kapilárna kolóna (nepolárna dimetylpolysiloxánová fáza s hrúbkou filmu 1 μm, dĺžka a vnútorný priemer: 30 m x 0,75 mm)

teplota kolóny : 80 °C

teplota dávkovacieho priestoru : 160 °C

detektor: plameňovoionizačný (FID), citl. 100, teplota 160 °C

nosný plyn : N_2, prietok 37 $ml.min^{-1}$

detektorové plyny: H_2, vzduch

Príprava prístroja na meranie:

Pri uvedení plynového chromatografu do prevádzky treba postupovať podľa manuálu (návodu) výrobcu. Uvedený postup je informatívny a prístroj sa uvádza do chodu len v prítomnosti učiteľa, resp. technika.

Po otvorení ventilu tlakovej fľaše dusíka (nosný plyn) sa nastaví jeho prietok. Prístroj sa zapne do elektrickej siete a na displeji pracovného panela sa nastavia parametre (teplota dávkovacieho priestoru, termostatu (kolóny), detektora, podmienky pre izotermické meranie, resp. teplotný gradient, citlivosť a pod.) potrebné pre meranie. Po zapnutí vyhrievania sa otvoria ventily na tlakových fľašiach pomocných (detektorových) plynov - vodíka a vzduchu a nastaví sa ich prietok. Zápalkou sa zapáli plamienok plameňovo-ionizačného detektora (FID), ktorý možno skontrolovať pomocou lesklého kovového predmetu (napr. pinzeta, skalpel - zarosia sa). Po zvolení vhodnej citlivosti chromatografu sa zapne zapisovač, ktorého nulová poloha sa nastaví na cca 10 % šírky papiera.

Príprava a analýza vzorky:

1. Aromatické látky prítomné vo vode sa extrahujú *n*-pentánom v špeciálnej nádobke. Do extrakčnej nádoby sa naleje 1 liter kontaminovanej vzorky vody, pridá sa 5 ml pentánu a intenzívne sa trepe cca 15 minút. Potom sa vymení sklený uzáver za špeciálny nástavec a do širšieho ramena sa pridáva destilovaná voda až do výšky nástavca. Pentán sa spolu s extrahovanými aromatickými látkami nachádza v úzkom ramene nástavca, odkiaľ sa mikrostriekačkou odoberá extrakt priamo na analýzu (1 μl).

Na izoláciu a zakoncentrovanie aromatických látok prítomných vo vode možno okrem extrakcie v systéme kvapalina-kvapalina použiť aj extrakciu na tuhej fáze (SPE): analyzovaný roztok sa nechá pretiecť cez kolónku so sorbentom, na ktorom sa selektívne a reverzibilne zachytia sledované zlúčeniny, tie sa následne vymyjú malým množstvom vhodného rozpúšťadla (niekoľko ml). Výhodou použitia SPE je úspora rozpúšťadiel, času, jednoduchá manipulácia, vysoká výťažnosť, použitie veľkých objemov vzoriek s malými nákladmi.

Vhodným typom náplne (sorbentom) SPE kolóniek sú v tomto prípade reverzné fázy (C18, oktadecylová skupina viazaná na silikagél) určené pre extrakciu nepolárnych zlúčenín.

2. Príprava štandardov:

Do 3 skúmaviek so zátkami sa odpipetuje 1 ml pentánu. Aromatické uhľovodíky – toluén a xylén sa pridávajú do skúmaviek mikrostriekačkou ponorením jej ihly pod hladinu rozpúšťadla (nie na stenu skúmavky kvôli zabráneniu adsorpcie). Pri zmene štandardu treba mikrostriekačku premyť vhodným rozpúšťadlom a tiež štandardom, ktorý sa bude dávkovať.

1. skúmavka bude obsahovať len n-pentán (slepý pokus)
2. skúmavka pentán + 25 µl toluénu
3. skúmavka pentán + 25 µl xylénu

Štandardy a pentán sa dávkujú do chromatografu použitím mikrostriekačky. Dávkovaný objem je 1 µl. Od okamihu stlačenia piestu striekačky sa meria čas až do dosiahnutia maxima píku, čo je retenčný čas (resp. začiatok analýzy možno označiť aj výchylkou pera v zapisovači). Takto sa určí retenčný čas štandardov a extrahovadla (aspoň z 3 meraní).

Rovnako sa priamo do kolóny nadávkuje aj 1 µl extraktu vody (po dôkladnom premytí mikrostriekačky) a zmerajú sa retenčné časy jednotlivých zložiek vo vzorke.

Identifikácia aromatických látok prítomných vo vode sa uskutoční porovnaním retenčných časov.

Vyhodnotenie výsledkov:

1. Z chromatogramov extrahovadla a štandardov zistite pre každý z analytov elučný čas (aspoň z 3 meraní), hodnoty uveďte do tabuľky.

2. Analogicky zo záznamov extraktu vody stanovte priemerné elučné časy prítomných nečistôt (uveďte do tabuľky).
3. Porovnaním retenčných časov zložiek vo vzorke a štandardov identifikujte aromatické látky prítomné vo vode.
4. Vypočítajte základné chromatografické charakteristiky pre analyzované aromatické látky – retenčný faktor, asymetriu píku, účinnosť kolóny.
5. Pre dvojice susedných píkov vo vzorke vypočítajte ich rozlíšenie (uveďte do tabuľky). Aká je optimálna hodnota pre rozlíšenie?

4 Prietokové systémy

Osobitné postavenie v analytickej chémii majú prietokové systémy, ktoré umožňujú automatizovať a miniaturizovať analytický postup s pomerne vysokou presnosťou a opakovateľnosťou výsledkov stanovení. Sú spojením jednotlivých krokov analytického postupu, ako dávkovanie činidiel, prekoncentrácia, separácia a detekcia. Umožňujú rýchlu a jednoduchú analýzu spolu s rýchlym vyhodnotením dát bez väčšieho zásahu analytika do celého postupu.

Do skupiny prietokových systémov môžeme zaradiť niekoľko techník, ktoré sú ľahko kombinovateľné s rôznymi detekčnými technikami. Patrí tu:

1. Prietoková injekčná technika – pracuje s kontinuálnym jednosmerným prietokom mobilnej fázy, do ktorej sú dávkované činidlá a vzorky.
2. Sekvenčná injekčná technika – pracuje s diskontinuálnym obojsmerným prietokom mobilnej fázy.
3. Sekvenčná injekčná chromatografia – využíva programovateľný prietok mobilnej fázy na vytvorenie elúčneho gradientu pri separácii analytov na monolitickej kolóne.

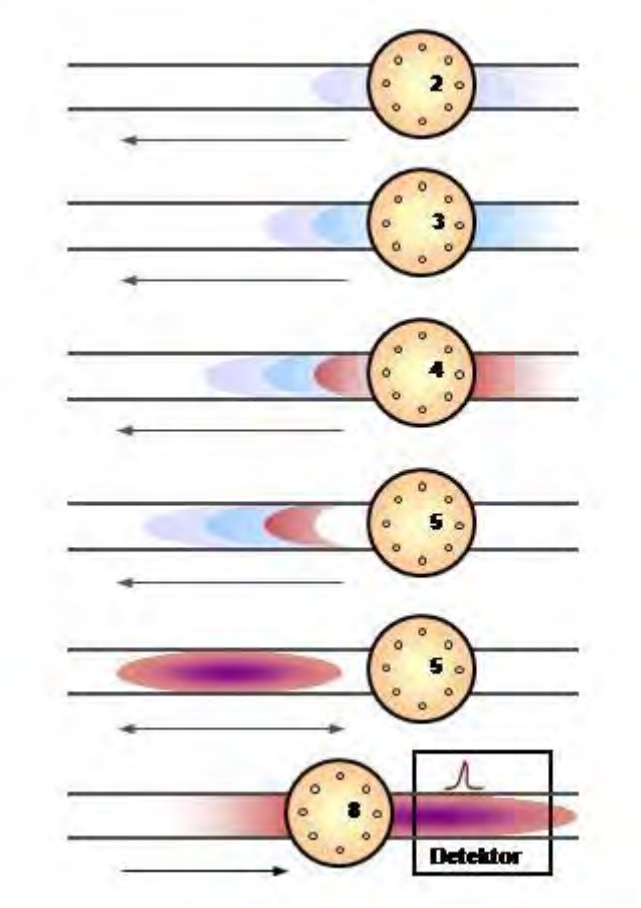
4.1 Sekvenčná injekčná analýza. Spektrofotometrické stanovenie kadmia metódou SIA

Princíp

Základom sekvenčnej injekčnej techniky (SIA) je centrálny port, cez ktorý sú činidlá a vzorky nasávané do systému jednotlivo pomocou piestovej pumpy. Nosný prúd generovaný piestovou pumpou sa môže pohybovať oboma smermi. Po nasatí potrebných množstiev

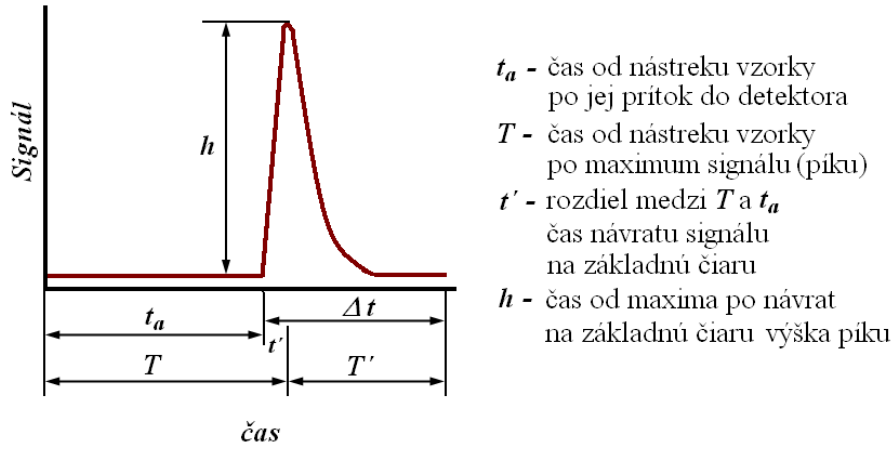
všetkých činidiel vrátane vzorky sa smer toku otočí. Počas reverzného toku dochádza ku dokonalému premiešaniu činidla a vzorky, pričom reakčný produkt vzniká na ich rozhraní ako je to znázornené na obr. 10.

Dávkovanie vzorky a jej prenos prietokovým systémom výrazne ovplyvňujú tvar výsledného píku ako záznamu detektora, tzv. siagramu (obr. 11). Vzorka je do prietokového systému nadávkovaná v podobe úzkej zóny s určitou šírkou – *w*. V priebehu transportu vzorky k detektoru prietokovým systémom však dochádza k rozmývaniu tejto zóny, výsledkom čoho je špecifický tvar FIA píku. Rozmývanie zóny vzorky je výsledkom dvoch procesov: (1) prúdenia v dôsledku prenosu vzorky systémom a (2) difúzie. Prenos vzorky systémom prebieha laminárnym tokom, v ktorom rýchlosť prietoku vzorky na stenách systému je nulová, kým rýchlosť prenosu vzorky v strede je dvakrát vyššia ako je rýchlosť samotného nosného prúdu. Výsledkom takéhoto toku je postupne vznikajúci parabolický tvar zóny nadávkovanej vzorky. K ďalšiemu rozmývaniu zóny vzorky v systéme dochádza kvôli koncentračnému gradientu medzi vzorkou a nosným činidlom. Difúzia nastáva jednak axiálne – v smere toku ako aj radiálne na smer toku nosného prúdu činidla. Na rozmývanie zóny má však vplyv len difúzia prebiehajúca v smere toku nosného prúdu. Tá vedie ku zníženiu rýchlosti prenosu vzorky v strede systému a zároveň zvyšuje rýchlosť prenosu vzorky na jeho okrajoch. Radiálna difúzia má opačný vplyv. Napomáha udržiavať integritu vzorky pri prietoku systémom, bráni úplnému rozmytiu zóny ešte pred prietokom cez detektor a zabezpečuje premiešania vzorky s činidlom. Proces zmeny smeru prietoku znižuje vplyv axiálnej difúzie, čím sa vytvára dobre definovaný koncentračný gradient.



Obr. 10. Schéma jednotlivých krokov SIA analýzy

Správnym nastavením prietoku tak možno získať dostatočný signál na kvantifikáciu analytu v čo najkratšom čase analýzy. Zo šiestich parametrov siagramu (obr. 11) sa pre kontrolu prietoku systému využívajú dva. Výška píku (*h*), ktorá slúži na kvantitatívne určenie analytu a čas návratu maxima píku na základnú čiaru (*T´*), ktorý určuje frekvenciu dávkovania vzoriek. Druhá vzorka môže byť nadávkovaná až po čase *T´* prvej vzorky.



Obr. 11. SIAgram

Optimalizácia prietokového systému

Hodnoty h a T' závisia nielen od chemických parametrov tvorby detekovateľného signálu ako napr. pH prostredia, koncentrácia činidiel, poradie pridávaných činidiel a pod., ale aj od fyzikálnych vlastností prietokového systému. Nakoľko reakčný produkt vzniká na rozhraní vzorky a činidla, je nevyhnutné maximalizovať prekrytie týchto zón počas prietoku na detekciu. Pre maximálne prekrytie zón, je potrebné popri ***prietokových rýchlostiach*** optimalizovať aj ***objemy jednotlivých činidiel a vzorky***. Objemy dávkovaných činidiel závisia od ich počtu. Ak reakčný produkt vzniká zmiešaním dvoch činidiel, dávkujú sa väčšie objemy. V prípade väčšieho počtu potrebných činidiel sa dávkované objemy znižujú kvôli dostatočnému premiešaniu všetkých reakčných zón.

Pri optimalizácii prietokového systému tak platí ***pravidlo individuálneho prístupu k optimalizácii každej analýzy.*** Vyšší analytický signál však možno z pravidla získať podľa SIA protokolu, podľa ktorého pre rýchle chemické reakcie platí:

- rýchla prietoková rýchlosť pre naplnenie a vymývanie systému nosným činidlom (do 200 µl s^{-1});
- pomerne malá prietoková rýchlosť pre dávkovanie činidiel a vzorky (10 µl s^{-1});
- stredná prietoková rýchlosť pre miešanie činidiel a tvorbu produktu (40 µl s^{-1});

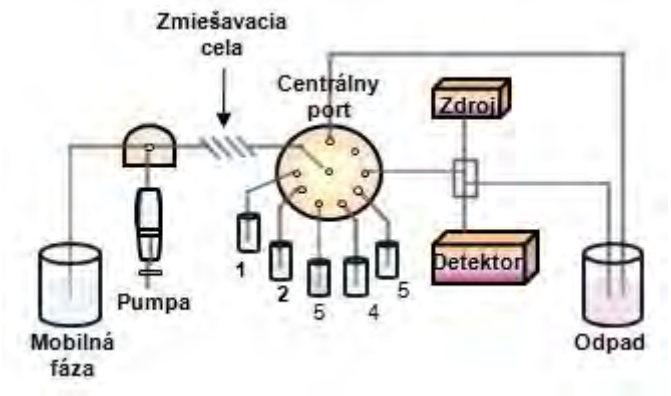
- nízka prietoková rýchlosť pre získanie dát v podobe maxima píku pri prechode reakčného produktu prietokovou celou (20 μl s^{-1}) a pri adsorpcii analytu v kolóne (10 μl s^{-1}).

Inštrumentácia SI systému

Jadrom celého SI systému (obr. 12) je ***centrálny port***, ktorý spája celý prietokový systém od dávkovacej pumpy cez reakčnú celu až k detektoru. Jeho hlavný ventil je pripojený k ***dávkovacej pumpe***, ktorá zabezpečuje dávkovanie činidiel do zmiešavacej cely ako aj dávkovanie nosného činidla pre transport a samotné premývanie SI systému.

Počet portov – ciest, ktorými je možné nasávať je zvyčajne 6 až 12, pričom jeden z portov (obvykle prvý) sa využíva ako pomocný port pre odpad, na vyprázdnenie systému mimo prietokovej cely. Posledný z portov je naopak napojený na detektor. Zvyšné porty sa využívajú pre dávkovanie vzoriek a činidiel. K premiešaniu jednotlivých zón dochádza v ***zmiešavacej cele.***

Spôsob ***detekcie*** nie je v podstate nijako obmedzený. Jeho voľba ja daná vlastnosťami analyzovanej látky. No najviac sa prietokový systém kombinuje s optickými detekčnými technikami, osobitne s UV-Vis detekciou, kde detekčná jednotka zaisťuje kontinuálne monitorovanie roztoku. Vyžaduje si určitú geometriu prietokovej cely, čo je jediná odlišnosť od konvenčne používaných detektorov. Používajú sa prietokové Z-cely, do ktorých sú zavedené optické vlákna prenášajúce svetelný signál k detektoru.



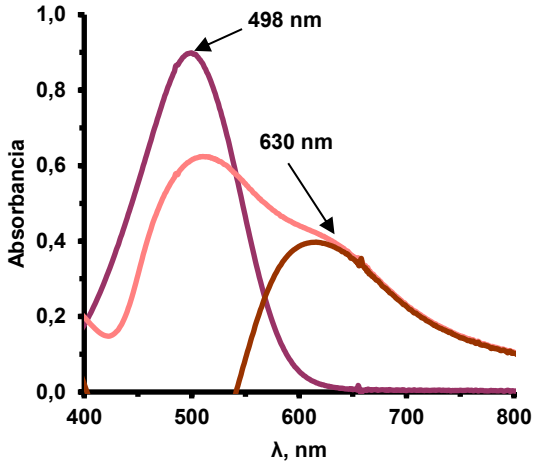
Obr. 12 Základná schéma SIA analyzátora

Stanovenie kadmia v modelových vzorkách vôd sekvenčnou injekčnou technikou

Kadmium je vysoko toxická zložka životného prostredia, ktorá sa do ekosystému dostáva jednak z prírodných zdrojov ako aj v dôsledku ľudskej činnosti. V porovnaní s inými ťažkými kovmi je kadmium a jeho zložky dobre rozpustný vo vode, výsledkom čoho je jeho vyššia mobilita v pôde. Je viac biologicky prístupný s vyššou tendenciou akumulácie v živých organizmoch, vrátane ľudského organizmu. Z týchto dôvodov je kadmium najviac monitorovaný vo vzorkách životného prostredia.

Princíp stanovenia Cd s QR

Spektrofotometrické stanovenie kadmia je založené na vytvorení komplexu kadmia s Quinaldine Red za prítomnosti jodidových aniónov. Vytvorenie komplexu spôsobuje posun absorpčného maxima samotného farbiva z 498 nm, ktoré prislúcha katiónovej forme farbiva na 630 nm (obr. 13), čo prislúcha vzniknutému komplexu.



Obr. 13 Absorpčné spektrá QR a iónového komplexu QR - Cd

Úlohy:

1. Zoptimalizovanie fyzikálnych parametrov SIA systému pre spektrofotometrické stanovenie kadmia
2. Zistenie koncentrácie Cd vo vzorke metódou kalibračnej krivky

Chemikálie:

$Cd(NO_3)_2.4H_2O$, KI, Farbivo QR

1. Príprava 25 ml 10^{-2} M zásobného roztoku Cd(II)

Po odvážení vypočítaného množstva $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ na analytických váhach a jeho rozpustení v malom množstve vody sa roztok kvantitatívne preleje do 25 ml odmernej banky a doplní sa destilovanou vodou po rysku.

2. Príprava 25 ml 10^{-3} M pracovného roztoku Cd(II)

Pracovný roztok Cd(II) s koncentráciou 4.10^{-5} M sa pripraví postupným riedením jeho zásobného roztoku.

3. Príprava 25 ml kalibračných roztokov Cd

Kalibračné roztoky v koncentračnom rozsahu 1,12 – 11,24 mg l^{-1} Cd o objeme 25 ml sa pripravia zo zásobného roztoku.

4. Príprava 25 ml 5.10^{-2} M KI

Po odvážení vypočítaného množstva KI jeho rozpustení v malom množstve vody sa roztok kvantitatívne preleje do 25 ml odmernej banky a doplní sa destilovanou vodou po rysku.

5. Príprava 25 ml 10^{-3} M farbiva QR

Po odvážení presného množstva farbiva QR na analytických váhach a jeho rozpustení v malom množstve metanolu (1-2 kvapky) sa roztok kvantitatívne preleje do 25 ml odmernej banky a doplní sa destilovanou vodou po rysku.

Postup

Podľa manuálu sa pomocou príslušného softwaru napíše nasledovný program.

Na začiatok sa rýchlosťou 100 µl s^{-1} natiahne z rezervoára do pumpy 500 µl vody. Následne sa pomocou jednotlivých portov nadávkujú činidlá s počiatočnou prietokovou rýchlosťou 30 µl s^{-1} v poradí: 60 µl 5.10^{-2} M KI, 50 µl roztoku Cd, 50 µl 10^{-3} M QR a 100 µl H_2O. Nadávkované roztoky sa premiešajú 3-krát obojsmerným posunom zóny 30 µl. Po premiešaní sa reakčný produkt posunie prietokovou rýchlosťou 30 µl s^{-1} na detekciu pri vlnovej dĺžke 630 nm.

1. Pri optimalizácii fyzikálnych parametrov použijeme pracovný roztok Cd s koncentráciou 4.10^{-5} M a postupujeme nasledovne:

a) optimalizácia objemu činidiel:

Sledujeme zmenu signálu v závislosti od zmeny objemu dávkovaných činidiel KI a QR od 30 – 70 µl tak, že zmena signálu od zmeny objemu KI sledujeme pri konštantnom objeme 50 µl 10^{-3} M QR a zmenu signálu od zmeny objemu QR sledujeme pri konštantnom objeme 60 µl 5×10^{-2} M KI. Prietoková rýchlosť sa v tomto kroku nemení a nastaví sa na 30 µl s^{-1}.

b) optimalizácia prietokovej rýchlosti

Sledujeme zmenu signálu v závislosti od zmeny rýchlosti prietoku reakčného produktu prietokovou celou v rozpätí od 10 – 40 µl s^{-1}, pričom sa použijú zoptimalizované objemy dávkovaných činidiel z predošlého kroku.

Každý optimalizačný krok sa opakuje 3-krát. Z nameraných hodnôt absorbancie sa vypočíta RSD (%). Ako optimálny parameter sa volí parameter s najvyššou hodnotou absorbancie a najjnižšou hodnotou RSD (%). Hodnota RSD (%) je ukazovateľom opakovateľnosti stanovenia.

2. Zostrojenie kalibračnej závislosti

Na určenie koncentrácie neznámej vzorky sa použije metóda kalibračnej krivky. Na kalibráciu sa pripraví 5 kalibračných roztokov Cd(II) v rozsahu od 1,12 – 11,24 mg l^{-1} Cd. Ako slepý pokus sa nadávkuje 50 µl H_20. Po nameraní kalibračných roztokov sa určí absorbancia vzorky (dávkuje sa 50 µl).

Z nameraných hodnôt absorbancie kalibračných roztokov sa vynesie kalibračná závislosť A = f(c). Z danej závislosti sa určí neznáma koncentrácia vzorky (z rovnice priamky kalibračnej závislosti).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Taťána Gondová a kol.: Praktikum z analytickej chémie, PF UPJŠ, Košice, 1999
2. Spektrálna databáza SDBS: http://sdbs.db.aist.go.jp (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 4.7.2017), *Spectral Data of Organic Compounds,* 2017.
3. Devínsky Ferdinand a kol.: Organická chémia pre farmaceutov, Osveta, Martin, 2001, ISBN: 80-8063-056-9
4. Holzbecher Záviš, Churáček Jaroslav a kol.: Analytická chemie, SNTL, Praha, 1987.
5. Milata Viktor, Segľa Peter, Gatial Anton, Šima Jozef, Kováčik Vladimír: Spektrálne tabuľky pre riešenie úloh a problémov z molekulovej spektroskopie, STU, Bratislava, 2009
6. Zdenka Bedlovičová a kol.: Cvičenia zo spektrálnej analýzy organických zlúčenín a liečiv, UVLF, Košice, 2017.
7. J. Růžička, *Flow Injection Analysis*, 3rd ed., CD-ROM Tutorial, Published by FIAlab Instruments, Inc., 2004. Available free of charge at www.flowinjection.com.
8. J. Růžička. *From Beaker to Programmable Microfluidics.* In: Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniqoues, edt. S. D. Kolev, I. D. McKelvie, Elsevier Wlison& Wilson's, USA, vol. 54, 2008.

Pokročilé praktikum z analytickej chémie

Vysokoškolský učebný text

Autori: RNDr. Rastislav Serbin, PhD.
RNDr. Jana Šandrejová, PhD.

Vydavateľ: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Umiestnenie: http://unibook.upjs.sk

Dostupné od: 15.12.2017

Vydanie: prvé

Rok vydania: 2017

Počet strán: 59

Rozsah: 3,02 AH

ISBN 978-80-8152-573-5