

STANOVENÍ FLUORIDŮ IONTOVĚ-SELEKTIVNÍ ELEKTRODOU

T. V. Šiškanova, E. Pospíšilová, J. Koucký a G. Broncová

1. Teoretický úvod

1.1. Potenciometrie

Je to 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 se měří digitálním voltmetrem s velkou vstupní impedancí při prakticky nulovém proudu.¹

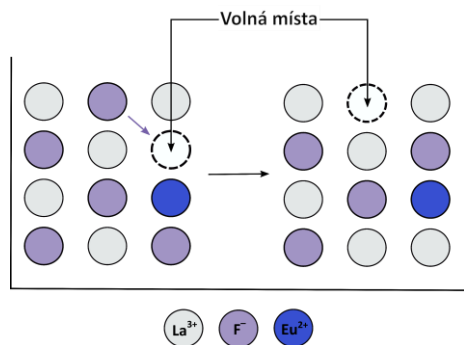
V praxi se využívají dvě varianty potenciometrie:

- a) **přímá potenciometrie**, při které je koncentrace analytu stanovena přímo z hodnoty měřeného napětí. V tomto případě jde o metodu srovnávací, neboť stanovení je prováděno na základě kalibrační závislosti, kdy je porovnáváno napětí článku změřené v analyzovaném roztoku s napětím článku změřeném za shodných podmínek v roztocích o známé koncentraci analytu.
- b) **potenciometrická titrace**, při které je koncentrace analytu stanovena ze spotřeby odměrného roztoku. V tomto případě jde o měření závislosti rovnovážného napětí článku na množství přidaného odměrného roztoku a zjištění konečného bodu titrace.

1.2. Indikační elektrody: Iontově-selektivní elektrody

Při potenciometrii se jako indikační elektrody nejvíce používají membránové **iontově-selektivní elektrody** (ISE), které jsou určeny pro stanovení příslušných iontů. Typickým zástupcem membránových ISE je vápníková elektroda (selektivní na Ca^{2+} ionty), kyanidová elektroda (selektivní na CN^- ionty), fluoridová elektroda (selektivní na F^- ionty) atp. Selektivní membrána elektrod, která je důležitá pro stanovení iontu, je ovlivněná jejím složením. Iontově-selektivní membrána odděluje vnitřní systém elektrody od měřeného roztoku a může být z různých materiálů. Membrána Ca-ISE je polyvinylchloridová membrána se selektivním ionoforem pro vápenaté ionty. Membrána F-ISE je tvořena monokrystalem fluoridu lanthanitého (LaF_3) s příměsí fluoridu europia (EuF_2). Zabudováním EuF_2 do krystalové mřížky LaF_3 vznikají volná místa po chybějícím fluoridovém aniontu, která mohou být zaplňována právě sousedními fluoridovými anionty (**Obr. 1**). Důsledkem tohoto jevu je membrána výrazně selektivní k fluoridovému aniontu.

¹ Článkem protéká zanedbatelný proud (řádově 10^{-14} A).



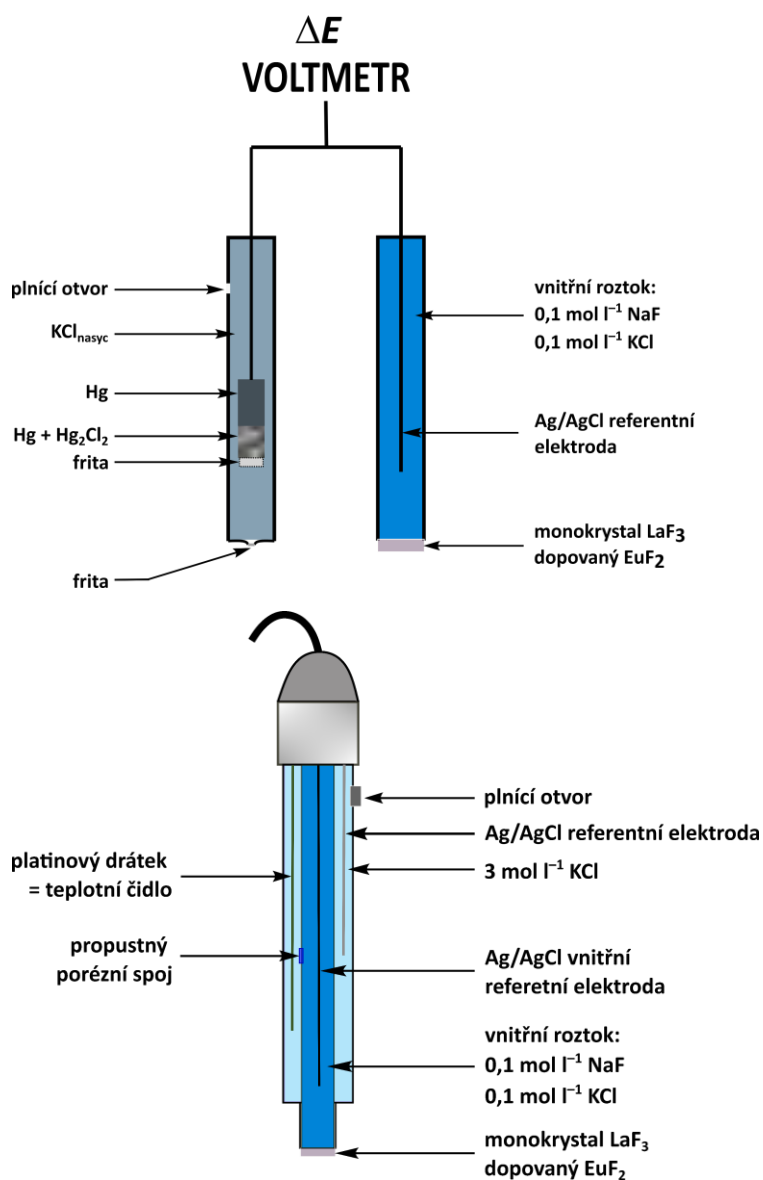
Obr. 1. Mechanismus potenciometrické odezvy fluoridové iontově-selektivní elektrody. Migrace fluoridového iontu mřížkou LaF_3 dopovanou EuF_2 .

V laboratoři se používá jak tradiční samostatná, tak i kombinovaná fluoridová ISE (F-ISE). Samostatná F-ISE vyžaduje použití externí referenční elektrody. V případě kombinované F-ISE je elektroda vybavena vestavěným referenčním systémem (**Obr. 2**).

A)



B)



Obr. 2. Fotografie a schématické znázornění samostatné (A) a kombinované (B) fluoridové iontově-selektivní elektrody. Uspořádání elektrod na fotografiích odpovídá schématům.

1.3. Základní vlastnosti iontově-selektivních elektrod

Základní vlastnosti ISE, mezi které patří směrnice (mV dekádu^{-1}), koncentrační rozsah (mol l^{-1}) a praktický detekční limit ($c_{\min}$, mol l^{-1}), se určují z kalibrační křivky (**Schéma 1**). Kalibrační křivka se získává proměřováním elektromotorického napětí článku na dekadickém logaritmu aktivity dané látky ($\Delta E = f(\log a)$).² Měří se směrem od nejnižší koncentrace iontu k nejvyšší koncentraci. Před měřením se ISE elektroda aktivuje namáčením přes noc v roztoku iontu o koncentraci $10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$, na který je selektivní.

Koncentrační rozsah je lineární oblast kalibrační křivky ($R^2 = 0,999$) pro příslušný ion (**Schéma 1**), kde se uplatňuje Nernstova odezva a stanovuje se v něm směrnice. Odchyłky od lineárního chování (nelineární část kalibračního grafu) jsou způsobeny tím, že a) při velkých koncentracích analytu se již nedaří udržet konstantní iontovou sílu analyzovaného roztoku; b) při velmi malých koncentracích analytu se projevují některé specifické děje na rozhraní membrána–roztok, např. adsorpce na povrchu membrány nebo její rozpouštění. Fluoridová ISE je použitelná v rozmezí koncentrací od 10^{-6} do $10^{-1} \text{ mol l}^{-1}$.

Praktický detekční limit ($c_{\min}$) je definován pomocí průsečíku dvou přímek, a to extrapolované lineární části kalibrační přímky, ve které platí Nernstova odezva s přímkou rovnoběžnou s osou x a jejíž poloha na ose y odpovídá potenciálu při nulové koncentraci fluoridových iontů (roztok TISAB bez fluoridových iontů) (**Schéma 1**).

Směrnice (citlivost) ISE ($S = 2,303 \frac{RT}{zF}$) je změna elektromotorického napětí článku při změně koncentrace o jeden řád v lineárním úseku kalibrační křivky (tedy v koncentračním rozsahu). Směrnice (teoretická Nernstova odezva) pro jednomocné ionty ($z = \pm 1$) má teoretickou hodnotu $\pm 59,2 \text{ mV}$ na koncentrační dekádu ($\pm 59,2 \text{ mV dekádu}^{-1}$) a pro dvojmocné ionty ($z = \pm 2$) je $\pm 29,6 \text{ mV}$ na koncentrační dekádu ($\pm 29,6 \text{ mV dekádu}^{-1}$) (**Schéma 2**). Kladné znaménko platí pro kationty, kdy se zvětšením koncentrace daného iontu dojde k nárůstu potenciálu ISE. Záporné znaménko platí naopak při aniontové odezvě, kdy s růstem koncentrace iontu dochází k poklesu potenciálu ISE.

Nernstova rovnice je rovnice, která se získává z kalibrační závislosti $\Delta E = f(\log[F^-])$ pomocí lineární regrese v programu MS Excel ($y = ax + b$) (kde „ y “ je měřené elektromotorické napětí článku (ΔE), „ a “ je experimentální **směrnice ISE (S)**, „ x “ je logaritmus koncentrace iontů v měřeném roztoku ($\log [F^-]$)).

² a značí aktivitu (efektivní koncentraci) sledovaného iontu. Aktivita je vyjadřována jako součin relativní rovnovážné koncentrace $[X]$ a aktivitního koeficientu $\gamma(X)$: $a(X) = \gamma(X) \cdot [X]$ Ve zředěných roztocích, kde předpokládáme, že aktivní koeficienty jsou jednotkové, můžeme tedy aktivitu nahradit koncentrací.

Selektivita se vyjadřuje nejčastěji pomocí **dekadického logaritmu koeficientu selektivity** ($\log K_{F^-,J}^{pot}$, kde F^- je primární ion, J je interferující ion). Hodnota $\log K_{F^-,J}^{pot}$ může být buď záporná, nebo kladná. Čím je hodnota $\log K_{F^-,J}^{pot}$ zápornější, tím méně příslušný interferující ion ovlivňuje potenciometrické stanovení primárního iontu. Čím je hodnota $\log K_{F^-,J}^{pot}$ větší, tím více příslušný interferující ion ovlivňuje potenciometrické stanovení primárního iontu. Hodnoty $\log K_{F^-,J}^{pot}$ se stanovují experimentálně. Znalost koeficientů selektivity je pro praktické použití ISE velice důležitá. Mezi interferující anionty pro F-ISE patří OH^- ionty, mezi interferující kationty pro F-ISE patří kationty, které tvoří s fluoridy komplexy (Fe^{3+} , Al^{3+} a další). Proto se potenciometrické stanovení fluoridů provádí v prostředí tlumiče „Total Ionic Strength Adjustment Buffer“ (TISAB), který udržuje pH v rozmezí 5 až 6 a eliminuje tak interferenci OH^- iontů.

Hystereze (paměťový efekt) elektrody souvisí s adsorpčními a desorpčními procesy. Tento jev lze pozorovat při přechodu od koncentrovanějších roztoků ke zředěnějším (např. přechod od 10^{-3} k 10^{-4} mol l^{-1}), při měření reálných vzorků, pro nezregenerované povrchy.

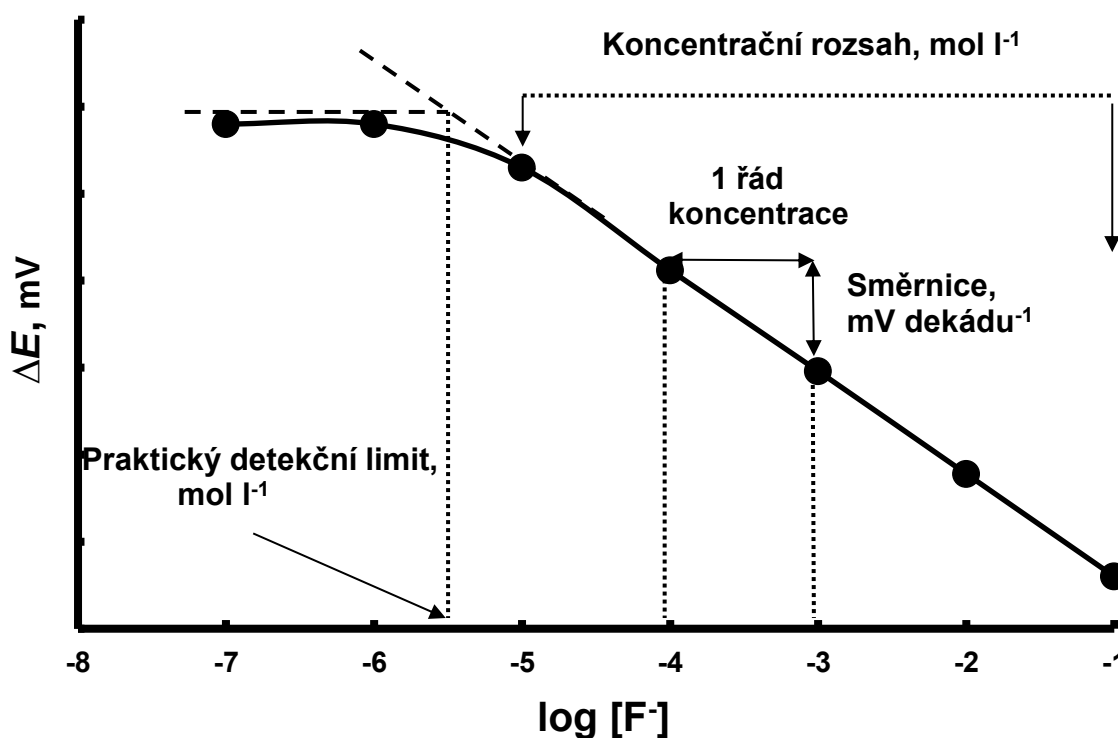


Schéma 1. Vyhodnocení základních vlastností ISE selektivní na anionty z kalibrační křivky.

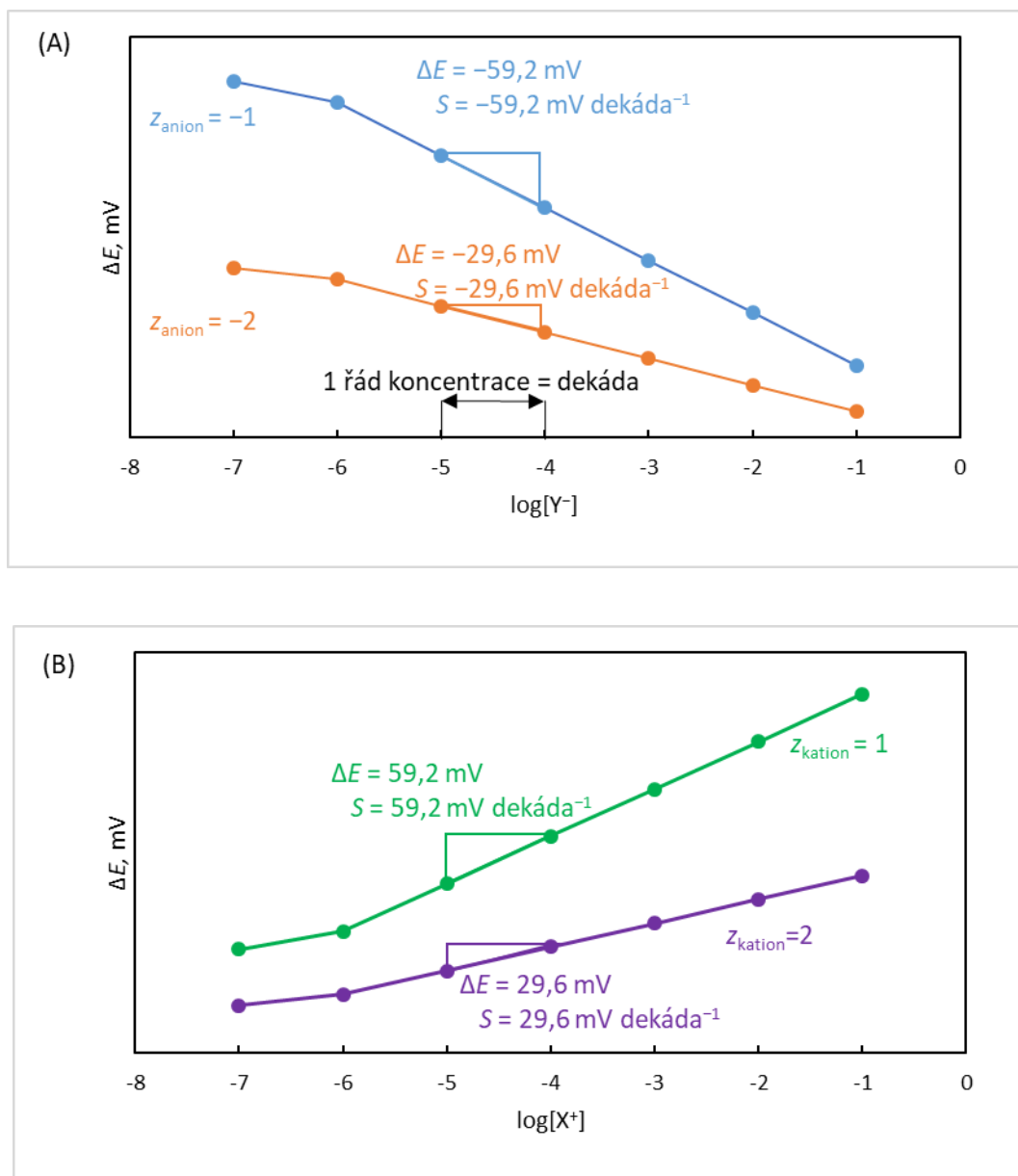


Schéma 2. Kalibrační křivky odpovídající aniontové (A) a kationtové (B) odezvě iontově-selektivní elektrody.

2. Měření s iontově-selektivními elektrodami

2.1. Regenerace

Pro získání reprodukovatelných výsledků se ISE musí před potenciometrickým měřením regenerovat. Regenerace se obvykle provádí ponořením elektrod do regeneračního roztoku, jehož složení se co nejvíce podobá kalibračním roztokům (zejména pH, iontová síla a přítomnost interferentů). Regenerace F-ISE je založena na ponoření elektrod do promíchávaného roztoku tlumiče, například $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ TISAB.

Regeneraci elektrodového páru nebo kombinované elektrody je třeba provádět vždy před měření kalibrační křivky a před měřením vzorku. Při každé regeneraci je třeba použít **čerstvý regenerační roztok**. Doba regenerace souvisí s paměťovým efektem individuální iontově-selektivní membrány.

2.2. Míchání

Při potenciometrickém stanovení je výhodné měřit v míchaných roztocích, protože celkovou dobu odezvy (doby potřebné k dosažení ustálené hodnoty potenciálu) elektrody určuje tloušťka hydrodynamické vrstvy na elektrodovém povrchu. Při míchání se tloušťka hydrodynamické vrstvy u elektrody zmenšuje, doba odezvy elektrody se zkracuje a reprodukovatelnost výsledků se zlepšuje. Důležité je, aby **rychlost pohybu roztoku a geometrie pracovního prostoru byly konstantní**.

2.3. Potenciometrický signál

Při potenciometrii s ISE se měří elektromotorické napětí (ΔE) článku, které je rozdílem potenciálů ISE a referentní elektrody. Sestavený článek pro samostatnou i kombinovanou F-ISE je možno popsat schématem 3.

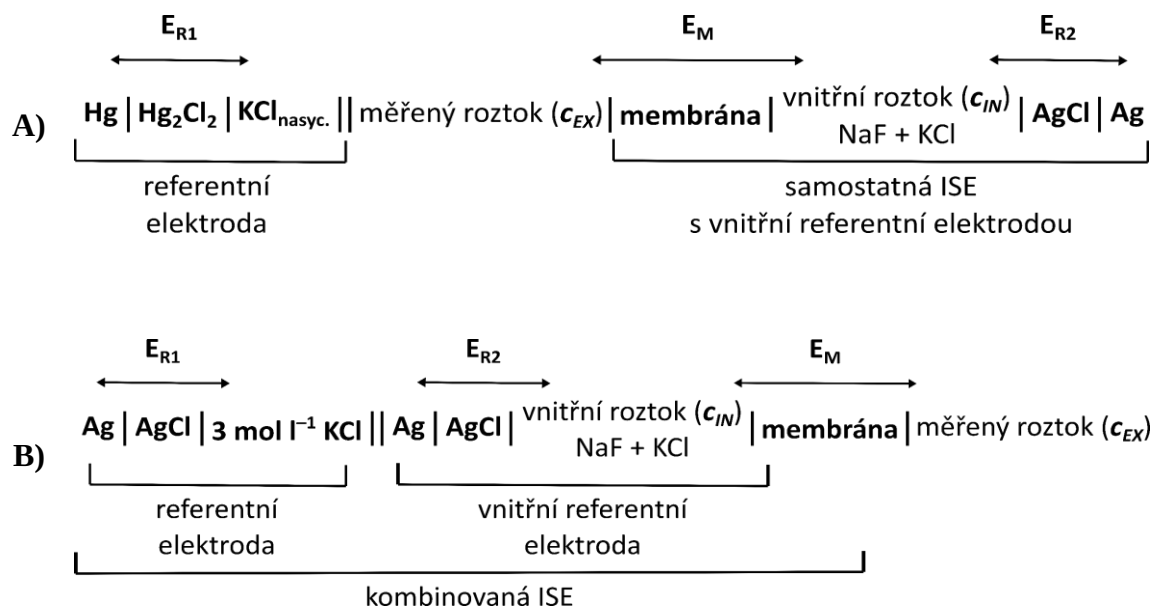


Schéma 3. Elektrochemický článek popisující měření se samostatnou (A) a kombinovanou (B) iontově-selektivní elektrodou. E_{R1} je potenciál samostatné kalomelové referentní elektrody nebo vnitřní referentní argentschloridové elektrody, E_M je membránový potenciál na rozhraní mezi měřeným roztokem (EX) a vnitřním roztokem (IN), E_{R2} je potenciál vnitřní referentní argentschloridové elektrody.

Elektromotorické napětí (ΔE) článku je:

$$\Delta E = E_{R2} + E_M - E_{R1} \quad (1)$$

$$E_{ISE} = E_{R2} + E_M \quad (2)$$

$$E_M = \frac{RT}{zF} \ln \frac{a(F^-)_{EX}}{a(F^-)_{IN}} = 2,303 \frac{RT}{zF} \log \frac{\gamma(F^-)_{EX} \cdot [F^-]_{EX}}{\gamma(F^-)_{IN} \cdot [F^-]_{IN}} \quad (3)$$

kde $[F^-]_{EX}$ je hledaná koncentrace. Při použití konstantní iontové síly roztoku (*viz dále*) lze za konstantní považovat i aktivitní koeficienty (F^-), který se zahrne do konstanty K .

Pro potenciál F-ISE při 25°C (298,15 K) platí:

$$E_{F-ISE} = K - 0,0592 \cdot \log[F^-]. \quad (4)$$

Potenciál ISE, který obecně závisí nejen na koncentraci stanovovaného iontu, ale i dalších iontů přítomných v roztoku (interferentů), popisuje Nikolského-Eisenmannova rovnice. Ta pro F-ISE nabývá tvar:

$$E_{F-ISE} = K - S \cdot \log \left([F^-] + \sum_j K_{F^-,j}^{pot} \cdot c[j]^{z_F/z_j} \right), \quad (5)$$

kde S je směrnice, $[F^-]$ a $[J]$ jsou postupně koncentrace fluoridů a koncentrace interferujících iontů, z_F a z_j jsou náboje fluoridů a interferentů a $K_{F^-,j}^{pot}$ je koeficient selektivity (pro praktické účely vyjadřovaný v logaritmické formě). Mezi interferenty F-ISE patří OH^- , Al^{3+} , Fe^{3+} ionty.

2.4. Potenciometrická selektivita

Selektivitu elektrody k analytu oproti různým interferentům popisuje potenciometrický koeficient selektivity ($\log K_{F^-,j}^{pot}$) (*viz. „Základní vlastnosti iontově-selektivních elektrod“*) [1]. Pro stanovení potenciometrických koeficientů selektivity existují 3 metody:

- metoda konstantní koncentrace interferujícího iontu („Fixed Interference Method“, FIM),
- metoda oddělených roztoků („Separate Solution Method“, SSM),
- metoda shodných potenciálů („Matched Potential Method“, MPM).

Příloha 1 schematicky znázorňuje metody stanovení potenciometrických koeficientů selektivity. Nejpoužívanější jsou metoda oddělených roztoků (SSM) a metoda konstantní koncentrace interferujícího iontu (FIM).

3. Techniky měření

3.1. Metoda kalibrační křivky

Metoda je obecně vhodná, pokud se stanovuje obsah iontů v jednoduché matrici (pitná či minerální voda). Složení vzorků a standardních roztoků musí být co nejpodobnější (zejména pH, iontová síla a přítomnost interferentů), má-li být stanovení provedeno s přijatelnou správností. Přesnost stanovení není obecně příliš vysoká. Při přesnosti měření potenciálu (± 1 mV) při laboratorní teplotě je relativní chyba stanovení $\pm 4\%$ pro jednomocné a $\pm 8\%$ pro dvojmocné ionty. Je žádoucí, aby **koncentrace sledovaného iontu ve vzorcích ležela v lineární oblasti kalibrační křivky (koncentračním rozsahu)**. Koncentrace sledovaného iontu se vypočítá přímo z modifikované Nernstovy rovnice vyhodnocené z experimentálně získané kalibrační křivky.

V případě F-ISE je rovnice ve tvaru:

$$\Delta E_x = K' - S \cdot \log[F^-], \quad (6)$$

ΔE_x je napětí potenciometrického článku měřené v roztoku vzorku,

K' je aditivní konstanta, která se zjišťuje z experimentální rovnice (6) po kalibraci ISE elektrody,

S je experimentální hodnota směrnice, která se zjišťuje z experimentální rovnice (6) po kalibraci ISE elektrody,

$[F^-]$ je stanovovaná neznámá koncentrace fluoridových aniontů ve vzorku.

3.2. Metoda přidavku standardu

Metoda je vhodnější pro stanovení koncentrace iontů ve složitější matrici (krevní sérum, krev). Hlavní výhodou je, že se celé měření provádí za přítomnosti matrice vzorku, proto lze očekávat výsledky s lepší přesností a správností. Základem této metody je měření napětí článku ve vzorku před přidáním (ΔE_x , rovnice (6)) a po přidání ($\Delta E_1, \Delta E_2, \Delta E_3, \dots \Delta E_n$) standardu (c_s) o objemu V_s ke vzorku o objemu V_x :

$$\Delta E_1 = K' - S \cdot \log \frac{c_x V_x + c_s V_{s1}}{V_x + V_{s1}} \quad (7)^3$$

$$\Delta E_n = K' - S \cdot \log \frac{c_x V_x + c_s V_{sn}}{V_x + V_{sn}} \quad (8)$$

$$c_x = \frac{c_s V_{sn}}{((V_x + V_{sn}) \cdot 10^{\frac{\Delta E}{S}}) - V_x} \quad (9)$$

ΔE_x je napětí článku v roztoku vzorku bez přidavku,

$\Delta E_1 \dots \Delta E_n$ jsou napětí článku v roztoku vzorku s přidavkem standardu,

ΔE je rozdíl napětí článku s přidavkem a bez přidavku,

c_x a c_s jsou stanovovaná neznámá koncentrace v roztoku a známá koncentrace fluoridů v přidávaném standardu,

V_x a V_{sn} jsou přidávané objemy neznámého vzorku a standardu,

V_x je objem vzorku připraveného k měření,

$V_{s1} \dots V_{sn}$ jsou objemy standardních přidavků přidávaných ke vzorku,

K' je aditivní konstanta, která závisí na konstrukci ISE elektrody,

S je experimentální hodnota směrnice, která se zjišťuje v průběhu kalibrace elektrody.

4. Kde se fluoridy vyskytují? Obsah fluoridů v reálných vzorcích

Fluoridy jsou přítomny v minerálních vodách. Mattoni obsahuje 0,55–1,80 mg l⁻¹ (v současné době neuváděno), Ondrášovka 1,08 mg l⁻¹, Dobrá voda 0,46 mg l⁻¹, Vincentka 2,54 mg l⁻¹. Vyšší obsah fluoridů se nachází v čaji (zelený čaj: 71–180 mg kg⁻¹; černý čaj: 30–441 mg kg⁻¹), Coca-Cole (0,82–0,98 mg l⁻¹), grapefruitovém džusu (6,80 mg l⁻¹). Je známo, že příjem fluoru je žádoucí především pro vývoj zdravých zubů. Některé zubní pasty proto mají záměrně zvýšený obsah sloučenin fluoru (fluorid sodný, aminofluoridy, fluorofosforečnany). Koncentrace fluoru se v různých typech past liší. Nejvíce fluoru obsahují tzv. terapeutické zubní pasty.

³ Argument logaritmu má být správně bezrozměrný (měli bychom používat relativní rovnovážné koncentrace).

Pro dospělé se uvádí jako přípustná koncentrace 1 000 až 1 500 mg kg⁻¹, pro děti do 4–5 let věku je obsah nižší, tj. 250–400 mg kg⁻¹ a to kvůli opakovanému zjištění, že malé děti pastu občas polykají. V náplni této úlohy je stanovení fluoridů v různých vzorcích zubních past.

Návod laboratorní práce

STANOVENÍ OBSAHU FLUORIDŮ V MODELOVÉM VZORKU A V ZUBNÍ PASTĚ

Úkoly

1. Příprava roztoků a vzorku
2. Určení základních vlastností F-ISE:
 - směrnice (S , mV dekádu⁻¹)
 - koncentrační rozsah (mol l⁻¹)
3. Stanovení obsahu fluoridových aniontů ve vzorku zubní pasty pomocí metody:
 - kalibrační křivky
 - přidavku standardu
4. Vliv pH na potenciometrické stanovení fluoridových aniontů F-ISE

Požadované roztoky a vybavení

- 2 mol l⁻¹ zásobní roztok TISAB (je k dispozici v digestoři)
- laboratorní standard fluoridů (ρ_{std} , g l⁻¹, koncentrace je udaná na etiketě)
- přenosný pH 913 meter Lab (Metrohm, ČR)
- magnetická míchačka
- držák elektrody
- kombinovaná F-ISE (Metrohm, ČR) (fluoridová ISE typu 600500600, cena 35 360 Kč)
- ROW-automatická mikropipeta 100 – 1000 μ l (5 499 Kč) se špičkami
- balónek typu „Kartell“
- návody
- notebook (společný pro 3 studenty (cena 8 290 Kč)

Technické zařízení: pH 913 meter

Laboratorní přístroj 913 pH Meter umožňuje měření stejnosměrného napětí, pH a teploty. Přístroj je napájen pomocí zabudované baterie (3,7 V) nebo síťového adaptéru. Technické specifikace jsou uvedeny v Tabulce 1. Přístroj je vybaven LCD monitorem a ovládacím panelem. Jednotlivé konektory a ovládací prvky jsou popsány na obrázku 3.

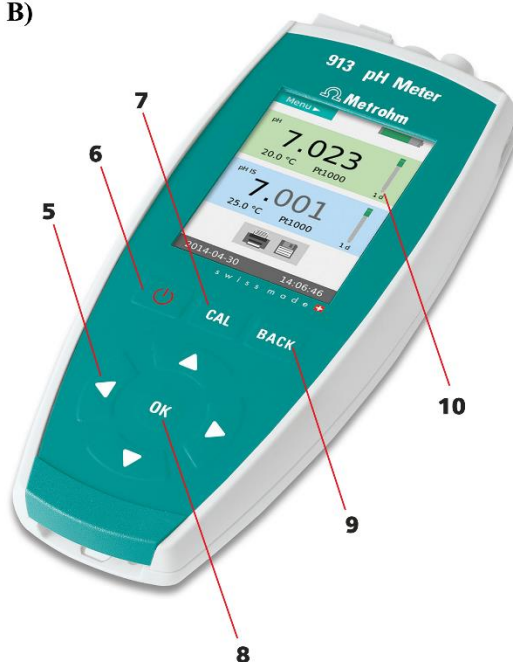
Tabulka 1 Technické parametry přístroje 913 pH Meter

Měřená veličina	Napětí	pH
Rozsah	-1 200 až +1 200 mV	Experimentální pH elektrody
Rozlišení	0,1 mV	0,001 pH
Přesnost	$\pm 0,2$ mV	$\pm 0,003$ pH

A)



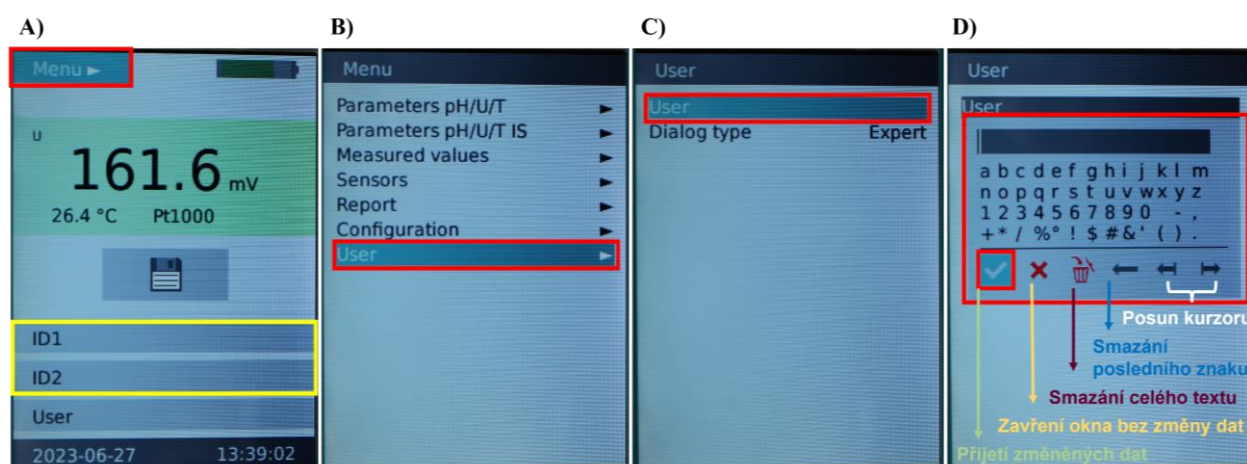
B)



Obr. 3. Laboratorní přístroj 913 pH Meter: A) jednotlivé konektory: 1 - konektor pro měrnou elektrodu, 2 - konektory pro teplotní senzor/referentní elektrodu (modrá nahoře, červená dole), 3 - přípojka pro speciální čip (v laboratoři není k dispozici), 4 - konektor pro napájení/převod dat; B) čelní panel: 5 - tlačítka šipek (pro pohyb v menu a výběr znaků), 6 - tlačítko pro zapnutí/vypnutí, 7 - tlačítko pro zaznamenání kalibračních bodů (nepoužíváme), 8 - tlačítko pro potvrzení volby, 9 - tlačítko zpět, 10 - LCD monitor.

Ovládání přístroje 913 pH Meter

- 1) Pokud je přístroj napájen ze sítě, nachází se vždy v režimu „Standby“. Pro zapnutí zmáčknete tlačítko 6 (Obr. 3B). Zobrazí se domovská obrazovka (Obr. 4A). Pokud se hodnota napětí ustaluje, jsou jednotlivé číslice na obrazovce zobrazeny šedivě. Po ustálení signálu jednotlivé číslice zčernají.
- 2) Nejprve je třeba do přístroje zadat jméno uživatele bez diakritiky. Zadání jména do přístroje je možné pomocí tlačítek šipek (5) a OK (8) cestou: Menu → User → User (Obr. 4A-C, červené rámečky), kde pomocí klávesnice na obrazovce zadáte jméno (Obr. 4D). K návratu na domovskou obrazovku využijte tlačítko „back“ (9).



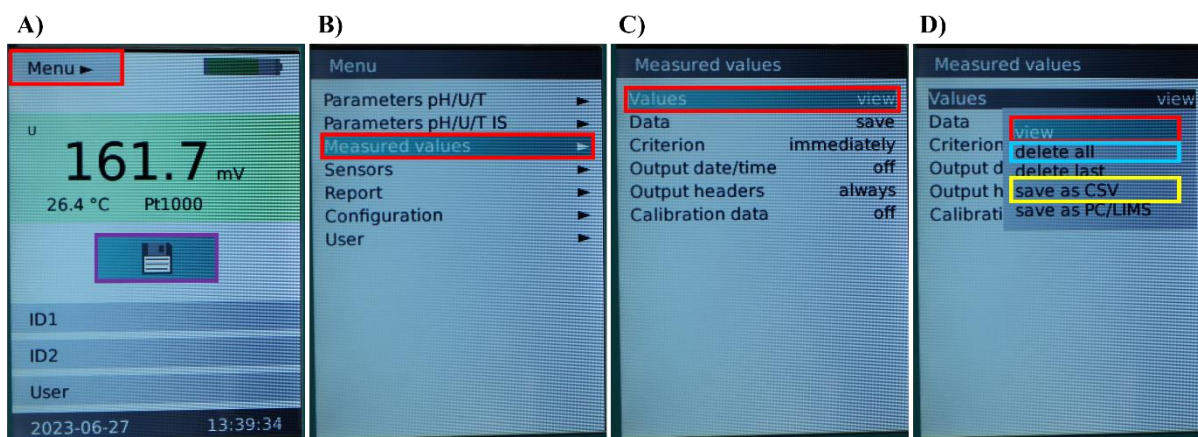
Obr. 4 Domovská obrazovka (A) a postup jak zadat do přístroje jméno (B-D).

- 3) Při měření jednotlivých roztoků je možné do přístroje zadat informace o roztoku, který bude měřen (např. o jaký kalibrační roztok nebo přídatek se jedná). Tyto informace lze zadat na domovské obrazovce pod ID1 a ID2 (Obr. 4A, žlutý rámeček). Pod ID1 zadejte dle jednotlivých měření:

- a. Kalibrace: CAL 1 až 3
- b. Stanovení fluoridů v pastě: STD

ID1 nebudete v rámci jednoho měření měnit. ID2 budete měnit před každým přidavkem. Do této kolonky stačí zaznamenat číslo přídatku. Před jednotlivými přidavky vždy nejprve změňte ID2, přidejte daný přídatek a zapněte stopky na 1 minutu. Po uplynutí jedné minuty uložte hodnotu napětí (viz bod 4).

- 4) Měřené hodnoty napětí je možné uložit do paměti přístroje stisknutím ikony diskety (Obr. 5A, fialový rámeček) na domovské obrazovce a uložené hodnoty lze kdykoliv zobrazit cestou: Menu → Measured values → Values → view (Obr. 5A–D, červené rámečky). Automaticky se vždy zobrazuje poslední uložená hodnota a všechny informace k ní zaznamenané. Mezi jednotlivými hodnotami, které byly uloženy, je možné se pohybovat pomocí šipek nahoru/dolů i doleva/doprava (5). Tímto způsobem lze uložit až 10 000 hodnot.



Obr. 5 Postup uložení změřených hodnot, jejich následné zobrazení (červené rámečky), export dat do počítače (žlutý rámeček) a vymazání dat na konci úlohy (tyrkysový rámeček).

- 5) Naměřené a uložené hodnoty je možné ze zařízení exportovat do počítače v podobě CSV souboru. Před připojením počítače je třeba zadat příkaz k exportu cestou: Menu → Measured values → Values → save as CSV (Obr. 5D, žlutý rámeček). Po připojení přístroje k počítači pomocí USB kabelu se přístroj připojí podobně jako flash disk a naměřené hodnoty najdete v souboru MEASREPORT.csv
- 6) Po skončení laboratorního dne vymažte z přístroje všechny naměřené hodnoty cestou: Menu → Measured values → Values → delete all (Obr. 5D, tyrkysový rámeček).

1. Příprava roztoků a vzorku

1.1. Příprava pracovního roztoku TISAB ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$)

TISAB je vodný roztok směsi NaCl, CH_3COONa , CH_3COOH a *trans*-1,2-diaminocyklohexan-*N,N,N',N'*-tetraoctové kyseliny. Vysoká koncentrace NaCl zajišťuje konstantní iontovou sílu roztoku. Směs kyseliny octové a její sodné soli (octanový tlumič pH) zaručuje nastavení pH na hodnotu 5–6. Komplexační činidlo (*trans*-1,2-diaminocyklohexan-*N,N,N',N'*-tetraoctová kyselina) váže vícemocné kationty (Fe^{3+} , Al^{3+}) do stabilních komplexů a brání tak jejich komplexaci s fluoridy.

1. Odebrat pipetou 5 ml zásobního roztoku TISAB ($c = 2,0 \text{ mol l}^{-1}$) do 1000 ml odměrné baňky.
2. Doplnit destilovanou vodou po rysku a řádně promíchat.

1.2. Příprava vzorku zubní pasty

- Zvážit váženku se vzorkem zubní pasty na analytických vahách s přesností 0,1 mg.
- Odebrat **1,5–2,0 g vzorku** z váženky **suchou skleněnou tyčinkou do suché kádinky o objemu 400 ml**. Provádět odběr rychle kvůli prchavosti vzorku zubní pasty. Zavírat váženku po každém odběru. Diference na váze před a po odběru vzorku poskytne informace o přesné navážce stanovovaného vzorku zubní pasty. Zaznamenat přesnou navážku pasty do sešitu. Nechat **skleněnou tyčinku** v kádince, v žádném případě **neotírat!**.
- Přidat cca 100 ml destilované vody, varnou kuličku do 400 ml kádinky se vzorkem zubní pasty. **Připravit vzorek zubní pasty (chcete získat jemně promíchanou suspenzi bez pěny)**. Přikrýt kádinku hodinovým sklíčkem, umístit na vyhřátou plotnu s vloženou tyčinkou.
- Zahřát připravený vzorek zubní pasty cca 5 min. V případě, že vzorek začne pění a hrozí jeho přetečení z kádinky, kádinku z plotny odstavit, ochladit kádinku vodou ze stříčky a vrátit na plotnu po opadnutí pěny.

Pozor! Suspenzi v kádince nenechávejte bez dozoru – hrozí utajený var a prudké vzkypění vařeného roztoku, čímž může dojít ke ztrátě části vzorku. V tomto případě je třeba roztok vylít a připravit novou navážku vzorku.

- Ochladit kádinku se suspenzí zubní pasty ve vodné lázni, která se nachází v digestoři.
- Opláchnout hodinové sklíčko a skleněnou tyčinku malým množstvím destilované vody do kádinky.
- Převést kvantitativně suspenzi do odměrné baňky o objemu 250 ml, dochladit na laboratorní teplotu.
- Přidat **1,5 ml zásobního roztoku TISAB ($c = 2 \text{ mol l}^{-1}$)** do odměrné baňky o objemu 250 ml. Zvolit správnou pipetu pro odběr 1,5 ml kapaliny (pipetovat celý objem najednou).
- Doplnit po rysku destilovanou vodou a pečlivě promíchat.

Pozor! Některé roztoky zubních past tvoří bohatou pěnu. Když chcete dosáhnout dobrých výsledků, buďte trpěliví a sledujte pokyny asistenta.

2. Určení základních vlastností F-ISE

2.1. Regenerace F-ISE

1. Přidat 75 ml pracovního roztoku TISAB ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) do 150 ml kádinky.
2. Umístit 150 ml kádinku s roztokem TISAB ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) **doprostřed míchačky**.
3. Ponořit elektrodu F-ISE 2 cm pod hladinu blízko ke stěně kádinky (sledujte pokyny asistenta) do roztoku TISAB. Povrch míchačky i spodek kádinky musí být suchý.
4. Vložit míchadlo, pustit míchání **POZOR!** Míchadlo může elektrody poškodit, proto se jich nesmí dotknout!!!
5. Regenerovat elektrodu 10 min.
6. Vypnout míchání, vyjmout elektrodu z roztoku, opláchnout destilovanou vodou, osušit povrch elektrody buničinou a pokračovat v plnění úkolů podle zadání asistenta.

2.2. Kalibrace F-ISE

1. Odebrat pipetou 50 ml pracovního roztoku TISAB ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) do 100 ml kádinky.
2. Umístit 100 ml kádinku s připraveným roztokem **doprostřed míchačky**, ponořit elektrodu F-ISE 1 cm pod hladinu blízko ke stěně kádinky. Povrch míchačky i spodek kádinky musí být suché.
3. Ponořit elektrody F-ISE do 50 ml $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ TISAB, vložit míchadlo, pustit míchání **POZOR!** Míchadlo může elektrody poškodit, proto se jich nesmí dotknout!
4. Přidat 100 μl laboratorního standardního roztoku fluoridů (pipetovat automatickou pipetou 100–1000 μl), zapnout stopky, zaznamenat napětí po minutě pro roztok 1 (c_1). Koncentrace laboratorního standardního roztoku fluoridů je udaná na etiketě (ρ_{std} , g l^{-1}).
5. Přidat 200 μl standardního roztoku fluoridů (ρ_{std} , g l^{-1}), zapnout stopky, zaznamenat napětí po minutě pro roztok 2 (c_2).
6. Přidat 300 μl standardního roztoku fluoridů (ρ_{std} , g l^{-1}), zapnout stopky, zaznamenat napětí po minutě pro roztok 3 (c_3).
7. Přidat 400 μl standardního roztoku fluoridů (ρ_{std} , g l^{-1}), zapnout stopky, zaznamenat napětí po minutě pro roztok 4 (c_4).
8. Přidat 800 μl standardního roztoku fluoridů (ρ_{std} , g l^{-1}), zapnout stopky, zaznamenat napětí po minutě pro roztok 5 (c_5).
9. Přidat 1000 μl standardního roztoku fluoridů (ρ_{std} , g l^{-1}), zapnout stopky, zaznamenat napětí po minutě pro roztok 5 (c_6).
10. Vypnout míchání, vyjmout elektrodu z roztoku, opláchnout destilovanou vodou, osušit povrch elektrody buničinou a vyměnit roztok.
11. Vyměnit proměřený roztok za 50 ml pracovního roztoku TISAB ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$). Regenerovat elektrodu 10 min.

12. Zopakovat kalibraci 3krát.
13. Vyplnit tabulku 2.
14. Vypočítat koncentraci fluoridových aniontů ($c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_6$) (mol l^{-1}).
15. Sestrojit závislost elektromotorického napětí článku (ΔE) na logaritmu koncentrace fluoridového iontu v připravených kalibračních roztocích ($\log [\text{F}^-]$) ($R^2 = 0,999$).
16. Vyhodnotit experimentální kalibrační rovnici pomocí lineární regrese v programu MS Excel. **Konzultujte výsledky s asistentem.**
17. Určit základní vlastnosti z experimentální kalibrační křivky.
18. Vypočítat průměrnou hodnotu směrnice (citlivosti).

Tabulka 2. Parametry použité a získané v průběhu kalibrace fluoridové iontově-selektivní elektrody ($M_{\text{F}} = 18,9984 \text{ g mol}^{-1}$)

Přídavek standardního roztoku fluoridu, μl	100	200	300	400	800	1000
Objem 0,01 mol l^{-1} TISAB, ml	50	50	50	50	50	50
Celkový objem, ml						
$[\text{F}^-]$, mol l^{-1}						
ΔE, mV (1. měření)						
ΔE, mV (2. měření)						
ΔE, mV (3. měření)						

3. Stanovení obsahu fluoridových aniontů ve vzorku zubní pasty

3.1. Metoda kalibrační přímky

1. Zregenerovat elektrodu v čerstvém $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ roztoku TISAB (10 min).
2. Promíchat vzorek zubní pasty v odměrné baňce a část promíchaného vzorku převést do 150 ml kádinky.
3. Odebrat pipetou 50 ml vzorku zubní pasty do 100 ml kádinky.
4. Změřit napětí po 1 min pro vzorek.
5. Dosadit změřené napětí do svojí/vlastní experimentální kalibrační rovnice a určit koncentraci fluoridů (mol l^{-1}).
6. Zjistit jakému hmotnostnímu procentu fluoridů $\% (m/m)_F$ odpovídá vypočtená koncentrace fluoridových iontů vzorku zubní pasty.

3.2. Metoda přidavku standardu

1. Zregenerovat elektrodu v čerstvém $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ roztoku TISAB (10 min).
2. Promíchat vzorek zubní pasty v odměrné baňce a část promíchaného vzorku převést do 150 ml kádinky.
3. Odebrat pipetou 50 ml vzorku zubní pasty do 100 ml kádinky.
4. Přidat laboratorní standardní roztok fluoridů: $100 \text{ } \mu\text{l} \rightarrow 200 \text{ } \mu\text{l} \rightarrow 400 \text{ } \mu\text{l} \rightarrow 800 \text{ } \mu\text{l} \rightarrow 1000 \text{ } \mu\text{l}$.
5. Zaznamenat napětí po 1 min po každém přidavku: $\Delta E_1 \rightarrow \Delta E_2 \rightarrow \Delta E_3 \rightarrow \Delta E_4 \rightarrow \Delta E_5$.
6. Zjistit hmotnostní procento fluoridů $\% (m/m)_F$ ve vzorku zubní pasty pro každý přidavek.
7. Vyplnit tabulku 3.
8. Vypočítat průměrnou hodnotu hmotnostního procenta fluoridů $\% (m/m)_F$ ve vzorku zubní pasty (viz příloha 2).

Tabulka 3. Parametry použité a získané v průběhu měření vzorku zubní pasty metodou přidavku standardu

Přídavek standardního roztoku fluoridu, μl	0	100	200	400	800	1000
Objem analyzovaného vzorku zubní pasty, ml	50	50	50	50	50	50
Celkový objem, ml						
ΔE_n, mV						
$[\text{F}^-]_n$, mol l^{-1}						
$\% (m/m)$						

Porovnat výsledky analýzy zubní pasty získané metodou kalibrační křivky a pomocí vícenásobného standardního přidavku. Pokuste se interpretovat případné rozdíly.

Laboratorní protokol

Vyplňte do připravené šablony „Template_Příjmení“

Přebírání a předávání stolů

1. Zkontrolovat laboratorní vybavení podle přiloženého seznamu.
2. Po ukončení práce:
 - zregenerovat elektrodu v čerstvém $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ roztoku TISAB (10 min),
 - vrátit elektrodu do uchovávajícího roztoku,
 - umýt použité nádobí,
 - vrátit funkční balónek, automatickou pipetu,
 - vymazat uložené hodnoty v přístroji 913 pH Meter.

Doporučená literatura

1. K. N. Mikhelson, v knize: Ion-Selective Electrodes (K. N.Mikhelson, ed.), Ion-Selective Electrode Characteristics, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg 2013
2. J. Koryta, K. Štulík: Iontově-selektivní elektrody, Academia, Praha 1984.
3. F. Opekar, I. Jelinek, P. Rychlovský, Z. Plzák: Základní analytická chemie, UK, Karolinum, Praha 2002.
4. E. Bakker, Ph. Bühlmann, E. Pretsch: Chem. Rev. 97 (1997) 3083.
5. International Union of Pure and Applied Chemistry : Compendium of Terminology in Analytical Chemistry (<https://books.rsc.org/books/edited-volume/2059/Compendium-of-Terminology-in-Analytical-Chemistry>).

Kontrolní otázky

1. Popište princip přímé potenciometrie.
2. Vyjmenujte faktory (minimálně 3), které ovlivňují správnost potenciometrického stanovení fluoridů. Jakým způsobem vyjmenované faktory přispějí ke správnosti potenciometrického stanovení fluoridů?
3. Definujte roli NaCl, CH₃COOH, CH₃COONa při potenciometrickém stanovení fluoridů.
4. Nakreslete teoretický průběh potenciometrické kalibrační křivky pro systémy (označte osy):
 - a. indikační F-ISE se nachází v roztocích 10^{-6} – 10^{-1} mol l⁻¹ NaF,
 - b. indikační Na-ISE se nachází v roztocích 10^{-6} – 10^{-1} mol l⁻¹ NaF,
 - c. indikační F-ISE se nachází v roztocích 10^{-6} – 10^{-1} mol l⁻¹ NaOH.
5. Která rovnice se aplikuje při výpočtu obsahu fluoridů při potenciometrickém stanovení pomocí kalibrační křivky bez přítomnosti a v přítomnosti interferujících iontů?
6. Které z uvedených kationtů ruší při potenciometrickém stanovení fluoridů: a) Na⁺, b) Fe³⁺ c) K⁺? Jak se jejich rušivý vliv odstraní?
7. Jaký jev budete pozorovat při přechodu od koncentrovaných ke zředěným roztokům? Jak tento jev můžete potlačit během potenciometrických měření?
8. Co je měřenou veličinou (tj. závisle proměnnou) při měření s F-ISE? Jaké jsou její jednotky?
9. Vyjmenujte a charakterizujte základní vlastnosti F-ISE.
10. Jaké je chemické složení membrány u F-ISE? Jaký význam má EuF₂ v membráně F-ISE?
11. Nakreslete schéma elektrochemického článku pro stanovení fluoridů pomocí samotné a kombinované F-ISE.
12. Jaká je závislost elektromotorického napětí článku s F-ISE na koncentraci F⁻ v roztoku? Napište vztah. Je tato závislost lineární?
13. Napište rovnici získanou při kalibraci pH kombinované skleněné ISE, CN-ISE, Na-ISE.
14. Které anionty a kationty interferují při práci s F-ISE? Jak lze tomuto jevu zabránit?
15. Co je to koeficient selektivity? V jakých jednotkách se uvádí koeficient selektivity? V jakých hodnotách se pohybují koeficienty selektivity?
16. Ve kterých případech se používá metoda kalibrační přímky a standardního přídatku?
17. Napište rovnice pro výpočet neznámé koncentrace fluoridových iontů metodou kalibrační křivky.
18. Uveďte postup a napište rovnice pro výpočet neznámé koncentrace fluoridových iontů metodou přídatku standardu.

19. Jaká bude látková koncentrace fluoridu, když:

- přidáte 100 μl roztoku fluoridu ($[\text{F}^-] = 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$) k 50 ml vody,
- smícháte 100 μl ($\rho_{\text{fluoridů}} = 8,5451 \text{ g l}^{-1}$) a 50 μl ($\rho_{\text{chloridů}} = 8,5451 \text{ g l}^{-1}$) s 50 ml 0,01 mol l^{-1} TISAB, ($M_{\text{F}} = 18,9984 \text{ g mol}^{-1}$, $M_{\text{Cl}} = 35,453 \text{ g mol}^{-1}$)
- přidáte 400 μl roztoku fluoridu ($\rho_{\text{fluoridů}} = 8,5451 \text{ g l}^{-1}$) k 50 ml 0,01 mol l^{-1} TISAB? ($M_{\text{F}} = 18,9984 \text{ g mol}^{-1}$)

20. Napište rovnice reakcí, které mohou probíhat v kyselých roztocích při stanovení fluoridů.

21. Napište rovnici získanou při kalibraci Na-ISE, Ca-ISE, CN-ISE.

22. Regenerace F-ISE lze provádět:

- v roztoku 0,01 mol l^{-1} TISAB
- v roztocích $10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ NaF
- v roztocích $10^{-1} \text{ mol l}^{-1}$ NaF.

23. Kalibrační závislost pro F-ISE při 25 °C odpovídá rovnici:

$$\Delta E = 0,2420 - 0,0591 \log[\text{F}^-]$$

Pro daný roztok bylo naměřeno elektromotorické napětí 0,4462 V. Jaká je koncentrace fluoridů v roztoku?

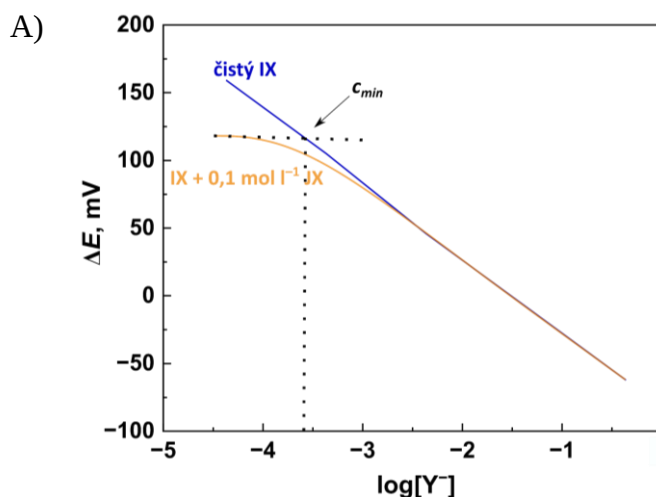
24. Co je citlivost ISE. V jakých jednotkách se uvádí citlivost F-ISE? Jakou citlivost vykazuje ISE na dvojmocné anionty a kationty?

25. Co je to $\log K_{\text{F}^-, \text{J}}^{\text{pot}}$? Co znamenají symboly F^- a J? V jakých hodnotách se pohybují? Co znamená, jestli hodnota $\log K_{\text{F}^-, \text{J}}^{\text{pot}}$ je záporná?

Přílohy

Příloha 1

Metody stanovení potenciometrických koeficientů selektivity pro aniontovou iontově-selektivní elektrodu.

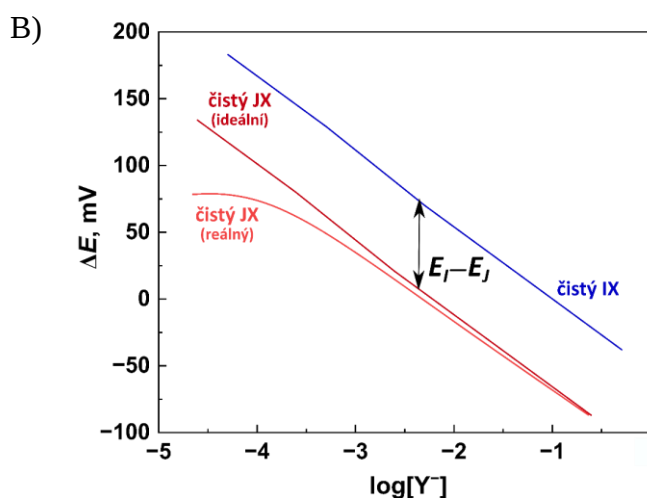


Metoda FIM

$$\log K_{I,J}^{pot} = \log \left(\frac{c_{min_I}}{c_J^{z_i/z_j}} \right)$$

c_{min_I} je detekční limit pro primární ion, který byl zjištěn při měření kalibrační závislosti za přítomnosti interferentu c_J ,

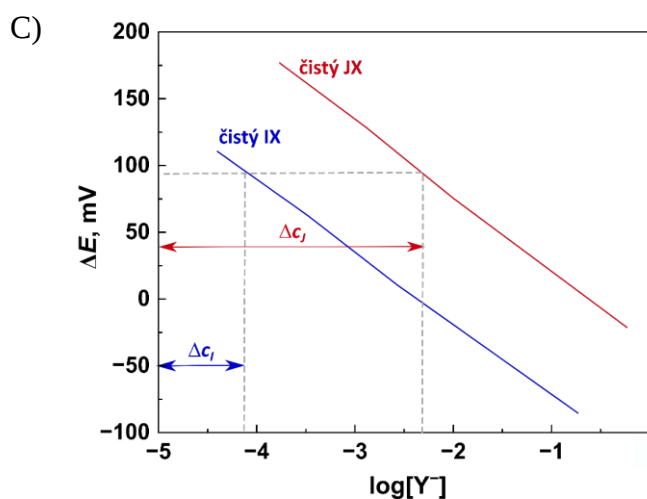
c_J je koncentrace interferujícího iontu



Metoda SSM

$$\log K_{I,J}^{pot} = \frac{(\Delta E_I - \Delta E_J)}{S} + \log \left(\frac{c_I}{c_J^{z_i/z_j}} \right)$$

S je citlivost elektrody, ΔE_I a ΔE_J jsou hodnoty elektromotorického napětí při stejné koncentraci primárního (c_I) a interferujícího (c_J) iontů



Metoda MPM

$$k_{I,J}^{MPM} = \frac{\Delta c_I}{\Delta c_J}$$

Δc_I je změna koncentrace primárního iontu, která vyvolá změnu elektromotorického napětí

Δc_J je změna koncentrace interferujícího iontu, která vyvolá stejnou změnu elektromotorického napětí jako Δc_I .

Příloha 2

Na základě vypočítaných hmotnostních procent fluoridů ve vzorku zubní pasty najděte konfidenční interval (interval spolehlivosti) na hladině spolehlivosti 95 %. Krajní body intervalu (konfidenční meze) získáte ze vztahu:

$$L_{1,2} = \bar{x} \pm t_{n-1} \cdot \frac{s_{n-1}}{\sqrt{n}}, \quad (2-1)$$

kde L_1 a L_2 jsou spodní a horní mez intervalu spolehlivosti,

$\bar{x}$ je průměrná hodnota hmotnostního procenta fluoridů v zubní pastě % (m/m),

t_{n-1} je kritická hodnota Studentova rozdělení pro $n-1$ stupňů volnosti (n je počet stanovení),

s_{n-1} je výběrová směrodatná odchylka.

V MS Excel se pro výpočet t_{n-1} používá funkce =TINV(0,05;n-1)⁴ a pro s_{n-1} funkce =SMODCH.VÝBĚR.

⁴ Hodnota 0,05 odpovídá hladině významnosti 5 %, tedy hladině spolehlivosti 95 %.