

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
KATEDRA ANORGANICKÉ TECHNOLOGIE

**Stanovení fluoridových iontů v anorganických solích
potravinářské kvality**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Marcela Agosztová

VEDOUCÍ PRÁCE: Ing. Petr Bělina, Ph.D.

2011

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF INORGANIC TECHNOLOGY

**Determination of fluoride ions in inorganic salts of
food quality grade**

BACHELOR THESIS

AUTHOR: Marcela Agosztová

SUPERVISOR: Ing. Petr Bělina, Ph.D.

2011

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Marcela AGOSZTOVÁ**
Osobní číslo: **C07036**
Studijní program: **B2802 Chemie a technická chemie**
Studijní obor: **Chemie a technická chemie**
Název tématu: **Stanovení fluoridových iontů v anorganických solích potravinářské kvality**
Zadávací katedra: **Katedra anorganické technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Soli kyseliny fosforečné jsou hojně využívány v potravinářském průmyslu. Jedním z aniontů, který je velmi často doprovází a je nutné jej sledovat, jsou fluoridy. Ve své bakalářské práci se zaměřte na následující:

1. Vypracujte přehled analytických metod pro stanovení fluoridů.
- 2-. Pokuste se vypracovat jednoduchou analytickou metodu s využitím iontové chromatografie pro stanovení fluoridů v některých solích kyseliny fosforečné, která by mohla nahradit dosud používané měření ISE elektrodou.
3. Dosažené výsledky se snažte statisticky vyhodnotit.


Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Petr Bělina, Ph.D.**
Katedra anorganické technologie

Datum zadání bakalářské práce: **25. února 2011**
Termín odevzdání bakalářské práce: **24. června 2011**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.


doc. Ing. Ladislav Svoboda, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 25. února 2011

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 24. 6. 2011

Marcela Agosztová

Ráda bych tímto poděkovala především vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Petru Bělinovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky během mé práce. Dále bych ráda poděkovala paní Olze Erbenové za pomoc při získávání experimentálních výsledků. Mé poděkování patří rovněž i mé rodině za jejich trpělivost a finanční i psychickou podporu v průběhu celého studia.

Abstrakt

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku fluoridových iontů obsažených ve fosforečnanových solích potravinářské kvality, dodané od společnosti FOSFA a. s. a na jejich metody stanovení. První část této práce je věnována fosforečnanům, jejich základním vlastnostem, struktuře a využití nejen v potravinářství, ale i průmyslu a domácnostech. Druhá část bakalářské práce je věnována možnostem stanovení fluoridových iontů, zabývá se jednotlivými metodami pro jejich stanovení. Další část práce je věnována stanovení fluoridových iontů jednoduchou analytickou metodou s využitím iontové chromatografie.

Klíčová slova

fosforečnany, iontová chromatografie, fluoridy, ISE

Abstract

This bachelor work is focused on problematic of fluoride ions included in phosphate salts of food duality grade, delivered by FOSFA a. s. company, and its determination methods. First part is devoted to phosphates, its basic properties, structure and its usage in grocery, industry and household. The second part of this bachelor work is devoted to fluoride ions determination options and is concerned with individual determination methods. Next part is focused on fluoride ions determination with simple analytic method with ion chromatography usage.

Keywords

phosphates, ion chromatography, fluoride, ISE

Obsah

ÚVOD	12
TEORETICKÁ ČÁST	13
1 FOSFOREČNANY	13
1.1 CHEMICKÁ STRUKTURA FOSFOREČNANŮ	13
1.2 VLASTNOSTI A VYUŽITÍ FOSFOREČNANŮ	14
2 ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ FLUORIDŮ	16
2.1 STANOVENÍ FLUORIDŮ METODOU ISE	16
2.1.1 Iontově - selektivní elektrody	16
2.1.2 Fluoridová iontově-selektivní elektroda	17
2.1.3 Přímá potenciometrie	18
2.1.4 Potenciometrické titrace	18
2.2 ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE	18
2.2.1 Základní fyzikální principy	19
2.2.2 Absorpční spektrum	20
2.2.3 Absorpční spektrofotometr	21
2.3 IZOTACHOFORÉZA	22
2.3.1 Izotachoforetický proces	22
2.3.2 Experimentální uspořádání	22
3 IONTOVÁ CHROMATOGRAFIE	24
3.1 PRINCIP CHROMATOGRAFIE	24
3.1.1 Měníče iontů	25
3.1.2 Základní charakteristiky chromatografického procesu	25
3.2 CHROMATOGRAFICKÝ SYSTÉM	26
3.2.1 Zásobníky mobilní fáze	27
3.2.2 Čerpadla mobilní fáze	27
3.2.3 Dávkovací zařízení	27
3.2.4 Chromatografické kolony	28
3.2.5 Detektory	29
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
4 STANOVENÍ MNOŽSTVÍ FLUORIDŮ VE VZORCÍCH FOSFOREČNANŮ POTRAVINÁŘSKÉ KVALITY	32
4.1 STANOVENÍ CELKOVÉHO FOSFORU SPEKTROFOTOMETRICKOU METODOU	32
4.1.1 Princip metody	32
4.1.2 Přístroje a zařízení	32

4.1.3	<i>Použité chemikálie</i>	33
4.1.4	<i>Příprava činidel a standardních roztoků</i>	34
4.1.5	<i>Příprava kalibračních roztoků</i>	34
4.1.6	<i>Příprava vzorků pro stanovení celkového fosforu</i>	34
4.1.7	<i>Vlastní měření</i>	35
4.2	STANOVENÍ MNOŽSTVÍ FLUORIDŮ VE VZORCÍCH FOSFOREČNANŮ POMOCÍ IONTOVÉ CHROMATOGRAFIE.....	35
4.2.1	<i>Princip metody</i>	35
4.2.2	<i>Přístroje a zařízení</i>	36
4.2.3	<i>Použité chemikálie</i>	37
4.2.4	<i>Příprava mobilních fází pro výběr optimálních podmínek</i>	38
4.2.5	<i>Příprava standardních roztoků</i>	39
4.2.6	<i>Příprava kalibračních roztoků</i>	39
4.2.7	<i>Příprava vzorků pro stanovení</i>	40
4.2.8	<i>Stanovení množství F^- v závislosti na iontové síle</i>	40
4.2.9	<i>Stanovení množství PO_4^{3-} v závislosti na iontové síle</i>	40
4.2.10	<i>Stanovení množství F^- v závislosti na pH</i>	41
4.2.11	<i>Stanovení množství F^- ve vzorcích fosforečnanů</i>	41
4.3	STANOVENÍ MNOŽSTVÍ FLUORIDŮ VE VZORCÍCH FOSFOREČNANŮ POMOCÍ ISE.....	41
4.3.1	<i>Princip metody</i>	41
4.3.2	<i>Přístroje a zařízení</i>	42
4.3.3	<i>Použité chemikálie</i>	42
4.3.4	<i>Příprava standardního roztoku $Na_4P_2O_7$</i>	42
4.3.5	<i>Příprava kalibračních roztoků</i>	43
4.3.6	<i>Příprava vzorků pro stanovení</i>	43
4.3.7	<i>Vlastní měření</i>	43
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	44
5.1	STANOVENÍ CELKOVÉHO FOSFORU VE VZORCÍCH.....	44
5.1.1	<i>Měření kalibračních závislostí</i>	44
5.1.2	<i>Stanovení celkového fosforu ve vzorcích</i>	44
5.2	STANOVENÍ MNOŽSTVÍ FLUORIDŮ VE VZORCÍCH FOSFOREČNANŮ POMOCÍ IONTOVÉ CHROMATOGRAFIE.....	46
5.2.1	<i>Závislost retence aniontů na iontové síle mobilní fáze</i>	46
5.2.2	<i>Závislost retence aniontů na pH mobilní fáze</i>	46
5.2.3	<i>Měření kalibračních závislostí</i>	48
5.2.4	<i>Stanovení fluoridových iontů ve vzorcích</i>	48
5.3	STANOVENÍ MNOŽSTVÍ FLUORIDŮ VE VZORCÍCH FOSFOREČNANŮ POMOCÍ ISE ELEKTRODY.....	50
5.3.1	<i>Stanovení fluoridových iontů ve vzorcích</i>	50
	ZÁVĚR	52

POUŽITÁ LITERATURA	53
SEZNAM ZKRATEK	56
PŘÍLOHA	57

Úvod

Soli kyseliny fosforečné jsou hojně využívány v potravinářském průmyslu. Jedním z aniontů, který je velmi často doprovází a je nutné jej sledovat, jsou fluoridy. Kyselina fosforečná se vyrábí hlavně tzv. termickým procesem, který spočívá ve spalování roztaveného žlutého fosforu ve směsi vzduchu a vodní páry, což je nejčistší způsob výroby kyseliny fosforečné a díky tomu je využívána především v potravinářském průmyslu. Druhou možností její výroby je tzv. extrakční (mokrá) proces. Postup je založen na rozkladu přírodních fosforečnanů, nejčastěji apatitu s obsahem fluoru minerální kyselinou, nejběžněji H_2SO_4 . Každý přírodní fosfát obsahuje až několik procent fluoru ve formě anorganických sloučenin. Vzniklá kyselina fosforečná je znečištěná prvky přítomnými ve fosforečnanu. Z ekonomických důvodů je však 95% veškeré kyseliny fosforečné vyráběno na mokré cestě.

Všechny potraviny obsahují alespoň stopy fluoridů. Většina potravin obsahuje okolo 0,2 - 0,3 mg /kg, mořské ryby 5-15 mg/kg. Nezbytný denní příjem je 1,5-4 mg. Větší dávky mohou vést k předávkování fluorem. Navíc je třeba mít na paměti, že fluorid je kumulativní jed, který se dokáže hromadit v těle několik let. V organismu člověka se hlavně vyskytuje v kostech a zubech. Nejdůležitějším zdrojem fluoru, je pitná voda. Voda s méně než 0,5 mg fluoru na litr má fluoru málo, obsah 1 až 1,5 mg/l odpovídá množství zdravotním limitům, ale vyšší obsah je už značně škodlivý. Nadměrný pravidelný vysoký příjem fluoru by mohl poškodit naše zuby, může dojít k poškození ledvin a nervového systému. Při přebytku fluoru se jeho soli akumulují v kostech, dochází ke vzniku osteosklerózy, což je nadměrné ztvárnění, změna růstu, zbytnění a tuhnutí kloubů, kostní výrůstky. Velké dávky fluoru vychytávají hořčík z krve, tím mobilizují vápník z kostí, takže je odvápnují a způsobují řídnutí kostí. Nedostatek fluoru způsobuje menší vzrůst, ztrátu vlasů a poruchy ve vývoji zubů.

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou fluoridových iontů obsažených v některých solích kyseliny fosforečné a jednotlivými metodami pro jejich stanovení.

Teoretická část

1 Fosforečnany

Fosforečnany jsou soli odvozené od kyseliny trihydrogenfosforečné, vznikající neutralizací této kyseliny zásadami. Tvoří skupinu sloučenin, pro něž je společné to, že obsahují aniont $(\text{PO}_4)^{3-}$. Vzhledem k jednotlivým formám kyseliny fosforečné se tvoří několik řad těchto solí. V přírodě se vyskytují v mnoha minerálech a živých soustavách. Nejvýznamnější skupinou minerálů v chemickém průmyslu jsou apatity. Mezi běžné patří fluoroapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, chloroapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ a hydroxoapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. Mikroskopické krystalky apatitu se nacházejí i v lidském těle. Součástí kostí je hydroxylapatit, v zubech je fluorapatit. V biologických systémech se fosforečnany nacházejí v iontové formě, vznikající hydrolyzou difosforečnanu. Hydrolyza makroergických fosforečnanů, jako jsou adenosinfosfáty, fosfoenolpyruvát a kreatinfosfát, umožňuje realizaci energeticky náročných biosyntetických reakcí.

1.1 Chemická struktura fosforečnanů

Kyselina fosforečná je schopná tří disociací, tří ztrát H^+ iontů. Fosforečnan vzniká při ztrátě všech tří vodíkových kationtů.



Fosforečnanový iont má strukturu čtyřstěnu. Skládá se z centrálního atomu fosforu, okolo kterého jsou rozmístěny čtyři totožné atomy kyslíku. Formální náboj tohoto iontu je 3^- . Konjugovanou bází fosforečnanu je hydrogenfosforečnan HPO_4^{2-} , který má konjugovanou bází dihydrogenfosforečnanu H_2PO_4^- . Fosforečnany se tedy mohou vyskytovat ve formě fosforečnanů (PO_4^{3-}), hydrogenfosforečnanů (HPO_4^{2-}) a dihydrogenfosforečnanů (H_2PO_4^-). O tom, v jaké formě se budou vyskytovat, rozhoduje pH roztoku.

Podle chemické struktury rozlišujeme fosforečnany jednoduché, obsahující jednotlivé PO_4^{3-} skupiny a fosforečnany kondenzované, s vazbami $-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-$. Soly kyseliny fosforečné, obsahující jednu skupinu $(\text{PO}_4)^{3-}$, označujeme jako orthofosforečnany, které za vysoké teploty dále kondenzují na vyšší struktury. Při vysoké teplotě dochází ke ztrátě vody

dvěma sousedními hydroxylovými skupinami dvou různých orthofosforečnanů a k jejich kondenzaci, tedy ke vzniku polymeru. Ze dvou monomerů vzniká dimer nazývaný pyrofosforečnan.

Pokud se polymerací účastní delší řetězce fosforečnanů, vznikají polymery s více jak dvěma fosfory v molekule a tím jsou získány polyfosforečnany. Každá $(\text{PO}_4)^{3-}$ skupina může sdílet až tři své atomy kyslíku s třemi jinými $(\text{PO}_4)^{3-}$ skupinami, proto mohou kromě lineárních řetězců polyfosforečnanů vznikat prostorově větvené ultrafosforečnany anebo metafosforečnany s uzavřenými cykly v řetězci. [6]

1.2 Vlastnosti a využití fosforečnanů

Většina ortofosforečnanů, hydrogen- a dihydrogenfosforečnanů je za normální teploty a tlaku rozpustná ve vodě, výjimkou je fosforečnan lithný. Fosforečnany mohou podlehnout hydrolýze, ta je urychlována zvýšenou teplotou nebo změnou hodnoty pH. Polyfosforečnany jsou stabilní ve vodných roztocích v alkalickém a neutrálním prostředí při 25 °C. Ve vysoce kyselém prostředí se polyfosforečnany mohou náhodně štěpit v celém řetězci. Intenzita hydrolytických pochodů se snižuje s klesající koncentrací roztoků. [7]

Velmi důležitou vlastností fosforečnanů je úprava pH prostředí. Kromě úpravy pH prostředí vykazují některé fosforečnany i pufrovací schopnost, je to schopnost stabilizovat pH systému vůči okolním vlivům. Fosforečnany mají také schopnost odštěpovat se z prostředí a vázat na sebe monovalentní i polyvalentní kationty kovů. Chelatace je podporována rostoucím pH, zvýšenou teplotou, a počtem molekul ortofosforečnanu.

Fosforečnany v potravinách podstatně ovlivňují zejména vlastnosti přítomných proteinů, a to prostřednictvím úpravy podmínek v prostředí (např. změnou pH, odštěpením, resp. výměnou kationtů apod.). Dále fosforečnany uplatňují svůj vliv prostřednictvím reakcí, při nichž se naváží na bílkoviny, a tak rovněž změny jejich vlastností (např. schopnost hydratace, bobtnání, tvorby gelu apod.). [6]

Fosforečnany nacházejí rozmanité využití v domácnostech i průmyslu. Nejběžněji používanými sloučeninami jsou různé fosforečnany sodné (Na_3PO_4 , Na_2HPO_4), draselné (KH_2PO_4), amonné ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) a vápenaté. Na_3PO_4 byl součástí pracích prášků, odstraňovačů nátěrů a zmýdelňujících tuků. Na_2HPO_4 je používán jako součást tlumivých roztoků nebo jako emulgátor při výrobě sýra zpracovaného pasterizací. KH_2PO_4 má uplatnění jako inhibitor koroze v automobilových chladičích. $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ a $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

jsou využívány jako speciální hnojiva a výživy do půd. Fosforečnany vápenaté jsou využitelné jako potravinářské přísady v prášcích na pečení, do krmiv pro zvířata a přísady do zubních past. Hlavní význam má kombinace Ca a PO_4 , která je nezbytná pro výživu kostí, zubů, svalů a nervových buněk.

Fosforečnany jsou používány také jako aditiva, která ochraňují a vylepšují kvalitu potravin v mnoha potravinářských oborech - zejména při zpracování masa, mořských plodů, v mlékárenství a pekárenství. Mezi nejběžněji používané aditiva patří různé fosfáty sodné (např. Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) a draselné (např. $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, K_2HPO_4), které jsou využívány jako víceúčelové přísady v potravinářském průmyslu. NaH_2PO_4 je využíván jako stabilizátor zbarvení výrobků z vajec, činidlo pro úpravu pitné vody a přísada do zubních past. Na_2HPO_4 má využití především jako emulgační a pufrační činidlo pro výrobu taveného sýra a jako přísada zabraňující rosolovatění mléka. $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ působí jako pufr, emulgační činidlo, dále je využíván při zpracování masa, ryb, v mlékárenském průmyslu a také pro úpravu krmiv pro domácí zvířata. $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ je využitelný jako emulgátor a pufr při zpracování masa, ryb, sýrů a také jako želatinové činidlo v instantních pudincích a dezertech. $\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ působí jako pufr, emulgační činidlo, je využíván také při zpracování masa, ryb a pro úpravu krmiv pro domácí zvířata. K_2HPO_4 je používán jako pufrační činidlo a zejména jako stabilizátor v práškových smetanách do kávy, kde zabraňuje koagulaci bílkovin. [8]

2 Analytické metody pro stanovení fluoridů

Existuje mnoho metod pro stanovení fluoridů. Fluoridy lze stanovit například iontově – selektivní elektrodou (ISE), spektrofotometrickou metodou, izotachoforeticky, metodami založenými na spektrometrii atd.

2.1 Stanovení fluoridů metodou ISE

Potenciometrie (měření metodou ISE) je elektrochemická metoda, při které se měří rozdíl potenciálů (elektromotorické napětí, ΔE) článku složeného z indikační a referentní elektrody. Potenciál indikační (měrné) elektrody je závislý na aktivitě analytu obsaženého ve zkoumaném roztoku. Potenciál referentní (srovnávací) elektrody je konstantní a nezávislý na složení měřeného roztoku. Napětí mezi oběma elektrodami je měřeno digitálním voltmetrem s velkou vstupní impedancí při prakticky nulovém proudu. [9]

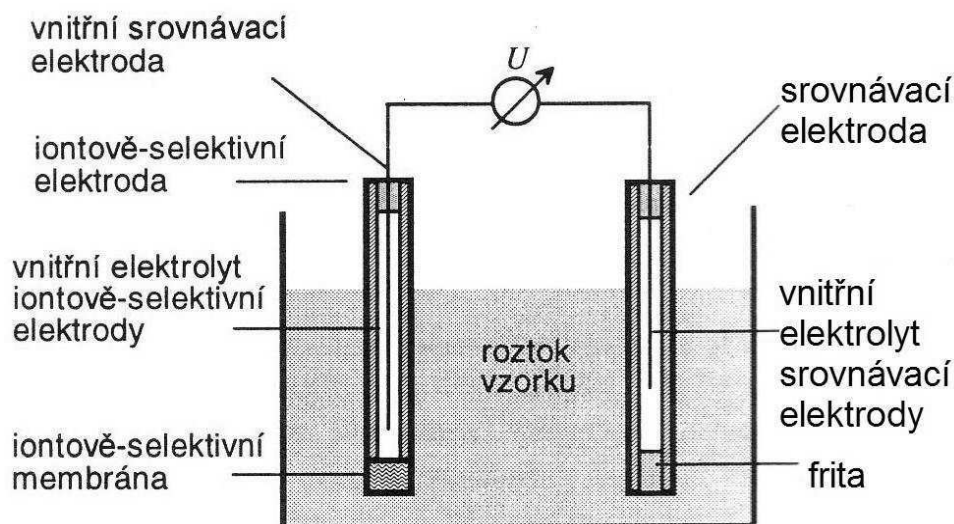
2.1.1 Iontově - selektivní elektrody

Iontově - selektivní elektrody využívají vzniku potenciálu na membránách, které jsou selektivně propustné pouze pro určité ionty. Ionty vstupující do membrány, způsobují vznik potenciálového rozdílu mezi povrchem membrány a okolním roztokem. V důsledku toho se na membráně vytváří potenciál (Donnanův potenciál). Potenciál ISE závisí na aktivitě sledovaných iontů v roztoku, popisuje jej Nicolsky-Eisenmanova rovnice: [10]

$$E = K + \frac{RT}{z_i F} \ln \left(a_i + \sum_j (k_{ij} a_j^{z_i/z_j}) \right) \quad (4)$$

kde K je standardní potenciál iontově - selektivní elektrody, R molární plynová konstanta ($8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$), T termodynamická teplota, F Faradayova konstanta ($96500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$), z_i nábojové číslo iontu, a_i aktivita iontu v měřeném roztoku, z_j nábojové číslo interferujícího iontu, a_j aktivita interferujícího iontu a k_{ij} je konstanta selektivity.

Běžná iontově – selektivní elektroda je tvořena membránou, která odděluje vnější měřený a vnitřní roztok. Zapojení elektrod v systému je znázorněno na obrázku 1. Roztoky obsahují ionty, pro které je membrána selektivní. Membránový potenciál je rozdílem Donnanových potenciálů na obou stranách membrány. Ve vnitřním roztoku je ponořena vnitřní srovnávací elektroda, pomocí níž je ISE napojena na měřicí přístroj. [10]



Obr. 1: potenciometrické měření iontově-selektivní elektrodou [10]

Existuje mnoho ISE lišících se konstrukcí, typem membrány aj. Typickými představiteli membránových ISE jsou skleněná elektroda (selektivní na H^+ ionty), enzymové elektrody (katalyzují určité reakce), amoniaková elektroda, či fluoridová elektroda (selektivní na F^- ionty).

2.1.2 Fluoridová iontově-selektivní elektroda

Fluoridová ISE se skládá z vnitřní referenční argentochloridové elektrody ($Ag/AgCl$), vnitřního roztoku ($NaF + KCl$) a vlastní membrány. Membrána je tvořena monokrystalem fluoridu lanthanitého (LaF_3) s příměsí fluoridu europia (EuF_2) a odděluje vnější (měřený) a vnitřní roztok. Zabudováním EuF_2 do krystalové mřížky LaF_3 vznikají volná místa po chybějícím fluoridovém aniontu, která mohou být zaplňována právě sousedními fluoridovými anionty. Důsledkem tohoto jevu je membrána výrazně selektivní k fluoridovému aniontu a zároveň také dochází ke zvýšení elektrické vodivosti této membrány. Referenční elektrodou jsou obvykle buď kalomelová ($Hg/Hg_2Cl_2, KCl$), nebo argentochloridová ($Ag/AgCl$) elektroda. [9]

Při přímém potenciometrickém stanovení fluoridů je měřeno elektromotorické napětí článku (ΔE), tvořeného fluoridovou ISE a referenční kalomelovou elektrodou. Potenciometrické stanovení fluoridů může být prováděno v přítomnosti roztoku TISAB („Total Ionic Strength Adjustment Buffer“), který udržuje konstantní iontovou sílu, upravuje pH na konstantní hodnotu v rozmezí 5 až 6 a maskuje ionty, které tvoří s fluoridy komplexy (Fe^{3+} , Al^{3+} a další). [9]

2.1.3 Přímá potenciometrie

Koncentrace stanovované látky je určována přímo z elektromotorického napětí článku. Pro měření je zvolena měrná elektroda, jejíž potenciál závisí na koncentraci iontů, které mají být stanoveny. Využívány jsou převážně ISE elektrody. Po přidání srovnávací elektrody je změřeno napětí článku a tím přímo určen obsah stanovované složky.

2.1.4 Potenciometrické titrace

V potenciometrických titracích je sledována závislost napětí vhodně sestaveného článku na objemu přidávaného titračního činidla a z titrační křivky je následně vyhodnocen bod ekvivalence.

Grafickým vyjádřením závislosti pH použitého článku na objemu titračního činidla je logaritmická křivka, která má v lineárních souřadnicích sigmoidní tvar. Změna potenciálu indikační elektrody, odpovídající změně pH způsobené přidávkem objemové jednotky titračního činidla, je maximální v blízkosti bodu ekvivalence. [11]

Bod ekvivalence potenciometrické titrace lze stanovit na základě první a druhé derivace jednotlivých bodů titrační křivky. Maximální hodnota podílu $\frac{\Delta E}{\Delta V}$ odpovídá konci titrace, jde tedy o směrnici křivky, která roste až do hodnoty inflexního bodu a pak klesá. Pro přesnější výpočet spotřeby titračního činidla na konci titrace lze použít druhou derivaci, která má při maximální hodnotě první derivace nulovou hodnotu.

Mezi nejužívanější grafické metody pro určení bodu inflexe jsou Tubbsova metoda soustředných kružnic, metoda tří bodů a metoda rovnoběžných tečen. Často je pro vyhodnocení potenciometrické titrační křivky využívána metoda Granovy transformace, která spočívá v linearizaci potenciometrické titrační křivky.

2.2 Absorpční spektrofotometrie

Spektrofotometrické metody patří v chemické analýze mezi nejrozšířenější. Je to dáno jejich citlivostí, specifičností a zejména experimentální a časovou nenáročností. Spektrofotometrie nalézá uplatnění při stanovení aromatických sloučenin, sloučenin s konjugovanými násobnými vazbami, při analýze potravin, prvků, kationů vázaných v komplexech, aniontů nekovů, organických sloučenin s heterocyklickými atomy. Využívána je

také jako detekční a kvantifikační princip v kapalinové a iontové chromatografii nebo při elektromigračních metodách.

2.2.1 Základní fyzikální principy

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

$$\Delta E = E_p - E_q = h \cdot \nu = h \cdot \nu \cdot c / \lambda \quad (5)$$

kde c je rychlost světla, λ vlnová délka a h Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s), podle konvence je excitovaná hladina označena indexem p , základní indexem q .

Energicky nejnáročnější jsou přechody mezi elektronovými energetickými hladinami. Běžně jsou způsobeny absorpcí ultrafialového (190 až 400 nm) a viditelného záření (400 až 800 nm). [13]

Dopadne-li vzorek na monochromatické záření, poklesne v důsledku absorpce původní zářivý tok dopadajícího paprsku Φ_0 na nižší hodnotu Φ . Poměr obou zářivých toků τ se nazývá propustnost, ta nezáleží na velikosti dopadajícího zářivého toku:

$$\tau = \frac{\Phi}{\Phi_0} \quad (6)$$

Dekadický logaritmus převrácené hodnoty propustnosti se nazývá absorbance A :

$$A = -\log \tau \quad (7)$$

Závislost propustnosti nebo absorbance na vlnové délce záření představuje absorpční spektrum vzorku.

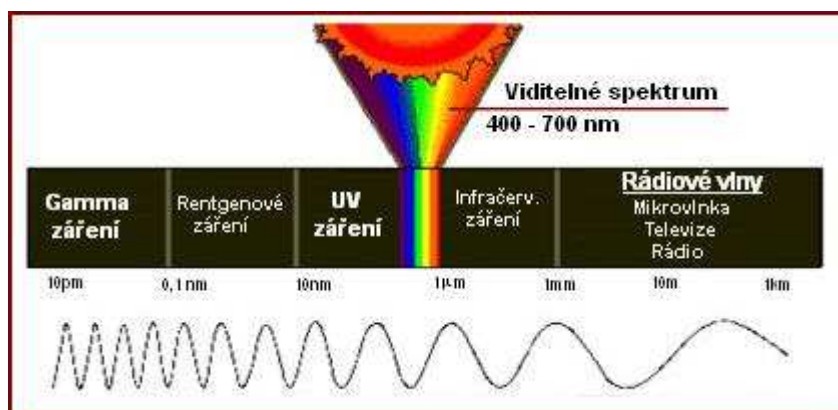
Vztah mezi absorbancí měřeného roztoku a koncentrací barevné látky vystihuje Lambert-Beerův zákon

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l \quad (8)$$

kde l je délka absorbující vrstvy (tloušťka kyvety), c koncentrace barevné látky v roztoku a ε je molární absorpční koeficient ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1}$). Je to konstanta pro určitou látku při určité vlnové délce.

2.2.2 Absorpční spektrum

Absorpční spektrum (zobrazené na obrázku 2) vyjadřuje závislost absorbance na vlnové délce. Vzhledem k závislosti absorbance na koncentraci je pro srovnání spekter používána závislost logaritmu absorpčního koeficientu na vlnové délce. Význačné jsou vlnové délky, při kterých absorbance dosahuje maxima λ_{max} , toto měření je maximálně citlivé, a pro danou koncentraci je získán maximální signál, který umožňuje postihnout fotometricky nejmenší koncentrace absorbované látky. Podmínkou pro to, aby látka absorbovala záření, je přítomnost valenčních elektronů o dostatečně nízké excitační energii v její molekule, pokud neobsahuje funkční skupinu s takovými elektrony, pak záření neabsorbují.



Obr. 2: absorpční spektrum [15]

Molekula se za běžných podmínek nachází na základní vibrační hladině a její elektrony nejsou excitovány. Absorpcí fotonu přijme energii, která vede k přechodu elektronu na excitovanou hladinu a molekula přejde na jednu z mnoha vibračních a rotačních hladin. Tak je možná absorbance fotonů, které se jen málo liší energií a vytváření velmi blízkých absorpčních čar ve spektru, které splývají v pás. Jeden pás ve spektru odpovídá jednomu typu přechodu elektronů v molekule do excitovaného stavu. Polohu píku určuje vlnová délka maxima pásu a polohu pásu určují energie orbitalů, mezi kterými dochází k přechodu elektronu při excitaci. [10]

Hodnota ϵ_{\max} vyjadřuje intenzitu pásu. Intenzita absorbance souvisí s pravděpodobností přechodu do vyšší energetické hladiny, čím je přechod pravděpodobnější, tím ochotněji se absorbuje záření odpovídající energie. Rozlišujeme přechody:

- a) přechody dovolené – vyvolávají velmi intenzivní pásy,
- b) přechody symetricky zakázané – dochází ke změně dipolmomentu molekuly, mají malou intenzitu,
- c) přechody spinově zakázané – přechody do stavu s jiným spinem, mají nepatrnou intenzitu.

2.2.3 Absorpční spektrofotometr

K měření jsou používány buď jednodušší fotometry, nebo spektrofotometry, které obsahují monochromátor. Konstrukčně jsou spektrofotometry děleny na jednopaprskové a dvoupaprskové. Absorpční spektrofotometr je tvořen čtyřmi základními částmi: zdroj záření, monochromátor, absorpční prostředí a detektor.

Zdroj záření - pro viditelnou oblast světla jsou jako zdroj záření používána wolframová a halogenová žárovka, pro ultrafialovou oblast deuteriová lampa.

- a) Wolframová žárovka je využívána pro rozsah vlnových délek 350 – 3000 nm, má značnou citlivost ke změně napětí, proto musí být napětí dobře stabilizováno.
- b) Halogenová žárovka je wolframová žárovka s obsahem malého množství jodu v křemenné baňce. Má asi dvojnásobnou životnost než běžná wolframová žárovka.
- c) Deuteriová lampa je ideální zdroj v ultrafialové oblasti. Elektricky excitovaný vodík nebo deuterium při nízkém tlaku produkují kontinuální ultrafialové spektrum.

Monochromátor je tvořen vstupní a výstupní štěrbinou, rozkladným prvkem a zrcadlovou nebo čočkovou soustavou. Natáčením rozkládaného prvku se postupně zobrazují jednotlivé monochromatické obrazy vstupní štěrbinu na štěrbinu výstupní. Kvalitní monochromátory pracují na principu hranolu, mřížky nebo interferometru.

Absorpční prostředí tvoří roztok měřeného roztoku umístěného v kyvetě. Kyvety jsou vyrobeny z materiálu, který pro používanou spektrální oblast neabsorbují záření. Pro viditelnou oblast je použitelná skleněná kyveta a pro ultrafialovou oblast kyveta křemenná.

Detektory převádí zářivý tok na elektrický signál. Jako detektory záření jsou používány fotonásobiče, diodová pole, polovodičové fotoelektrické články a detektory CCD. [10]

2.3 Izotachoforéza

Izotachoforéza patří mezi elektroforetické techniky, které jsou založeny na migraci nabitých částic v elektrickém poli. Hlavní uplatnění našla v analýze vod, nápojů, půd, hnojiv, proteinů, nukleových kyselin a vzorcích biologického původu. Dále je izotachoforéza využívána při separaci a stanovení aromatických a alifatických karboxylových sloučenin, aldehydů, fenolů, ale také aniontů nebo kationtů prvků.

2.3.1 Izotachoforetický proces

Vzorek je vnášen mezi dva elektrolyty s odlišnou pohyblivostí iontů. V jednom měření jsou separovány buď jenom kationty, nebo anionty a po připojení elektrického pole na systém začne probíhat izotachoforetický proces.

Průběh izotachoforézy můžeme rozdělit do dvou částí. V první z nich dochází k separaci složek vzorku, migrační rychlosti jednotlivých částic ve směsné zóně jsou různé. V druhé části, kterou označujeme jako ustálený stav, jsou částice rozděleny a všechny se pohybují stejnou rychlostí. Ustáleného stavu je dosaženo, když oddělené zóny s ostrými rozhraními, následující jedna za druhou, představují čisté látky. Od té doby se všechny zóny pohybují konstantní rychlostí. Je zřejmé, že od zóny k zóně se skokem mění napěťový gradient, takže společný protiiont migruje v jednotlivých zónách postupně rostoucí rychlostí, přenáší tedy stále větší náboj. Protože celkový hnací proud musí být ve všech zónách stejný, dochází k přízpůsobení koncentrací v jednotlivých zónách vzhledem ke koncentraci vedoucího elektrolytu. Složky s vyšší koncentrací v původním vzorku se zředí během separace a složky s původně nižší koncentrací se koncentrují. [18]

Jednotlivé zóny jsou velmi ostré, protože zde působí samozaostřující efekt. Kationt, který vlivem difuze opustí svou zónu, se dostane do zóny méně pohyblivých kationtů, zde na něj působí větší gradient potenciálu, a tím je kationt hnací silou popoháněn zpět do své zóny.

2.3.2 Experimentální uspořádání

K separaci dochází v teflonové kapiláře o vnitřním průměru asi 0,5 mm a délce přibližně 50 cm. Zařízení obsahuje zásobníky na vedoucí a koncový elektrolyt a vzorek. Dávkování je

možno podle potřeby u anodového nebo katodového prostoru. Elektrodivé prostory jsou odděleny fritou, která brání proniknutí produktů elektrolyzy do kapiláry. [10]

Zdroj napětí

Zdroj napětí je konstruován jako ampérostat, konstantní proud je udržován regulací napětí. Celkový odpor systému v průběhu separace roste (separační kapilára se postupně zaplňuje málo vodivým koncovým elektrolytem). Při běžně užívaných koncentracích vodivého elektrolytu (0,01M) bývá počáteční napětí kolem 2 kV a postupně vzrůstá na 4-6 kV podle typu použitého koncového elektrolytu. Hnací proudy se v závislosti na průřezu kapiláry pohybují mezi 20 – 500 μA . Napájecí zařízení bývá vybaveno napěťovou ochranou, která automaticky vypne obvod v případě, kdy odpor v separační kapiláře nadměrně vzroste. [18]

Detektory

Detektory jsou děleny na dvě skupiny a to:

1. Univerzální detektory - odezva určena pohyblivostí iontů v zóně.
 - a) Potenciometrický detektor – tvořen dvěma elektrodami umístěnými těsně za sebou ve směru migrace, které snímají potenciálový gradient v jednotlivých zónách.
 - b) Teplotní detektory – měří teplotu v jednotlivých zónách (termistory, termočlánky, pro malou citlivost se již nepoužívají).
 - c) Vodivostní detektory – nejběžnější, čidlem jsou dva platinové drátky vzdálené ve směru osy kapiláry asi 0,1 mm a napětí mezi nimi je úměrné gradientu potenciálu zóny. Měřena je vodivost v jednotlivých zónách.
2. Specifické detektory – odezva určena jinými vlastnostmi látky v zóně než elektroforetickou pohyblivostí.

Spektrofotometrický detektor – usnadňuje identifikaci složek vzorku, zvláště v případě užití několika vlnových délek, případně záznamu absorpčního spektra.

3 Iontová chromatografie

Iontová chromatografie (IC) je poměrně nová analytická separační technika. Hlavní přednosti iontové chromatografie jsou její rychlost, relativně nízká mez detekce a velmi dobrá reprodukovatelnost výsledků. Může na ni být nahlíženo jako na zvláštní podskupinu HPLC (vysoce účinná kapalinová chromatografie). Většinu HPLC přístrojů lze snadno přizpůsobit pro tento typ chromatografie. Rozdíl je pouze v mechanismu účinku a způsobu detekce. IC je analytická metoda, pomocí které lze stanovit stopové koncentrace některých aniontů, případně kationtů. Je hojně využívána jak k separaci slabých organických kyselin, tak i anorganických iontů (F^- , Cl^- , Br^- , (PO_4^{3-}) , SO_4^{2-} , NO_3^- a podobně). Stala se oblíbenou metodou pro separaci léčiv, nukleových kyselin, aminokyselin, přechodných kovových iontů, lanthanoidů, aktinoidů a dalších.

3.1 Princip chromatografie

Chromatografie obecně je separační metoda, při které se oddělují (separují) jednotlivé složky obsažené ve vzorku. Podstatou chromatografie je vnesení složek směsi mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Stacionární fáze je nepohyblivá, mobilní fáze je pohyblivá. Při prostupu mobilní fáze přes stacionární dochází k opakovatelnému transportu složek z jedné fáze na druhou. Doba, po kterou molekuly určité složky setrvávají ve stacionární fázi, je závislá na velikosti interakce mezi stacionární fází a složkou. Určuje tedy pořadí, v jakém složky vycházejí. Čím je interakce větší, tím později složka vychází, na konec stacionární fáze se tedy dříve dostávají složky méně zadržované.

Iontová chromatografie je založena na vzájemné přitažlivosti opačně nabitých iontů. Náplně kolon jsou tvořeny funkčními skupinami s nábojem, které jsou kovalentně vázané na nerozpustný podklad (matrici) a mobilní fází složenou z iontů s opačným nábojem, které se váží na funkční skupiny poutané na matrici. Při průchodu vzorku kolonou, jsou částice s nábojem, vázány na funkční skupiny, které obsahují opačný náboj. Silně nabitě částice jsou přitahovány k podkladu, zůstávají v koloně a později jsou vytlačeny koncentrovanějším rozpouštědlem. Neutrální částice a částice se stejným nábojem, jaký mají funkční skupiny, projdou skrz kolonu bez vázání.

3.1.1 Měníče iontů

Stacionární fázi v iontové chromatografii jsou měniče iontů. Jedná se o látky s vhodnými funkčními skupinami kyselé nebo zásadité povahy, mající dostatečnou pórovitost a jejich základní skelet na povrchu nese náboj. Iontoměniče jsou schopné výměnné iontové adsorpce s velkou výměnnou kapacitou. Součástí mřížky iontoměníče jsou velmi úzké dutiny, kterými mohou malé ionty pronikat dovnitř a výměna tak probíhá na vnitřním povrchu. Vnější povrch je zde proti povrchu vnitřnímu zanedbatelný a výměnná kapacita nezávisí na velikosti vnějšího povrchu, ani na stupni disperzity iontoměníče. Tyto látky mohou být přirozené (např. minerály typu zeolitů), ale i syntetické, organické a anorganické. V praxi používané ionexy jsou většinou syntetické vysokomolekulární organické látky, nejčastěji na bázi styrenu, polyakrylátu, celulosy, fenolformaldehydových pryskyřic a podobně.

Každá funkční skupina je pevně vázaným iontem, na který je iontovou vazbou připojen protiiont s opačným nábojem. Ten je vyměňován iontem obsaženým v mobilní fázi, pomocí elektrostatických přitažlivých sil mezi ionty opačného náboje. Ionexy jsou děleny na:

- a) anexy, jejichž funkční skupiny jsou zásadité (aminokyseliny, kvartérní amoniové báze) a slouží k výměně aniontů,
- b) katexy, jejichž funkční skupiny jsou kyselé (sulfoskupiny, karboxylové skupiny) a slouží k výměně kationtů.

Nejpevněji se váží ionty, které mají největší náboj a objem. Ionty s větším objemem jsou méně hydratované molekulami vody a hydratační obal se při navázání iontů na měnič snáze naruší. [10]

3.1.2 Základní charakteristiky chromatografického procesu

Všechny chromatografické metody jsou založeny na rovnovážné distribuci složek vzorku mezi dvě fáze, mobilní a stacionární. Aby docházelo k distribuci, musí existovat fázové rozhraní mezi těmito fázemi. Mobilní fáze unáší složky vzorku tak, aby obtékala stacionární fázi. Při dělení dochází k vytváření rovnovážných stavů separovaných látek mezi mobilní a stacionární fází.

Retenční objem (V_R) je objem mobilní fáze, který musí projít kolonou, aby se příslušný analyt dostal od počátku ke konci separační kolony. Retenční čas (t_R) je celkový čas, který příslušný analyt stráví v separační koloně.

Mezi retenčním časem a retenčním objemem existuje vztah:

$$V_R = F_m \cdot t_R \quad (9)$$

kde F_m je objemová rychlost [cm^3/s].

Objemová průtoková rychlost F_m je rovna součinu lineární rychlosti mobilní fáze (cm/s) a průřezu kolony (cm^2). Z této rovnice lze odvodit tzv. základní rovnici pro retenční objem a pro retenční čas t_R

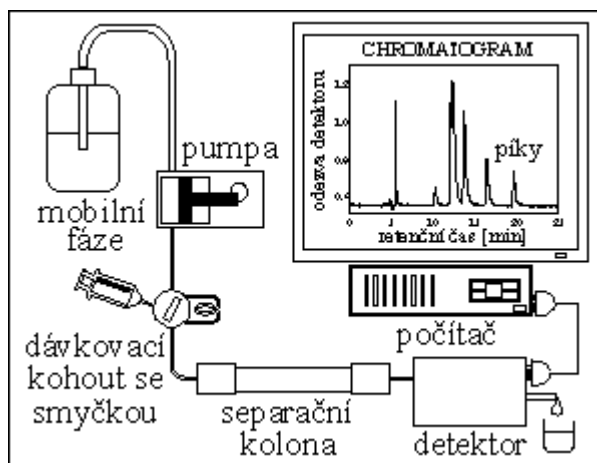
$$V_R = V_M (1 + k) \quad t_R = t_M (1 + k) \quad (10)$$

kde V_M je mrtvý objem kolony. Mrtvému retenčnímu objemu přísluší mrtvý retenční čas t_M . Mrtvý objem kolony (V_M) je objem eluentu, který musí projít kolonou, aby se nezadržovaný analyt dostal od počátku ke konci kolony. Mrtvý čas kolony (t_M) je retenční čas analytu, který není v koloně zadržován, analyt se pohybuje kolonou stejnou rychlostí jako mobilní fáze. Redukovaný retenční čas je ten, který příslušný analyt stráví ve stacionární fázi.

Chromatogram (eluční křivka), je záznam chromatografického dělení, závislost odezvy detektoru na čase, nebo na objemu proteklé mobilní fáze. Poloha píku udává druh látky, plocha píku udává množství látky.

3.2 Chromatografický systém

Všechny systémy iontové chromatografie se skládají ze stejných základních komponent, které jsou téměř totožné s HPLC (vysoce účinná kapalinová chromatografie). Mezi základní části iontového chromatografu se řadí mobilní fáze (čerpána ze zásobníku), čerpadlo, dávkovací zařízení, kolona, detektor a vyhodnocovací zařízení. Toto schéma je vyobrazeno na následujícím obrázku (obr. 3)



Obr. 3: schéma chromatografického systému [21]

3.2.1 Zásobníky mobilní fáze

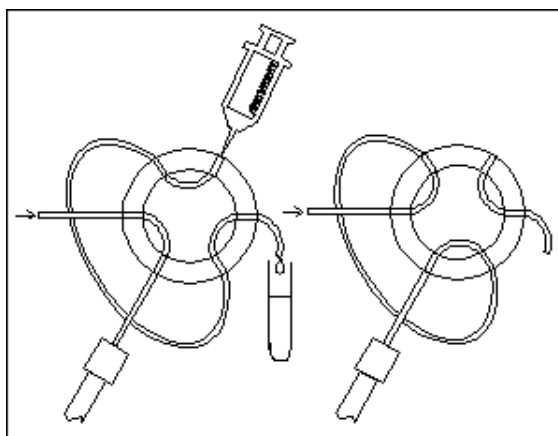
Do systému jsou mobilní fáze čerpány nejčastěji ze skleněných lahví, do kterých zasahuje čerpací hadička opatřená často skleněnou fritou. Ze zásobníku se mobilní fáze čerpá přes filtr, pro odstranění nečistot a také se odplyňují (např. s použitím ultrazvukové lázně, nebo pomocí membránového degasseru), aby se zabránilo vzniku bublinek při poklesu tlaku na výstupu kolony.

3.2.2 Čerpadla mobilní fáze

Většinou jsou používána čerpadla s malým objemem, využívající rychlé frekvence pracovních cyklů, v nichž se mobilní fáze střídavě nasává ze zásobníku přes systém zpětných ventilů do malé pístní komory o objemu 10 - 400 μl a vytlačuje se z ní na chromatografickou kolonu. Konstrukce čerpadel musí být z materiálů odolných vůči chemické korozi i při užití agresivních mobilních fází (např. slabě kyselá tlumivá roztoky). [25]

3.2.3 Dávovací zařízení

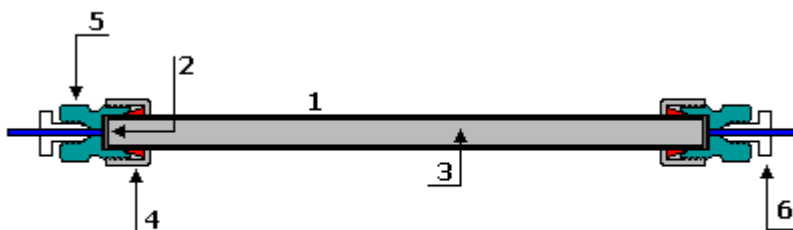
Dávovací zařízení slouží k zavedení vzorku do toku mobilní fáze. Vzorky se dávkuje pomocí injekčních stříkaček přes septum, nebo za použití ventilů s dávovací smyčkou, která je vyobrazena na obrázku 4. Automatické dávkovače jsou spojené se zásobníkem vzorku, ve kterém jsou umístěny mikronádobky (tzv. vialky) uzavřené pryžovým septem nebo perforovanou zátkou z polypropylenu. U ventilů ovládaných manuálně je dávkovácí smyčka nejprve naplněna vzorkem pomocí injekční stříkačky a vzorek je dávkován přepnutím smyčky do druhé polohy.



Obr. 4: dávkování vzorku za použití ventilů se smyčkou [23]

3.2.4 Chromatografické kolony

V koloně probíhá separace složek analyzovaného vzorku. Chromatografická kolona je v podstatě trubka nebo kapilára rovnoměrně naplněná nebo pokrytá stacionární fází. Konstrukce kolon je znázorněna na obrázku 5. Chromatografické kolony jsou vyrobeny z materiálu, který musí odolávat relativně vysokým pracovním tlakům a zároveň chemickému působení mobilních fází a separovaných složek. Materiálem chromatografických kolon je většinou antikorozivní ocel nebo speciálně tvrzené borosilikátové sklo, popřípadě lze použít i kombinaci obou materiálů. Účinnost separace, doba analýzy a pracovní tlak se zvyšují s rostoucí délkou kolony a naopak klesají s rostoucím průměrem částic náplně. Materiály pro plnění kolon jsou většinou anorganické látky (silikagel, oxid hlinitý, pórovité sklo), na níž mohou být chemicky vázány nebo zakotveny různé stacionární fáze. Méně často se používá organických gelů různé struktury. Charakter stacionární fáze je závislý na chromatografickém systému.



Obr. 5: konstrukce kolony [28]

Pozn.: 1 - plášť kolony; 2 - porézní kovová frit; 3 - stacionární fáze; 4 - ochranný kroužek; 5 - koncová hlavice; 6 - vstup pro kapiláru

3.2.5 Detektory

K detekci separovaných látek se užívá obecných nebo specifických vlastností, kterými se tyto látky liší od mobilní fáze, na tomto základě rozlišujeme univerzální detektory (měří vlastnost systému jako celku) a selektivní detektory (měří absorpenci při určité vlnové délce, elektrolytický proud při určitém potenciálu atd.). V laboratorní praxi jsou používány detektory spektroskopické (fotometrické, refraktometrické, fluorescenční) nebo elektrochemické (vodivostní, ampérometrický, coulometrické).

Spektrofotometrické detektory

Spektrofotometrické detektory jsou založeny na principu absorpce záření v oblasti vlnových délek od 190 do 800 nm. [30]

- a) Fotometrické detektory. Většina organických látek absorbuje v oblasti UV záření, některé i ve viditelné oblasti světla. Fotometrické detektory pracují buď s fixní vlnovou délkou, s možností výběru několika vlnových délek, nebo jsou opatřeny monochromátorem a pracují na principu spektrofotometru v rozsahu 190 - 400 nm. Světlo zdroje prochází průtokovou celou a intenzita prošlého paprsku je měřena fotonásobičem, kontinuálně je snímán signál eluovaných složek. [27]
- b) Refraktometrické detektory jsou založeny na měření indexu lomu eluátu, který prochází měřicí celou. Citlivost je tím větší, čím je větší rozdíl v indexu lomu analytu a mobilní fáze. Odezva je závislá na teplotě, proto je nutné detekční celou temperovat. Měření je diferenční (paprsek prochází měřenou a srovnávací celou) a měří se rozdíl intenzity světla, které dopadá na detektor. [29]
- c) Fluorescenční (fluorimetrické) detektory jsou založeny na principu fluorescence a měření emisního záření, které látka vydá po absorpci excitačního elektromagnetického záření. Při měření fluorescence je budící UV záření ze zdroje vedeno do průtokové cely, kde je absorbováno a vyzářené světelné kvantum o větší vlnové délce se měří fotonásobičem.

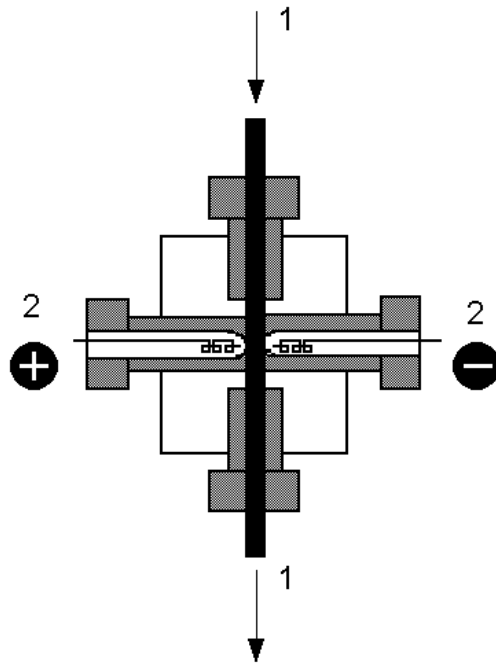
Elektrochemické detektory

Elektrochemické detektory měří určitou elektrickou veličinu (elektroodový potenciál, proud, kapacitu) vyvolanou průchodem látky průtokovou celou detektoru, ve které jsou umístěny elektrody s vloženým pracovním napětím nezbytným k průběhu elektrochemické reakce.

Zapojení systému může být dvouelektrodové nebo třeelektrodové. Měřený elektrický signál je úměrný látkovému množství detekované složky. U elektrochemických detektorů se tedy sleduje závislost mezi elektrickou veličinou a koncentrací sledované složky. [31]

- a) Ampérometrické (polarografické) detektory měří elektrický proud vyvolaný průchodem redukované nebo oxidované látky průtokovou celou detektoru. Jako měrné elektrody jsou u ampérometrických detektorů používány tuhé měrné elektrody, zhotovené ze skelného uhlíku, grafitových vláken, zlata, platiny, mědi či jiného kovu. Jako srovnávací elektroda je používána kalomelová, nebo argentchloridová elektroda. [31]
- b) Coulometrické detektory měří náboj potřebný k oxidaci či redukcí celkového množství látky při jejím průtoku měrnou celou detektoru a tak je dosahováno vyšší citlivosti detekce než u ampérometrických detektorů. Účinnost elektrochemické reakce je možné zvýšit použitím tzv. elektrody fritového typu, kdy mobilní fáze protéká porézní grafitovou pracovní elektrodou. Výhodou této elektrody je její vysoká účinnost, stabilita a selektivita. [31]
- c) Vodivostní detektory jsou v iontové chromatografii uplatňovány nejčastěji, jelikož jsou využívány kolony plněné ionexy s nízkou kapacitou, které umožňují použití mobilní fáze s nízkým obsahem elektrolytů (mmol.l^{-1}). Vodivostní detektory patří mezi univerzální detektory a měří elektrickou vodivost eluátu v průtokové cele mezi dvěma elektrodami, na něž je vkládáno střídavé napětí, aby bylo zabráněno polarizaci těchto elektrod. Konstrukčně je tento typ detektoru nenáročný a celou detektoru lze miniaturizovat na objemy menší než 5 μl . Konstrukce detektoru je zobrazena na obrázku 6. U vodivostního detektoru jsou kladeny vysoké nároky na mobilní fázi, která by měla být nevodivá, musí ovšem chromatografované látky dostatečně rozpouštět a mít dostatečně velkou permitivitu. [32]

U vodivostních detektorů je využíván supresor. Chemická suprese zlepšuje účinnost iontové chromatografie potlačením vlivu pozadí a zvýšením signálu analytu. Výsledkem chemické reakce v supresoru je lepší poměr signál / šum, podstatně vyšší citlivost detekce a stabilnější základní čára.



Obr. 6: vodivostní detektor. [32]

Pozn.: 1 - tok mobilní fáze; 2 - elektrody

Experimentální část

4 Stanovení množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů potravinářské kvality

4.1 Stanovení celkového fosforu spektrofotometrickou metodou

4.1.1 Princip metody

Fotometrické měření fosforu je nejčastěji založeno na stanovení koncentrace některé heteropolykyseliny, na kterou je nutno fosfor obsažený ve vzorku převést. Jednoduchou, rychlou a spolehlivou metodou je stanovení fosforu jako kyseliny vanadátomolybdatofosforečné. V prostředí minerální kyseliny (HClO_4 , HNO_3) reagují ortofosforečnany s ionty VO_3^- a MoO_4^{2-} za vzniku žluté kyseliny vanadátomolybdatofosforečné, která je vhodná k měření přímo nebo po extrakci. Vybarvení trvá několik minut a zbarvení není závislé na teplotě. Maximum komplexu leží u 315 nm, prakticky se měří v rozmezí vlnových délek 375-475nm.

Rušivé vlivy:

Mezi rušivé vlivy patří řada iontů, které mají vliv na tvorbu barviva, a proto se vybarvuje delší dobu (F, Cl, Th, Bi), šťavelany a citronany komplex odbarvují, a dále může docházet k redukci MoO_4^{2-} na čistou molybdenovou modř. K odstranění rušivých vlivů a ke zvýšení citlivosti se kyselina vanadátomolybdatofosforečná extrahuje isoamylalkoholem, butylacetátem či jinými rozpouštědly.

4.1.2 Přístroje a zařízení

Spektrofotometr 722 – 2000 (Laboratorní přístroje a. s. Praha)

Analytické váhy KERN ABJ 120-4M (KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern, D)

Spektrofotometr 722 – 2000

Pro stanovení fosforu ve vzorku byl použit měřicí přístroj Spektrofotometr 722 – 2000, který je znázorněn na obrázku číslo 7. Tento Spektrofotometr pracuje v rozsahu vlnových délek 330-1000 nm. Na vstupní štěrbinu monochromátoru je soustředěno světlo z halogenové lampy, které je na difrakční mřížce rozděleno podle vlnové délky. Natočením mřížky je na

výstupní štěrbině soustředěno světlo vybrané délky pomocí zrcadlového kolimátoru. Toto světlo odtud prochází přes jeden z filtrů eliminující nežádoucí vyzařování. Poté prochází přes kyvetu se vzorkem a dopadá na křemíkovou fotodiodu. Tímto je vybuzen elektrický signál, který je zpracováván a displejován.



Obr. 7: spektrofotometr 722 - 2000

4.1.3 Použité chemikálie

Kyselina dusičná HNO_3 68% p. a. Lach-Ner,s. r. o. Neratovice

Kyselina chlorovodíková HCl 35% p. a. Lach-Ner,s. r. o. Neratovice

Kyselina chloristá HClO_4 p. a. Lach-Ner,s. r. o. Neratovice

Dihydrogenfosforečnan draselný KH_2PO_4 p. a. Lach-Ner,s. r. o. Neratovice

Vanadičnan amonný NH_4VO_3 p. a. Lach-Ner,s. r. o. Neratovice

Molybdenan amonný $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ p. a. Lach-Ner,s. r. o. Neratovice

Použité vzorky

Hamifos č. 215 Fosfa a. s. Břeclav

Hamifos č. 210 Fosfa a. s. Břeclav

Carnal č. 2110 Fosfa a. s. Břeclav

Carnal č. 961 Fosfa a. s. Břeclav

Pyro č. 3907 Fosfa a. s. Břeclav

Orto č. 7811 Fosfa a. s. Břeclav

4.1.4 Příprava činidel a standardních roztoků

Roztok A: Do odměrné baňky 1000 ml bylo odměřeno 500 ml koncentrované HClO_4 a vodou byla odměrná baňka doplněna na objem 1000 ml.

Roztok B: 1,17g NH_4VO_3 bylo rozpuštěno ve 150 ml horké destilované vody a 35,2 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ bylo rozpuštěno v 500 ml horké destilované vodě. Poté byly oba roztoky slity dohromady a za míchání bylo do roztoku přidáno 20 ml koncentrovaného amoniaku. Objem byl doplněn destilovanou vodou na 1 litr.

Standardní roztok fosforu: 1,9174 g KH_2PO_4 bylo rozpuštěno ve 100 ml destilované vody a doplněno na objem 1 litr.

4.1.5 Příprava kalibračních roztoků

Do 50 ml odměrných baněk bylo pipetováno 0,5, 1, 1,5, 2 a 2,5 ml standardního roztoku fosforu. Do dalších 50 ml odměrných baněk bylo pipetováno 2 ml filtrátu pro stanovení celkového fosforu. Potom bylo do každé baňky pipetou přidáno 5 ml roztoku A a 10 ml roztoku B. Stejným způsobem byl připraven slepý vzorek obsahující pouze výše uvedená množství roztoku A a B. Poté byly odměrné baňky doplněny destilovanou vodou na 50 ml, promíchány a ponechány 10 minut stát.

4.1.6 Příprava vzorků pro stanovení celkového fosforu

Do 150 ml kádinky bylo naváženo přibližně 0,5000 g vzorku. Ke vzorku bylo přidáno 15 ml kyseliny dusičné a 5 ml kyseliny chlorovodíkové. Obsah kádinky byl v digestoři zahřát k varu, v němž se udržoval pod krycím sklem 20 minut. Po 20 minutách bylo ke směsi přidáno 50 ml destilované vody a roztok byl ještě 5 minut vařen. Následně byl roztok převeden do odměrné baňky 250 ml, ochlazen, doplněn na objem 250 ml, promíchán a filtrován přes suchý filtr do polyethylenové lahvičky 250 ml. Tímto postupem bylo připraveno a změřeno opět 5 výluhů z každého vzorku. Přesné navážky vzorků byly zpracovány do tabulky č 1.

Tabulka 1: navážky vzorků pro stanovení celkového fosforu

	Hmotnost vzorků v g					
Navážka č.	Carnal č. 2110	Carnal č. 961	Pyro č. 3907	Orto č. 7811	Hamifos č. 210	Hamifos č. 215
m ₁	0,5002	0,5001	0,5002	0,5001	0,4999	0,2001
m ₂	0,5001	0,5002	0,5002	0,4998	0,5000	0,2002
m ₃	0,4999	0,4999	0,4998	0,4999	0,5001	0,1998
m ₄	0,5002	0,5002	0,500	0,4999	0,5002	0,2001
m ₅	0,5001	0,5000	0,4999	0,5002	0,5001	0,2002

4.1.7 Vlastní měření

Fotometr byl zapnut a ponechán 15 minut zahřát. Poté byla otočným knoflíkem nastavena vlnová délka 460 nm a tlačítkem modul zvolena požadována měrná veličina, v našem případě absorbance A. Jedna z měřících kyvet byla naplněna slepým vzorkem. Byl otevřen kyvetor a kyveta do něj zasunuta, poté byl kyvetor zavřen a táhlem na předním panelu byla kyveta zařazena do optické dráhy přístroje. Stiskem tlačítka 100% byla na displeji nastavena hodnota absorbance na 0,00. Dále byla do přístroje vložena kyveta naplněna vzorkem, zavřen kryt kyvetou a táhlem na přední straně přístroje zařazena do optické dráhy. Následně byla na displeji odečtena hodnota A. Tímto postupem byly změřeny všechny měřené vzorky a kalibrační roztoky.

4.2 Stanovení množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů pomocí iontové chromatografie

4.2.1 Princip metody

Základem stacionárních fází je tzv. nosič. Tyto nosiče mohou být na bázi styrendivinylnbenzenbenzenového kopolymeru nebo z materiálů na bázi silikagelu apod. Nosiče jsou modifikovány iontově výměnnými skupinami. Silný měnič aniontů obsahuje tetraalkylamoniovou skupinu ($-N^+(R)_3$) a slabý měnič aniontů aminoskupinu ($-NH_2$). Při separaci aniontů v IC je jako mobilní fáze vhodný roztok obsahující uhličitán a hydrogenuhličitán sodný. Ionty jsou postupně detekovány při východu z kolony na základě změn v iontové vodivosti. Doba, po kterou molekuly určité složky setrvávají ve stacionární fázi, je závislá na velikosti interakce mezi stacionární fází a složku. Určuje tedy pořadí, v jakém složky vycházejí. Čím je interakce větší, tím později složka vychází, na konec stacionární fáze se tedy dříve dostávají složky méně zadržované.

Rušivé vlivy:

Vysoký obsah rozpuštěných plynů, např. CO₂, v mobilní fázi může mít vliv na správnost a reprodukovatelnost výsledků v důsledku tvoření bublin v průtokovém systému. K odstranění těchto rušivých vlivů a ke zvýšení citlivosti se používá ultrazvuk.

4.2.2 Přístroje a zařízení

HPLC chromatograf Shimadzu CTO-10Avp Column Oven (Kyoto, Japan)

IC chromatograf Shimadzu CDD-6A, Konduktivity detector (Kyoto, Japan)

Autosupresor Alltech Eris 1000HP (Alltech Associates, Inc. Deerfield IL)

pH metr a ionometr PHI 04 (Labio a. s. Praha)

Analytické váhy KERN ABJ 120-4M (KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern, D)

Kolona HEMA-S 100 Q-L 10 μm, 3x150mm, nerez č. 8 (Tessek, Praha)

Softwar Clarity chromatography Station, verze 2.2.0 (Data Apex s. r. o. Praha)

Chromatografická kolona

Pro stanovení množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů iontovou chromatografií byl použit měřicí přístroj složený z HPLC chromatografu Shimadzu CTO-10Avp Column Oven, IC chromatografu Shimadzu CDD-6A a autosupresoru Alltech Eris 1000H , celé zapojení je znázorněno na obrázku 8.



Obr. 8: zapojení chromatografické kolony

4.2.3 Použité chemikálie

Fosforečnan sodný Na_3PO_4 p. a. Lach-Ner, s. r. o. Neratovice

Fluorid sodný NaF p. a. Lach-Ner, s. r. o. Neratovice

Hydrogenuhličitan sodný NaHCO_3 p. a. Merck KGaA, Darmstadt (D)

Uhličitan sodný Na_2CO_3 p. a. Merck KGaA, Darmstadt (D)

Kyselina boritá H_3BO_3 p. a. Lach-Ner, s. r. o. Neratovice

Použité vzorky

Hamifos č. 215 Fosfa a. s. Břeclav

Hamifos č. 210 Fosfa a. s. Břeclav

Carnal č. 2110 Fosfa a. s. Břeclav

Carnal č. 961 Fosfa a. s. Břeclav

Pyro č. 3907 Fosfa a. s. Břeclav

Orto č. 7811 Fosfa a. s. Břeclav

4.2.4 Příprava mobilních fází pro výběr optimálních podmínek

Příprava mobilních fází pro výběr optimálních podmínek v závislosti na iontové síle

Pro výběr optimálních podmínek mobilní fáze, bylo připraveno 6 mobilních fází o různých koncentracích NaHCO_3 a Na_2CO_3 . Uvedené koncentrace a příslušné navážky byly zpracovány do tabulky č. 2. Na analytických vahách bylo naváženo přesné množství NaHCO_3 a Na_2CO_3 , které byly převedeny do odměrné baňky 500 ml, rozpuštěny a doplněny destilovanou vodou po rysku. Takto připravené mobilní fáze byly použity pro měření.

Tabulka 2: navážky a složení mobilních fází pro výběr optimálních podmínek v závislosti na iontové síle

Mobilní fáze	Složení mobilní fáze (mmol/l)	Hmotnost NaHCO_3 a Na_2CO_3 (g)
1 mobilní fáze	0,6 NaHCO_3	0,0256
	1,5 Na_2CO_3	0,0792
2 mobilní fáze	0,8 NaHCO_3	0,0332
	2 Na_2CO_3	0,1065
3 mobilní fáze	1 NaHCO_3	0,0428
	2,5 Na_2CO_3	0,1330
4 mobilní fáze	1,2 NaHCO_3	0,0505
	3 Na_2CO_3	0,1591
5 mobilní fáze	1,4 NaHCO_3	0,0589
	3,5 Na_2CO_3	0,1856
6 mobilní fáze	1,8 NaHCO_3	0,0759
	4,5 Na_2CO_3	0,2389

Příprava mobilních fází pro výběr optimálních podmínek v závislosti na pH

Pro výběr optimálních podmínek mobilní fáze, bylo připraveno 5 mobilních fází o různých koncentracích NaHCO_3 a Na_2CO_3 . Uvedené koncentrace a příslušné navážky byly zpracovány do tabulky č. 3. Na analytických vahách bylo naváženo přesné množství NaHCO_3 a Na_2CO_3 , které byly převedeny do odměrné baňky 250 ml, rozpuštěny a doplněny destilovanou vodou po rysku. Takto připravené mobilní fáze byly použity pro měření.

Tabulka 3: navážky a složení mobilních fází pro výběr optimálních podmínek v závislosti na pH

Mobilní fáze	Složení mobilní fáze (mmol/l)	Hmotnost NaHCO ₃ a Na ₂ CO ₃ (g)
1 mobilní fáze	0,8 NaHCO ₃	0,0169
	0,5 Na ₂ CO ₃	0,0134
2 mobilní fáze	0,8 NaHCO ₃	0,0168
	1 Na ₂ CO ₃	0,0260
3 mobilní fáze	0,8 NaHCO ₃	0,0169
	1,5 Na ₂ CO ₃	0,0396
4 mobilní fáze	0,8 NaHCO ₃	0,0169
	2 Na ₂ CO ₃	0,0529
5 mobilní fáze	0,8 NaHCO ₃	0,0169
	2,5 Na ₂ CO ₃	0,0662

4.2.5 Příprava standardních roztoků

Příprava standardního roztoku NaF

Na analytických vahách bylo naváženo 0,2000 g NaF, který byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Takto připravený roztok byl použit k měření.

Příprava standardního roztoku Na₃PO₄

Na analytických vahách bylo naváženo 0,5000 g Na₃PO₄, který byl převeden do 50 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku byl pipetován 1 ml roztoku do 100 ml odměrné baňky, která byla opět doplněna destilovanou vodou po rysku. Takto připravený roztok byl použit k měření.

4.2.6 Příprava kalibračních roztoků

Na analytických vahách bylo naváženo 0,2000 g NaF, který byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku byly pipetovány 2 ml roztoku do 100 ml odměrné baňky, která byla opět doplněna destilovanou vodou po rysku. Z takto připraveného roztoku byl pipetován 1 ml roztoku a převeden do 100 ml odměrné baňky, která byla opět doplněna destilovanou vodou po rysku a z tohoto roztoku byly připraveny roztoky pro kalibrační řadu a to odpipetováním 5 ml roztoku do 50 ml odměrné baňky doplněné destilovanou vodou po rysku, 10 ml roztoku do 50 ml odměrné baňky

doplňené destilovanou vodou po rysku, 20 ml roztoku do 50 ml odměrné baňky doplňené destilovanou vodou po rysku a 15 ml roztoku do 25 ml odměrné baňky doplňené destilovanou vodou po rysku.

4.2.7 Příprava vzorků pro stanovení

Na analytických vahách bylo naváženo přibližně 0,5000 g vzorku, který byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku bylo pipetováno 20 ml vzorku do 100 ml odměrné baňky a opět doplněno po rysku. Pouze u vzorků orto č. 7811 a pyro č. 3907 bylo naváženo přibližně 0,2500 g vzorku, který byl převeden do 50 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku bylo pipetováno 10 ml vzorku do 50 ml odměrné baňky a opět doplněno po rysku. Takto připravené roztoky byly použity pro měření. Pro každý vzorek byly připraveny dvě navážky. Přesné navážky jednotlivých vzorků jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: navážky vzorků pro stanovení fluoridů IC

Navážka č.	Hmotnost vzorků v (g)					
	Carnal č. 2110	Carnal č. 961	Pyro č. 3907	Orto č. 7811	Hamifos č. 210	Hamifos č. 215
m ₁	0,4997	0,5002	0,2502	0,2502	0,4997	0,4998
m ₂	0,5002	0,4999	0,2497	0,2498	0,4999	0,4997

4.2.8 Stanovení množství F⁻ v závislosti na iontové síle

Chromatografická kolona promyta první mobilní fází, která byla předem odplyněna na ultrazvuku, byla po zapnutí autosupresoru, na kterém byla nastavena odpovídající koncentrace mobilní fáze, ponechána 30 minut ustálit. Po 30 minutách byl do chromatografické kolony dávkován standardní roztok NaF. Dávkovací smyčka byla naplněna roztokem NaF pomocí injekční stříkačky a roztok byl dávkován přepnutím smyčky do druhé polohy. Na monitoru počítače byla sledována sorpce F⁻ iontu na čase. Tímto postupem bylo proměřeno všech šest mobilních fází.

4.2.9 Stanovení množství PO₄³⁻ v závislosti na iontové síle

Chromatografická kolona byla zapnuta a promyta první mobilní fází, která byla předem odplyněna na ultrazvuku. Po 30 minutách byl do chromatografické kolony dávkován standardní roztok Na₃PO₄. Dávkovací smyčka byla naplněna roztokem Na₃PO₄ pomocí injekční stříkačky a roztok byl dávkován přepnutím smyčky do druhé polohy. Na monitoru

počítače byla sledována sorpce PO_4^{3-} iontu na čase. Tímto postupem bylo proměřeno všech šest mobilních fází.

4.2.10 Stanovení množství F^- v závislosti na pH

Všech pět mobilních fází bylo opět proměřeno podle stejného postupu, po zapnutí a ustálení chromatografické kolony po 30 minutách, byl do chromatografické kolony dávkován standardní roztok NaF a na monitoru počítače byla sledována sorpce F^- iontu na čase. Takto bylo proměřeno všech pět mobilních fází.

4.2.11 Stanovení množství F^- ve vzorcích fosforečnanů

Chromatografická kolona promyta vhodnou mobilní fází, která byla předem odplyněna na ultrazvuku, byla po zapnutí autosupresoru, na kterém byla nastavena odpovídající koncentrace mobilní fáze, ponechána 30 minut ustálit. Po 30 minutách byly do chromatografické kolony postupně dávkovány standardní roztoky NaF pro stanovení kalibrační křivky a následně i vzorky, pro každý vzorek dva roztoky odpovídajícím navážkám. Na monitoru počítače byla sledována sorpce F^- a PO_4^{3-} iontů na čase. Tímto postupem bylo proměřeno všech šest vzorků.

4.3 Stanovení množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů pomocí ISE

4.3.1 Princip metody

Koncentrace stanovované látky pomocí ISE byla určena přímo z elektromotorického napětí článku. Pro měření byla zvolena měrná fluoridová elektroda, jejíž potenciál závisí na koncentraci iontů, které mají být stanoveny. A po přidání srovnávací elektrody (argentschloridová) bylo změřeno napětí článku a tím přímo určen obsah stanovované složky. Všechny roztoky vzorků byly postupně proměřeny ISE elektrodou, na přístroji pH metr a ionometr PHI 04 pak byl odečten obsah stanovované složky.

Rušivé vlivy:

Elektroda reaguje na hydroxidové ionty. Tvorba HF v kyselém prostředí snižuje měřenou koncentraci fluoridů. Tyto rušivé vlivy lze odstranit přidáním tlumivého roztoku udržujícího hodnotu pH v rozmezí od 5 do 7. Kationty některých kovů (např. Mg, Ca, Al) tvoří s fluoridy komplexy nebo sraženiny, na které elektroda nereaguje.

4.3.2 Přístroje a zařízení

pH metr a ionometr PHI 04 (Labio a. s. Praha)

Analytické váhy KERN ABJ 120-4M (KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern, D)

Fluoridová elektroda (MONOKRYSTALY s. r. o. Turnov)

Argentochloridová elektroda (MONOKRYSTALY s. r. o. Turnov)

Měrný článek

Měrný článek byl tvořen fluoridovou ISE a referentní argentochloridovou elektrodou ponořených do zkoumaného roztoku a zapojených na měřicí přístroj pH metr a ionometr PHI 04.

4.3.3 Použité chemikálie

Fluorid sodný NaF p. a. Lach-Ner, s. r. o. Neratovice

Pyrofosforečnan sodný $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ p. a. SIGMA-ALDRICH GmbH, Steinheim (D)

Použité vzorky

Hamifos č. 215 Fosfa a. s. Břeclav

Hamifos č. 210 Fosfa a. s. Břeclav

Carnal č. 2110 Fosfa a. s. Břeclav

Carnal č. 961 Fosfa a. s. Břeclav

Pyro č. 3907 Fosfa a. s. Břeclav

Orto č. 7811 Fosfa a. s. Břeclav

4.3.4 Příprava standardního roztoku $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$

Na analytických vahách byl navážen 1,0000 g $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, který byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku.

4.3.5 Příprava kalibračních roztoků

Na analytických vahách bylo naváženo 0,1105 g NaF, který byl převeden do 500 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku byly připraveny roztoky pro kalibraci a to odpipetováním 2 ml roztoku do 100 ml odměrné baňky a po přidání 10 ml roztoku $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ doplněné destilovanou vodou po rysku, 4 ml roztoku do 100 ml odměrné baňky a po přidání 10 ml roztoku $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ doplněné destilovanou vodou po rysku, 10 ml roztoku do 100 ml odměrné baňky a po přidání 10 ml roztoku $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ doplněné destilovanou vodou po rysku a 20 ml roztoku do 100 ml odměrné baňky a po přidání 10 ml roztoku $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ doplněné destilovanou vodou po rysku.

4.3.6 Příprava vzorků pro stanovení

Na analytických vahách bylo naváženo přibližně 0,1000 g vzorku, který byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Pro každý vzorek byly připraveny dvě navážky. Přesné navážky jednotlivých vzorků jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 5: navážky vzorků pro stanovení ISE

	Hmotnost vzorků v (g)					
Navážka č.	Carnal č. 2110	Carnal č. 961	Pyro č. 3907	Orto č. 7811	Hamifos č. 210	Hamifos č. 215
m1	0,0998	0,0999	0,1002	0,1000	0,0997	0,0998
m2	0,1001	0,1000	0,1000	0,0998	0,1002	0,0998

4.3.7 Vlastní měření

Měřicí přístroj byl nakalibrován připravenými kalibračními roztoky. Obě elektrody byly postupně ponořeny do každého roztoku a pomocí vhodného programu byl přístroj nakalibrován. Poté byly stejným způsobem proměřeny i všechny připravené roztoky vzorků a na přístroji pH metr a ionometr PHI 04 pak byl odečten obsah stanovené složky.

5 Výsledky a diskuze

5.1 Stanovení celkového fosforu ve vzorcích

5.1.1 Měření kalibračních závislostí

Měření kalibračních závislostí probíhalo podle návodu uvedeného v kapitole 4.1.7. U kalibračních roztoků byla proměřena závislost jejich koncentrace v roztoku na absorbanci. Koncentrace jednotlivých roztoků pro kalibrační měření činily 0.5, 1, 1.5, 2 a 2.5 mg/50ml. Měření probíhalo za vlnové délky 460nm. Hodnoty kalibračních závislostí jsou uvedeny v tabulce 6, grafy kalibračních křivek jednotlivých vzorků jsou uvedeny v příloze 1.

5.1.2 Stanovení celkového fosforu ve vzorcích

Stanovení celkového fosforu ve vzorcích fosforečnanů od společnosti FOSFA a. s. probíhalo podle návodu v kapitole 4.1.7, za podmínek stejných s měřením kalibračních závislostí. Z každého vzorku bylo připraveno a proměřeno pět navážek, jednotlivé navážky jsou uvedeny v tabulce 1.

Získané hodnoty koncentrací (c) fosforu v kalibračních roztocích (mg/50ml) a odpovídající hodnoty absorbance byli zpracovány lineární regresí závislosti $A = f(c)$. A z hodnot absorbance získaných měřením vzorků byly vypočítány koncentrace fosforu pomocí kalibrační přímky a přepočítány na procentuální obsah fosforu v každém z pěti navažovaných vzorků.

Ze znalosti koncentrace fosforu z kalibrační přímky byl vypočten procentuální obsah fosforu ve vzorcích a to takto:

$$\% = \frac{c \cdot Fz}{m \cdot 100} = \frac{0,757475 \cdot 100}{500,2 \cdot 100} = 15,14\%$$

Hodnoty kalibračních závislostí, odpovídající hodnoty absorbancí a vypočtené procentuální obsahy fosforu ve všech vzorcích jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6: Určení celkového fosforu ve vzorcích

Kalibrační roztoky v (mg/50ml)	Absorbance kalibračních roztoků	Absorbance celkového fosforu	% celkového fosforu	Průměr (%)
Carnal č. 2110				
0,5	0,106	0,278	48,40	47,87
1	0,178	0,270	46,75	
1,5	0,214	0,285	49,88	
2	0,266	0,278	48,40	
2,5	0,363	0,266	45,93	
Carnal č. 961				
0,5	0,086	0,273	49,85	50,11
1	0,160	0,279	47,21	
1,5	0,234	0,295	50,25	
2	0,315	0,301	51,35	
2,5	0,341	0,304	51,93	
Pyro č. 3907				
0,5	0,105	0,357	52,39	51,70
1	0,186	0,332	48,49	
1,5	0,258	0,349	51,19	
2	0,319	0,360	52,88	
2,5	0,439	0,357	52,42	
Orto č. 7811				
0,5	0,104	0,301	50,52	50,41
1	0,177	0,309	52,22	
1,5	0,258	0,291	48,47	
2	0,317	0,310	52,41	
2,5	0,335	0,291	48,44	
Hamifos č. 210				
0,5	0,093	0,337	50,79	51,08
1	0,167	0,341	51,41	
1,5	0,274	0,338	50,92	
2	0,330	0,342	51,55	
2,5	0,404	0,337	50,77	
Hamifos č. 215				
0,5	0,081	0,061	62,35	64,48
1	0,165	0,070	67,03	
1,5	0,260	0,064	64,20	
2	0,339	0,069	67,03	
2,5	0,527	0,060	61,73	

Z výsledků je patrné, že vzorky obsahují poměrně vysoké procento fosforu. Téměř u všech vzorků představuje zastoupení více než 50%. Pouze v případě vzorku Carnal 2110 je zastoupení pod 50 %.

V každém z šesti vzorků byla nalezena vždy směs fosforečnanů různých forem (orto, pyro, a tripolyfosforečnanů).

5.2 Stanovení množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů pomocí iontové chromatografie

5.2.1 Závislost retence aniontů na iontové síle mobilní fáze

Sledování závislosti retenčních časů fluoridů a fosforečnanů na iontové síle bylo prováděno podle návodu uvedeného v kapitole 4.2.8 a 4.2.9. Retenční časy jednotlivých aniontů byly zjišťovány při různých složení mobilní fáze, jednotlivé složení všech fází je uvedeno v tabulce 2. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 7. Z uvedené tabulky je patrné, že s rostoucí koncentrací se retenční časy jednotlivých aniontů zkracují a postupně se přibližují k píku odpovídajícímu mrtvému objemu, což je patrné z grafických záznamů uvedených v příloze 2. Na základě těchto výsledků byla zvolena mobilní fáze o složení 1,8 mmol/l NaHCO₃ a 4,5 mmol/l Na₂CO₃ pro další měření.

Tabulka 7: závislost retence časů na iontové síle

Mobilní fáze	Retenční časy fluoridů (min)	Retenční časy fosforečnanů (min)
1 mobilní fáze	8,427	42,947
2 mobilní fáze	8,080	34,967
3 mobilní fáze	7,587	28,060
4 mobilní fáze	7,210	23,527
5 mobilní fáze	6,957	20,593
6 mobilní fáze	6,543	16,370

5.2.2 Závislost retence aniontů na pH mobilní fáze

Sledování závislosti retenčních časů fluoridů na pH mobilní fáze bylo prováděno podle návodu uvedeného v kapitole 4.2.10. Retenční časy fluoridových aniontů byly nejprve zjišťovány při různém složení uhličitanu v mobilních fázích, čímž se měnilo pH, jednotlivé složení všech fází je uvedeno v tabulce 3. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 8. Z uvedeného

tabulky je patrné, že s rostoucí koncentrací uhličitanu se retenční časy jednotlivých aniontů zkracují a postupně se přibližují k píku odpovídajícímu mrtvému objemu.

Tabulka 8: závislost retence časů na pH

Mobilní fáze	Retenční časy fluoridů (min)
1 mobilní fáze	12,460
2 mobilní fáze	9,993
3 mobilní fáze	8,763
4 mobilní fáze	7,890
5 mobilní fáze	7,553

Na základě těchto výsledků byla zvolena mobilní fáze o složení 0,8 mmol/l NaHCO₃ a 2 mmol/l Na₂CO₃ pro měření závislosti retence časů na pH. Byla proměřována závislost při pH 10,5, 10, 9,5, 9, 8,5 a 8, které bylo upravováno pomocí kyseliny borité. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 9. Z uvedené tabulky je zřejmé, že s rostoucí hodnotou pH se retenční časy fluoridových aniontů opět zkracují a přibližují se k píku odpovídajícímu mrtvému objemu. Na základě těchto výsledků bylo zvoleno pH 10,5 jako vhodné pro další měření. Pro další měření pH nebylo upravováno pomocí kyseliny borité.

Tabulka 9: závislost retence časů na pH mobilní fáze (1,8 mmol/l NaHCO₃ + 4,5 mmol/l Na₂CO₃)

pH	Retenční časy fluoridů (min)
8	17,930
8,5	15,930
9	12,470
9,5	10,480
10	8,710
10,5	7,890

Jako optimální mobilní fáze pro stanovení fluoridových iontů ve vzorcích fosforečnanů byla stanovena mobilní fáze složená ze 1,8 mmol/l NaHCO₃ a 4,5 mmol/l Na₂CO₃ o pH 10,5.

5.2.3 Měření kalibračních závislostí

Měření kalibračních závislostí probíhalo podle návodu uvedeného v kapitole 4.2.6. U fluoridových aniontů byla proměřena závislost píků na jejich koncentraci v roztoku. Koncentrace jednotlivých roztoků pro kalibrační měření činily 0.018, 0.0336, 0.072, 0.1086 a 0.1809 mg/l. Průtok mobilní fáze 0,4 ml/min, pH 10,5 a složení mobilní fáze 1,8 mmol/l NaHCO₃ + 4,5 mmol/l Na₂CO₃. Hodnoty kalibračních závislostí jsou uvedeny v tabulce 10 a záznam kalibrační závislosti je uveden v příloze 3.

Tabulka 10: kalibrační závislosti plochy píku na koncentraci fluoridových aniontů

c (mg/l)	Plocha píků fluoridových aniontů
0,0180	7,7085
0,0336	17,2276
0,0720	33,5947
0,1086	51,4331
0,1809	83,9592

5.2.4 Stanovení fluoridových iontů ve vzorcích

Stanovení fluoridových aniontů ve vzorcích fosforečnanů od společnosti FOSFA a. s. probíhalo podle návodu v kapitole 4.2.11, za podmínek stejných s měřením kalibračních závislostí. Z každého vzorku byly připraveny a proměřeny dvě navážky, jednotlivé navážky jsou uvedeny v tabulce 4. Integrací jednotlivých píků ve vzorcích fosforečnanů byly zjištěny plochy píků a pomocí rovnic kalibračních přímek určeny koncentrace jednotlivých látek ve vzorcích.

Ze znalosti množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů, získaných iontovou chromatografií, byl proveden přepoččet na jejich procentuální obsah a to takto:

$$\frac{c/F_z}{m} \cdot 100 = \frac{0,145/20}{0,4997 \cdot 10^3} \cdot 100 = 1,45 \cdot 10^{-3}\%$$

Vypočtené plochy píků, koncentrace a procentuální obsah pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v tabulce 11. Záznamy chromatogramů některých vzorků jsou uvedeny v příloze 4.

Tabulka 11: stanovení fluoridových iontů IC

Navážka č. (g)	Plochy píků	Naměřené hodnoty (mg/l)	Procentuální obsah (%)
Carnal č. 2110			
m ₁	11,095	0,145	1,45.10 ⁻³
m ₂	6,274	0,08	0,80.10 ⁻³
Carnal č. 961			
m ₁	11,975	0,155	1,54.10 ⁻³
m ₂	11,773	0,155	1,55.10 ⁻³
Pyro č. 3907			
m ₁	29,859	0,51	0,010
m ₂	31,752	0,54	0,010
Orto č. 7811			
m ₁	5,213	0,07	1,39.10 ⁻³
m ₂	6,506	0,085	1,70.10 ⁻³
Hamifos č. 210			
m ₁	0,000	0,000	0,000
m ₂	0,000	0,000	0,000
Hamifos č. 215			
m ₁	0,000	0,000	0,000
m ₂	0,000	0,000	0,000

Z výsledků je patrné, že vzorky obsahují poměrně malé procento fluoridových iontů. Zastoupení fluoridů ve vzorcích Carnal 2110, Carnal 961 a Orto 7811 je pod 0,01 %. V případě vzorku pyro 3907 je fluoridový iont v zastoupení pod 0,1 %. A v případě vzorků Hamifos 210 a Hamifos 215 se fluoridový iont nevyskytuje vůbec.

5.3 Stanovení množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů pomocí ISE elektrody

5.3.1 Stanovení fluoridových iontů ve vzorcích

Stanovení fluoridových aniontů ve vzorcích fosforečnanů od společnosti FOSFA a. s. probíhalo podle návodu v kapitole 4.3.7. Měření probíhalo na nakalibrovaném přístroji a pH pro měření se udržovalo mezi 4-8. Z každého vzorku byly připraveny a proměřeny dvě navážky, jednotlivé navážky jsou uvedeny v tabulce 5. Na přístroji byly odečítány přímo hodnoty koncentrací fluoridů.

Ze znalosti množství fluoridů ve vzorcích fosforečnanů, získaných ISE, byl proveden přepočítání na jejich procentuální obsah a to takto:

$$\frac{c / F_z}{m} \cdot 100 = \frac{0,041/10}{0,0998 \cdot 10^3} \cdot 100 = 4,11 \cdot 10^{-3}\%$$

Hodnoty koncentrací fluoridových iontů a vypočtené procentuální obsahy ve všech vzorcích jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12: stanovení fluoridových iontů ISE

Navážka č. (g)	Naměřené hodnoty (mg/l)	Procentuální obsah (%)
Carnal č. 2110		
m ₁	0,041	4,11.10 ⁻³
m ₂	0,040	4,00.10 ⁻³
Carnal č. 961		
m ₁	0,088	8,80.10 ⁻³
m ₂	0,080	8,00.10 ⁻³
Pyro č. 3907		
m ₁	0,045	4,49.10 ⁻³
m ₂	0,044	4,40.10 ⁻³
Orto č. 7811		
m ₁	0,048	4,80.10 ⁻³
m ₂	0,046	4,60.10 ⁻³
Hamifos č. 210		
m ₁	0,037	3,70.10 ⁻³
m ₂	0,048	4,79.10 ⁻³
Hamifos č. 215		
m ₁	0,085	8,51.10 ⁻³
m ₂	0,082	8,21.10 ⁻³

Z výsledků je patrné, že vzorky obsahují opět malé procento fluoridových iontů. U všech vzorcích je procento fluoridových iontů pod 0,01%.

Závěr

Cílem této práce bylo stanovit množství fluoridových iontů ve vzorcích anorganických solí potravinářské kvality, dodané od firmy FOSFA a.s. a vypracovat jednoduchou analytickou metodu s využitím iontové chromatografie, která by mohla nahradit dosud používané měření ISE elektrodou. Toto množství bylo zjišťováno pomocí iontové chromatografie s vodivostní detekcí. Jako druhá analytická metoda pro stanovení fluoridových iontů ve vzorcích byla použita také potenciometrická metoda ISE s fluoridovou elektrodou.

Separace byla provedena na koloně HEMA-S 100 Q-L 10 μm (3x150mm, nerez č. 8). Byla použita mobilní fáze při složení hydrogenuhličitan sodný o koncentraci 1,8 mmol/l a uhličitanu sodného o koncentraci 4,5 mmol/l a pH 10,5. Průtok mobilní fáze byl 0,4 ml/min. Signál byl snímán vodivostním detektorem v kombinaci s autosupresorem, pro zvýšení citlivosti. Jednotlivé výsledky analýz byly zpracovány podle statických parametrů a vyhodnoceny za pomoci softwaru Clarity chromatography Station (verze 2.2.0). Měřením bylo zjištěno, že se vzrůstající koncentrací a pH mobilní fáze, se retenční časy fluoridových aniontů, které se z kolony eluují zkracují.

Bylo testováno šest vzorků různých solí kyseliny fosforečné. Z kalibrační závislosti plocha píku – koncentrace analytu byl stanoven obsah fluoridových iontů ve vzorcích. Výsledky měření jsou zaznamenány v tabulkách uvedených výše.

Bylo zjištěno, že ve vzorcích se nachází velmi malé, případně žádné množství fluoridových iontů. Nezbytný denní příjem je 1,5-4 mg, z čehož vyplývá, že fluoridové ionty ve stanovovaných vzorcích, nemají nežádoucí vliv na organismus člověka.

Cílem práce byl návrh jednoduché analytické metody s využitím iontové chromatografie, která by nahradila metodu ISE. Rozdíly ve výsledcích jsou dány zejména různými detekčními limity u obou metod. Jedinou nevýhodou IC systému jsou vyšší detekční limity ve srovnání s fluoridovou iontově-selektivní elektrodou. Avšak mezi výhody iontové chromatografie patří možnost pracovat s několikanásobně menším množstvím vzorku, velká rychlost analýzy, možnost automatického vyhodnocení naměřených dat a hlavně dobrá reprodukovatelnost výsledků, což je u fluoridové ISE elektrody ztíženo rušivými vlivy, v našem případě fosforečnanovými ionty ve vzorku a neustálou změnou pH.

Použitá literatura

1. GREENWOOD, N. N.; EARNSHAW, A. *Chemie prvků*. Praha: Infromatorium, 1993. 793 s.
2. RICHTER, Miroslav. *Katedra technických věd* [online]. 2007 [cit. 2011-05-31]. Chemie a technologie sloučenin fosforu. Dostupné z WWW: <http://fzpj.ujep.cz/ktv/uc_texty/pt1/Chemie_a_techologie_sloucenin_fosforu.pdf>.
3. *Chemie.gfxs.cz - Chemický vzdělávací portál* [online]. 2011 [cit. 2011-05-31]. Fosfor (₁₅P). Dostupné z WWW: <http://chemie.gfxs.cz/index.php?pg=prvek&prvek_id=15>.
4. *The Columbia Encyclopedia* [online]. 2009 [cit. 2011-05-31]. Phosphate. Dostupné z WWW: <<http://www.questia.com/PM.qst?a=o&d=117039188>>.
5. VELÍŠEK, Jan; HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin I*. Tábor: Osis, 2009. 602 s.
6. BUŇKA, František; BUŇKOVÁ, Leona. Úloha tavicích solí při výrobě tavených sýrů. *Potravinářská revue* [online]. 2009, 1, [cit. 2011-05-31]. Dostupný z WWW: <<http://www.agral.cz/LinkClick.aspx?fileticket=jpFxyhHHZhk%3D&tabid=730&language=cs-CZ>>.
7. MOLINS, R., Phosphates in Food, Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, CRC Press, Inc. 1991, ISBN 0-8493-4588-X
8. *Fosfa - Potravinářské aplikace - rok založení 1884* [online]. 2011 [cit. 2011-05-31]. Potravinářské aplikace. Dostupné z WWW: <<http://web.fosfa.cz/cs/potravinarske-aplikace/text.html?id=119>>.
9. ŠIŠKANOVÁ, T. V.; BRONCOVÁ, G. *Ústav analytické chemie VŠCHT Praha* [online]. 2011 [cit. 2011-05-18]. Stanovení fluoridů iontově-selektivní elektrodou. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/anl/lach1/2_Pot-F.pdf>.
10. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2003. 132 s.
11. BARTOŠ, Martin, et al. *Analytická chemie I*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2004. 197 s.
12. *Fakulta pedagogická, Katedra chemie* [online]. 2007 [cit. 2011-05-18]. Potenciometrie. Dostupné z WWW: <<http://www.kch.zcu.cz/cz/di/sks/03-POTENCIOMETRIE.pdf>>.

13. SINICA, Alla. Ústav analytické chemie VŠCHT Praha [online]. 2006 [cit. 2011-05-18]. Spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/anl/lach1/5_Foto.pdf>.
14. SÝKORA, D.; FÄHNRIK, J. Ústav analytické chemie VŠCHT Praha [online]. 2009 [cit. 2011-05-18]. Kapalinová chromatografie a absorpční UV spektrofotometrie. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/anl/lach1/6_LC.pdf>.
15. *Infravykurovanie* [online]. 2011 [cit. 2011-06-05]. INFRATHERM, s.r.o. Dostupné z WWW: <<http://www.infratherm.sk/eshop/imgs/zareni.jpg>>.
16. BARTUŠEK, Miloš; PAZOUREK, Jiří. Chemistry Department at FS MU BRNO [online]. 2003 [cit. 2011-05-18]. Základy metod analytické chemie. Dostupné z WWW: <http://chemi.muni.cz/~analytika/bartusek_skripta.pdf>.
17. *Ústav konzervace potravin a technologie masa* [online]. 2006 [cit. 2011-05-18]. CÍTP v analýze potravin. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/cze/cze_itp.pdf>.
18. PAZOUREK, Jiří. *Farmaceutická fakulta* [online]. 2003 [cit. 2011-05-18]. Moderní elektroforetické analytické metody. Dostupné z WWW: <http://faf.vfu.cz/export/sites/faf/struktura-fakulty/sekce_ustavy/ustav_chemickych_leciv/vyuka/analyticka-chemie/elforeza.pdf>.
19. *Vienna University of Technology* [online]. 2002 [cit. 2011-06-05]. Principles and Troubleshooting Techniques in ION CHROMATOGRAPHY. Dostupné z WWW: <<http://www.iac.tuwien.ac.at/instprakt/ic4.pdf>>.
20. *Přírodovědecká fakulta UK v Praze* [online]. 2010 [cit. 2011-06-05]. Laboratoře geologických ústavů. Dostupné z WWW: <<http://www.natur.cuni.cz/geologie/laboratore/laboratore-a-metody/laborator-iontove-chromatografie>>.
21. *Vydavatelství VŠCHT Praha* [online]. 2005 [cit. 2011-06-05]. Měníč iontů. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/menic_iontu.html>.
22. *[HPLC]High Performance Liquid Chromatography/* [online]. 2008 [cit. 2011-06-05]. Základní charakteristiky chromatografického procesu. Dostupné z WWW: <<http://www.hplc.cz/Teorie/uvod.html>>.

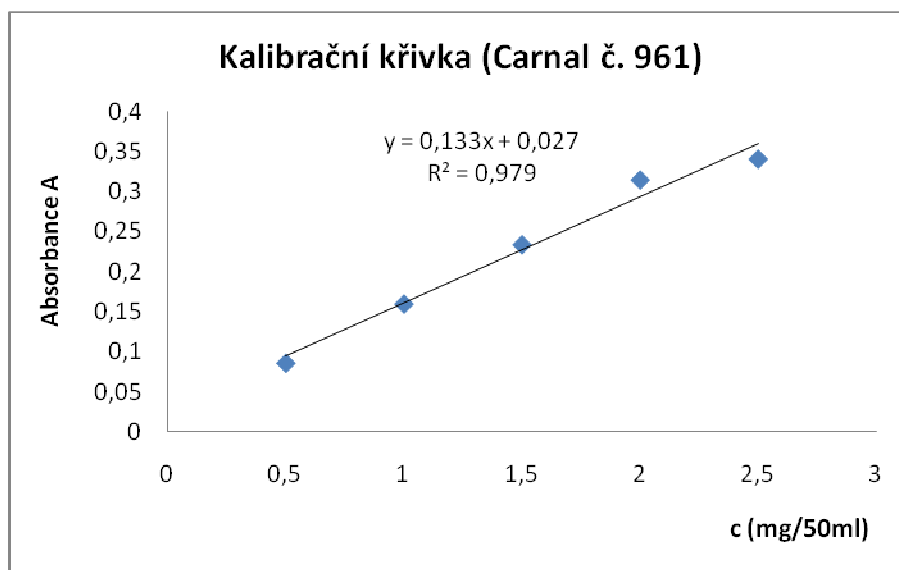
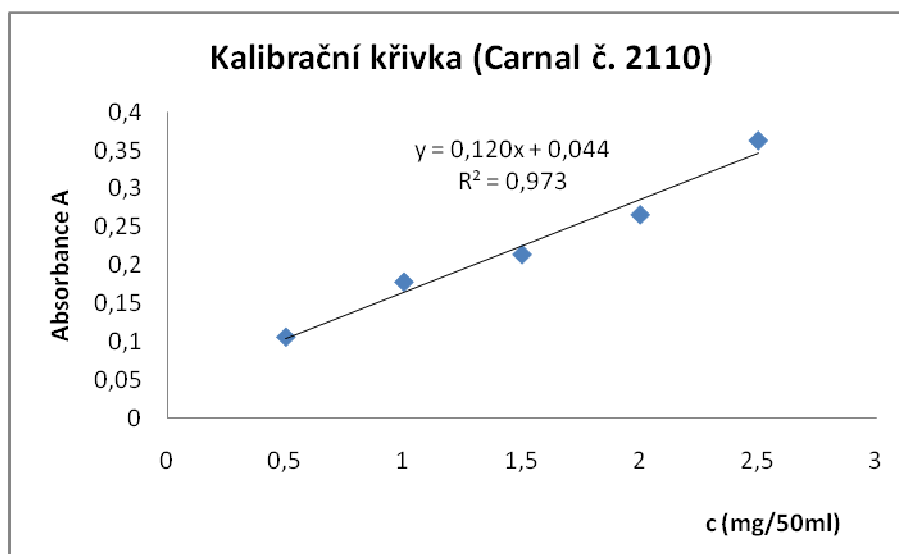
23. COUFAL, Pavel. *Přírodovědecká fakulta UK v Praze* [online]. 2004 [cit. 2011-06-05]. High Performance Liquid Chromatography, HPLC. Dostupné z WWW: <<http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html>>.
24. WEISS, Joachim. *Ion chromatography*. Weinheim: Verlagsgesellschaft mbH, 1995. 465 s.
25. HELÁN, V. a kol. *Analýza organických látek*, Český Těšín: 2 THETA, 2005
26. EITH, Claudia, et al. *Practical Ion Chromatography*. Herisau : Metrohm Ltd., 2001. 160 s.
27. *Datový standard MZ ČR* [online]. 2005 [cit. 2011-06-05]. Kapalinová chromatografie. Dostupné z WWW: <<http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/200610/hypertext/AJALB.htm>>.
28. DOUŠA, M. Chromatografická kolona [online]. 2009 [cit.2011-06-05]. Dostupný z WWW: http://www.hplc.cz/Teorie/hplc_column.html
29. CVAČKA, Josef. *Katedra analytické chemie* [online]. 2010 [cit. 2011-06-05]. Detekce ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii. Dostupné z WWW: <<http://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc3.pdf>>.
30. */HPLC/High Performance Liquid Chromatography/* [online]. 2007 [cit. 2011-06-05]. UV/VIS HPLC detektory. Dostupné z WWW: <http://www.hplc.cz/Teorie/UV_VIS_detector.html>.
31. */HPLC/High Performance Liquid Chromatography/* [online]. 2009 [cit. 2011-06-05]. Elektrochemické HPLC detektory. Dostupné z WWW: <http://www.hplc.cz/Teorie/EC_detector.html>.
32. */HPLC/High Performance Liquid Chromatography/* [online]. 2007 [cit. 2011-06-05]. Vodivostní HPLC detektory. Dostupné z WWW: <http://www.hplc.cz/Teorie/COND_detector.html>.

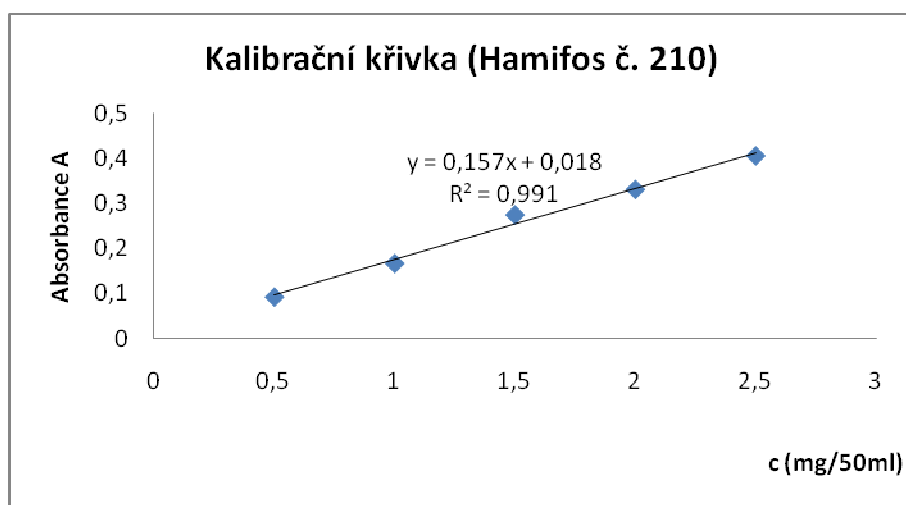
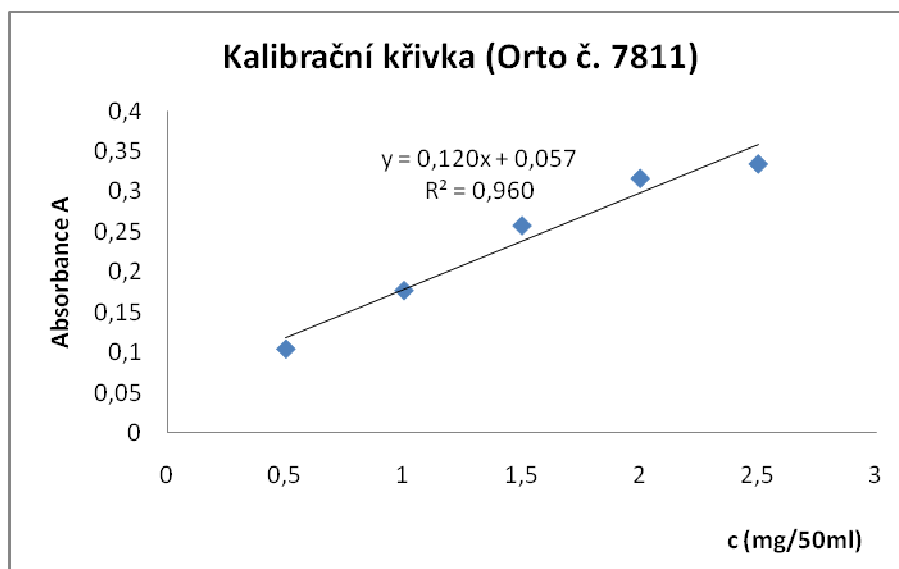
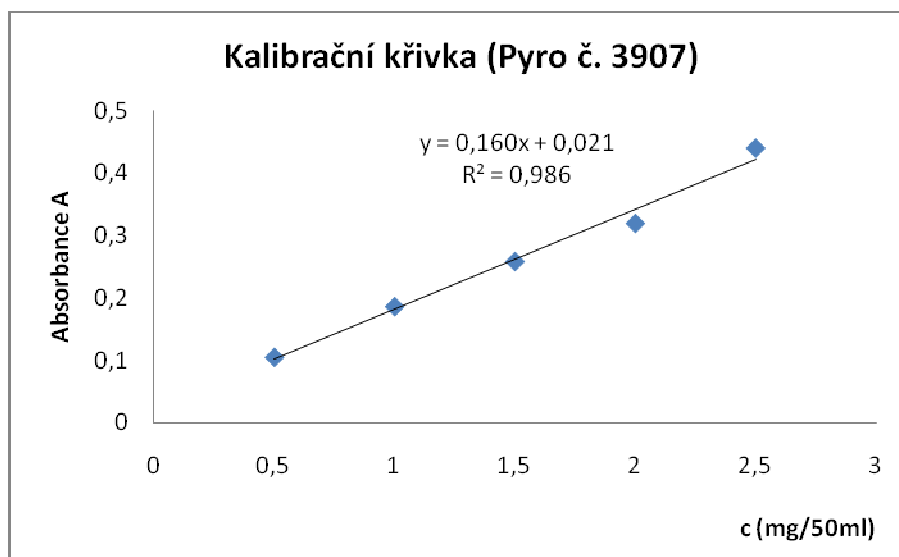
Seznam zkratk

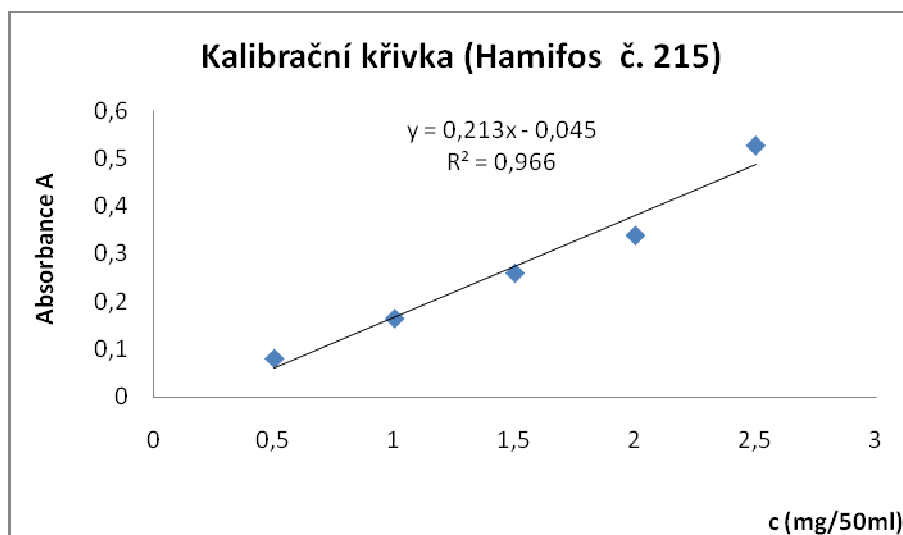
A	Absorbance
CCD	Posiční detektor
ΔE	Elektromotorické napětí článku
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie
IC	Iontová chromatografie
ISE	Iontově-selektivní elektrody
TISAB	Total Ionic Strength Adjustment Buffer
UV	Ultrafialové záření

Příloha

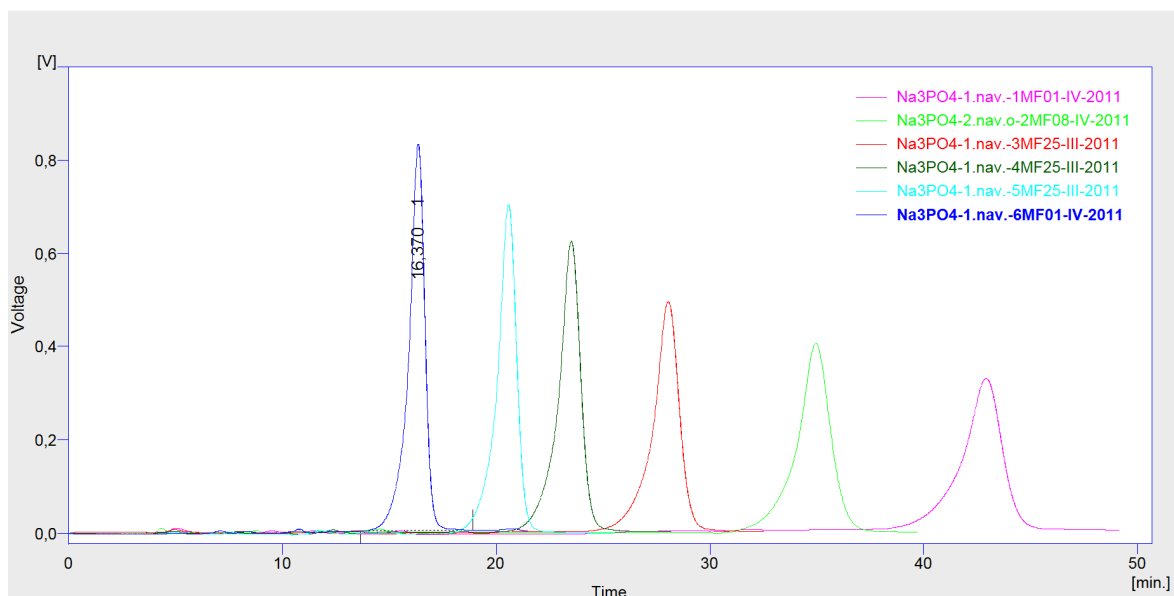
Příloha 1

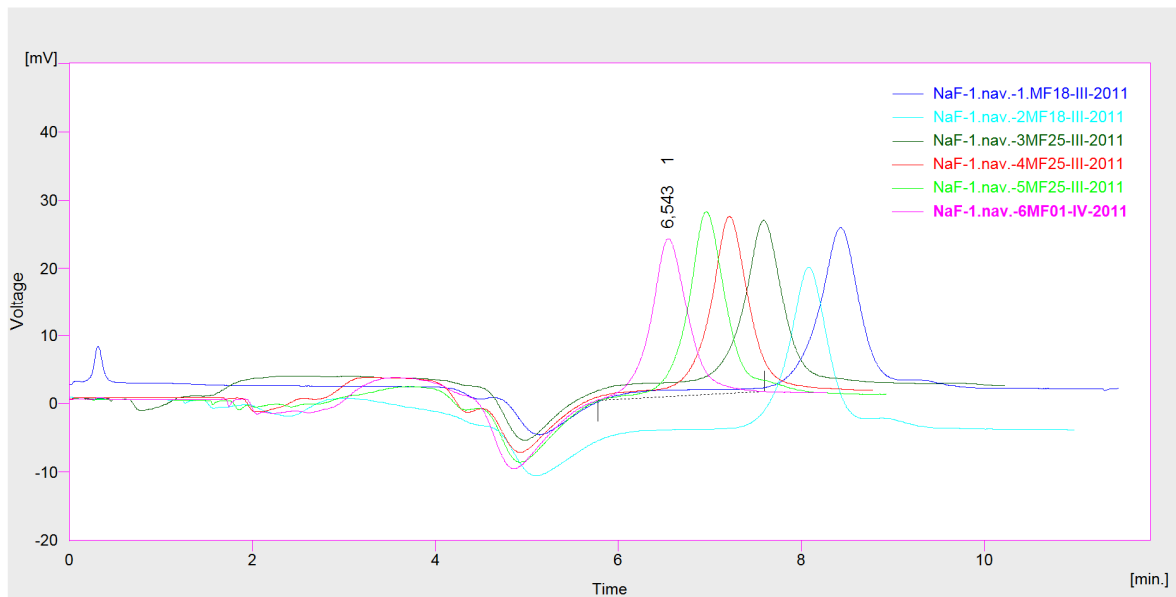




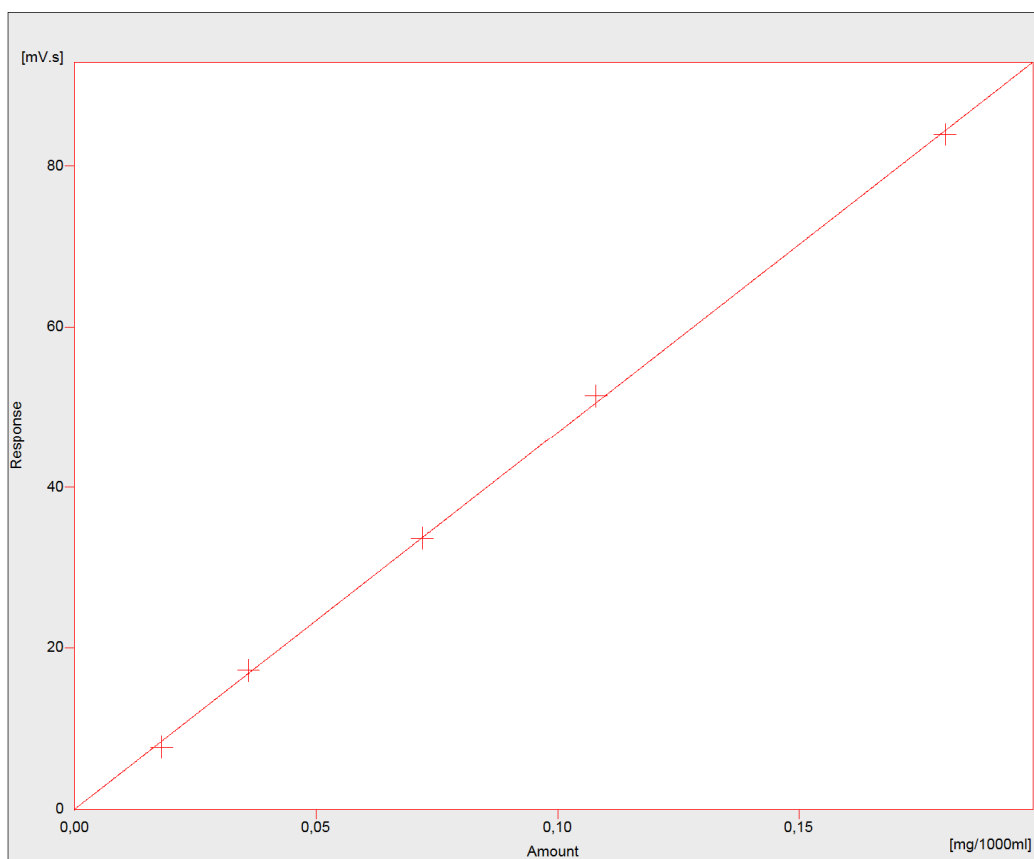


Příloha 2





Příloha 3



Příloha 4

