

Stanovení obsahu vápenatých iontů v minerální vodě

Cíle

Stanovení koncentrace vápenatých iontů v minerální vodě a porovnání získané hodnoty s hodnotou uváděnou výrobcem.

Podrobnější rozbor cílů

- Opakování s důrazem na roli Ca v živých organizmech.
- Seznámení s principem měření koncentrace iontové selektivními elektrodami (ISE).
- Zvládnutí problematiky přípravy kalibračních roztoků o určité koncentraci iontů Ca^{2+} .
- Použití Ca^{2+} ISE pro měření koncentrace.
- Sestavení kalibrační přímky a výpočet koncentrace Ca^{2+} iontů v minerální vodě.

Zadání úlohy

S využitím iontově selektivní elektrody (ISE) zjistěte koncentraci Ca^{2+} iontů ve vzorku minerální vody.

Technická úskalí, tipy a triky

Provedení úlohy je experimentálně náročnější. Jedním z důvodů je práce s poměrně nízkými koncentracemi (na naše školní prostředí), druhým pak samotná práce s ISE. Zvýšené nároky jsou tak kladeny také na čistotu chemického nádobí a destilované/deionizované vody. Je třeba bedlivě dbát instrukcí uvedených v rámci manuálu ke konkrétní elektrodě. V této úloze použijeme elektrody dodávané přímo firmou PASCO.

Pomůcky

PASCO ISE: Ca^{2+} (CI-6727), PASCO rozhraní pro připojení elektrody s teplotním čidlem (PS-2147), datalogger PASCO SPARK či Xplorer GLX, popř. USBlink a počítač se SW SPARKvue, odměrný válec 50 ml, pipeta (1–10 ml), mikropipeta (100 μl), kádinka 150 ml, kádinka 400 ml na odpad, odměrná baňka 100 ml (4 \times), odměrná baňka 50 ml, stojan, svorka pro uchycení elektrody, buničitá vata, stříčka s destilovanou vodou, chemikálie (dest. voda, 0,1 M CaCl_2 (14,7 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na 1 l), KCl), vzorek minerální vody s uvedeným obsahem Ca^{2+} iontů, popisovač (lihový fix), pracovní návod, pracovní list

Zařazení do výuky

Tato úloha je vhodná především k zařazení v rámci témat s-prvky a jejich sloučeniny, biogenní prvky a sloučeniny. Nabízí se také možnost provedení úlohy v rámci učiva o vodě (pitná voda a požadavky na její složení) nebo v rámci analytické chemie, kde je možné zdůraznit např. technickou stránku ISE.
ZŠ: lab. cvičení; SŠ: lab. cvičení

Časová náročnost

Dvě vyučovací hodiny (2 \times 45 min).

Návaznost experimentů

Vhodnou navazující či předcházející úlohou je úloha č. 13 (Stanovení částečné přechodné tvrdosti vody), popř. úloha č. 9 (Koloběh dusíku), využívající také ISE.

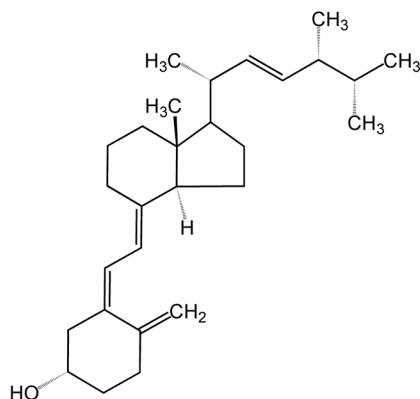
Mezipředmětové vztahy

biologie (biogenní prvky, minerální výživa, fyziologie člověka); fyzika (vedení elektrického proudu v roztocích elektrolytů); zeměpis (krasové jevy)

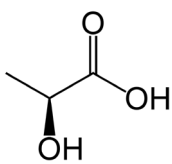
Jak vypadá apatit?



S metabolismem vápníku souvisí i další látky



vitamín D2 (ergokalciferol)



kys. mléčná (laktát)

Teoretický úvod

Vápník kolem sebe nalezneme v řadě sloučenin. Některé z nich tvoří přímo celá pohoří (sádrovec, vápenec, dolomit, apatit, ...), jiné jsou třeba **součástí živých organismů**. Najdeme ho třeba ve **schránkách** plžů, mlžů, u korálnatců a dalších.

V našem vlastním těle je nejvíce vápníku vázáno v **kostech a zubech** (asi 99%). Velice důležitý je ovšem vápenatý kationt prakticky pro každou buňku. Proto je přítomen nejen v buňkách, ale také ve formě iontů v tělních tekutinách.

Při výstavbě kostí je nezbytný nejen vápník, ale také další prvky jako např. hořčík, mangan a fosfor. Metabolismus vápníku souvisí i s dalšími látkami, jako je **vitamín D** a **laktát**. **Vápník ovlivňuje** také funkci **srdce, svalů, nervové soustavy, jater, ledvin, slinivky**, nebo se podílí na procesu **srážení krve**. Zajímavé je, že i na buňčné úrovni hraje vápenatý kationt neméně důležitou roli, a to v celé řadě **regulačních procesů** (např. aktivace enzymů) a podílí se na přenosu signálů uvnitř buňky.

V případě **nedostatku vápníku** je jedním z nejčastějších projevů tzv. „řídnutí kostí“ – **osteoporóza**. Uvádí se, že určitým stádiem osteoporózy u nás trpí každý pátý člověk. Jak jsme již uvedli, vápenaté ionty jsou nezbytné pro každou buňku. Náš organizmus „sleduje“ koncentraci tohoto iontu a při nedostatku vápníku doplní chybějící množství právě z kostí. Dlouhodobější úbytek vápníku z kostí má za následek úbytek pevnosti kostí – snadněji se tvoří zlomeniny a ty se pak hůře hojí. Vývoj osteoporózy ovlivňuje celá řada faktorů – množství vápníku v potravě (doporučená denní dávka 800 mg), dostatek hořčíku a manganu, hormonální rovnováha (např. rozvoj u žen po přechodu), kojení (tvorba mléka), pohyb a další.

Klasickým zdrojem vápníku v potravě jsou **mléčné výrobky** (mléko, sýry). Značné množství je ale také obsaženo třeba ve **vejcích**, ovesných vločkách a fazolích.

Dlouhodobý nadbytek vápníku může na druhou stranu vést ke **kalcifikaci** určitých měkkých tkání, k tvorbě žlučových či ledvinových kamenů a ke zbytnění cévních stěn.

Naším analyzovaným materiálem bude **minerální voda**. V **pitné vodě** by se měla koncentrace vápenatých iontů pohybovat v rozmezí 40–80 mg/l. Přítomnost vápenatých iontů přímo souvisí s tzv. **tvrdostí vody** (tato problematika je zpracována v navazujícím cvičení č. 13 „Stanovení částečné přechodné tvrdosti vody“).

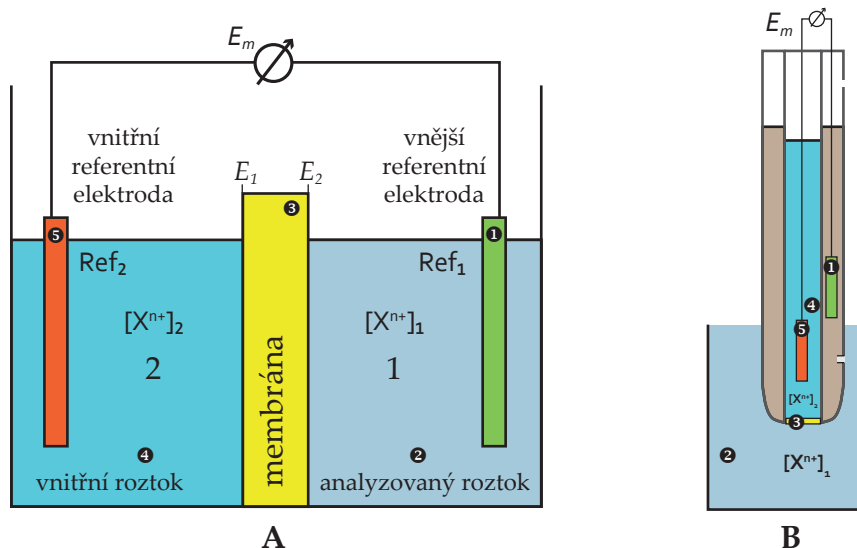
Koncentrace vápenatých iontů je stanovitelná hned několika způsoby (vážkovou analýzou, manganometricky, chelatometricky, spektrometricky, elektrochemicky). V našem případě jsme zvolili **elektrochemickou metodu**, při které využijeme **iontově selektivní elektrodu (ISE)**.

Iontově selektivní elektrody jsou takové elektrody, které jsou citlivé na ionty a jsou více či méně selektivní pro jejich určité druhy. Většina jich je založena na vzniku **membránového potenciálu**. Princip konstrukce a funkce těchto elektrod si přiblížíme s využitím obr. 1.

Když od sebe oddělíme dva roztoky 1 a 2, obsahující ionty o různé koncentraci, pórovitou přepážkou (**membránou**), budou ionty touto přepážkou procházet z jednoho roztoku do druhého tak, aby se pro všechny ionty postupně ustavila rovnováha a roztoky přitom zůstaly elektroneutrální. Protože rychlost průchodu různých iontů přepážkou je různá, na přepážce se vytvoří **potenciálový spád**. Mezi rozhraními s roztoky 1 a 2 vznikne potenciálový rozdíl zvaný **membránový potenciál**. Když je membrána polopropustná, tj. mohou-li skrze ni procházet jen některé druhy iontů, nazývá se vzniklý potenciálový rozdíl **Donnanův potenciál**.

Technická úskalí, tipy a triky

Více informací o měření s ISE naleznete v příručce PASCO – Iontově selektivní elektrody (ISE), souhrnný přehled. Publikace je k dispozici na stránkách www.pasco.cz



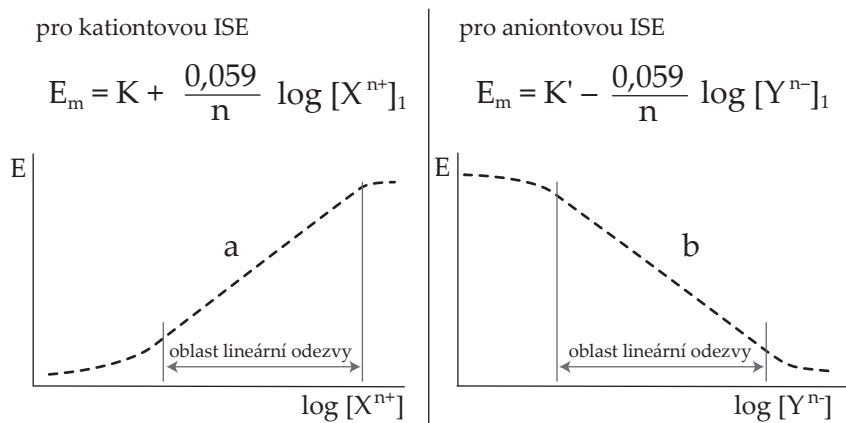
Konstrukce ISE

V našem případě používáme tzv. kombinovanou elektrodu (ukázka možného řešení je na obr. 4B). Referentní elektroda je zde tvořena pláštěm vnitřní měřicí elektrody. Vodivé spojení vnější elektrody s měřeným roztokem zajišťuje fritu ve stěně pláště elektrody.

Obr. 1: Schéma konstrukce iontově selektivní elektrody (ISE). Schematické znázornění (A) následuje možné provedení kombinované elektrody (B). Zacházení s kombinovanou elektrodou je jednodušší již tím, že máme na stole méně propojovacích kabelů a pracujeme pouze s jedním „kusem“.

Pokud bychom měli v ideálním případě membránu propustnou jen pro jediný druh iontů, odpovídal by **potenciálový rozdíl** poměru koncentrací tohoto iontu v roztocích 1 a 2. V takovém případě by se při známé koncentraci v roztoku 2 mohla změření membránového potenciálu specificky stanovit koncentrace v roztoku 1. Jsou-li koncentrace iontu na obou stranách membrány stejné, jsou stejné i potenciály E_1 a E_2 a $E_m = 0$.

V ISE je vždy jedna strana membrány v kontaktu s referentním (vnitřním) roztokem o konstantní koncentraci stanovovaného iontu, v němž je ponořena vnitřní referentní elektroda. Druhá strana membrány je v kontaktu s analyzovaným roztokem se stanovovanou koncentrací, v němž je ponořena vnější referentní elektroda. Pro iont pak platí, že:



Obr. 2: Vztah pro výpočet membránového potenciálu (E_m) u kationtové a aniontové ISE (K, K' – konstanty, $[X]$ – koncentrace sledovaného iontu, n – náboj). U kationtové ISE s rostoucí koncentrací potenciál roste (a), u aniontové ISE naopak klesá (b).

Závislost potenciálu na logaritmu koncentrace bývá lineární přes několik koncentračních řádů (typicky asi od 10^{-5} do 10^{-1} mol/l), analyticky lze ISE využít pro stanovení iontů typicky v koncentracích od asi 10^{-6} do 1 mol/l. V praxi ovšem do naší teorie vstupuje řada faktorů, které výsledný změřený potenciál ovlivňují. Některé je možné eliminovat pouze tzv. **kalibrační elektrody**, kdy proměříme potenciály **roztoků o známé koncentraci** sle-

dovaného iontu. Jiné, jako třeba **interferující ionty**, na které elektroda také reaguje, je třeba z měřeného roztoku předem odstranit nebo maskovat.

Motivace

Pokud zaměříme motivační část na vlastní metodu stanovení koncentrace, kterou budeme používat, je jednou z možností vyjít z obecného povědomí žáků o **elektrochemických článcích** – elektrických bateriích v nejrůznějších zařízeních. Můžeme např. vyjmout baterii z mobilního telefonu a zeptat se na její „výdrž“. A co taková baterie v osobním automobilu v porovnání s nákladním? Co se bude dít s napětím baterie, když bude téměř vybitá? Žáci by měli dospět k faktu, že větší baterie bude mít delší „výdrž“, a to bude patrně souviset s množstvím látek které mezi sebou mohou reagovat. A před úplným vybitím bude asi docházet k poklesu napětí, které baterie poskytuje...

Nyní můžeme náš příklad otočit a zeptat se zda bychom nemohli měření napětí (správně potenciálu) využít ke stanovení koncentrace látek. Tím se dostaneme k problematice ISE.

Elektrochemické články

Uvedený příklad není z hlediska ISE korektní, nicméně přibližuje žákům problematiku práce s ISE coby známou otázkou měření napětí.

Problémy s chloridem vápenatým

Chlorid vápenatý je silně hygroskopický a je třeba uchovávat ho v exikátoru. Tím, jak váže vodu, postupně tvoří dihydrát, tetrahydrát a hexahdrát. Pokud máte starší špatně skladovaný CaCl_2 , je vhodné vysušit ho předem v sušárně při cca 200 °C.

Pozor na membránu elektrody!



Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. Dbejte zvýšené opatrnosti a s chemikáliemi zacházejte vždy v souladu s instrukcemi na obalu. Nikdy nepipetujte ústy. V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí.

CaCl_2 (Xi, R 36, S 2-22-24)

Příprava úlohy

Vzhledem k nárokům na přesnost, které experiment klade na experimentátory, je vhodné připravit zásobní roztok CaCl_2 předem a ověřit jeho skutečnou koncentraci (např. chelatometrická titace s využitím EDTA).

Elektrodu CI-6727 je třeba předem naplnit přiloženým roztokem (viz manuál k elektrodě). Krátkodobé skladování elektrody je možné v 0,01 M roztoku CaCl_2 .

Na své dataloggery PASCO SPARK nahrajte soubor **ch12-Ca_v_mineralce-sablona.spk** (soubor je dostupný na portálu www.expoz.cz). Protože se při konstrukci kalibrační přímky a výpočtech koncentrace používá dekadický logaritmus, mohou studenti využít připravenou tabulku v souboru **ch12-Ca_v_mineralce-kalibrace_a_vypocty.xlsx** (soubor je dostupný na portálu www.expoz.cz).

Úloha umožňuje pracovat paralelně na několika částech. Ideální jsou tříčlenné pracovní skupiny. První žák pracuje na bodu č. 1 – **Příprava kalibračních roztoků**. Druhý žák připraví **roztok pro úpravu iontové síly** – bod č. 2. Třetí žák se věnuje **problematice zapojení HW a nastavení SW** – bod č. 3. Další body (4, 5 a 6) realizují žáci společně.

Postup práce

Snažte se pracovat co nejpřesněji. Velice důležitá je čistota chemického nádobí.

Úlohu můžeme rozdělit do několika kroků:

1) Příprava kalibračních roztoků

- a) Připravte si čtyři 100 ml odměrné baňky a označte si je čísly 1–4. Postupně do jednotlivých baněk napipetujte následující objemy

0,1 M zásobního roztoku CaCl_2 a baňky č. 1–3 doplňte do 100 ml (po rysku) destilovanou vodou:

Odm. baňka č.	4	3	2	1
Výsledná koncentrace Ca^{2+} [mol/l]	0,1	0,01	0,001	0,0001
V (zás. roztok) [ml]	100	10	1	0,1
Doplnění dest. H_2O po rysku [ml]	Pracujte přímo se 100 ml zásobního roztoku	Doplňte dest. H_2O po rysku.		

2) Příprava roztoku pro úpravu iontové síly (ISA)

- Pro úpravu iontové síly všech měřených roztoků budete potřebovat roztok 4 M KCl. Spočítejte, kolik KCl budete potřebovat k přípravě 50 ml 4 M roztoku, je-li $M(\text{KCl}) = 74,6 \text{ g/mol}$.
- Připravte výše uvedený roztok. (K jeho přípravě použijte 50 ml odměrnou baňku.)

3) Zapojení elektrody a nastavení

- Ověřte si u vyučujícího, že je vaše elektroda připravena k použití. (Musí být řádně naplněna plnicím roztokem, nikde na rozhraní nesmí být bublinky, membrána ve spodní části nesmí být viditelně poškozená.)
- Přejděte na část návodu „Nastavení HW a SW“.

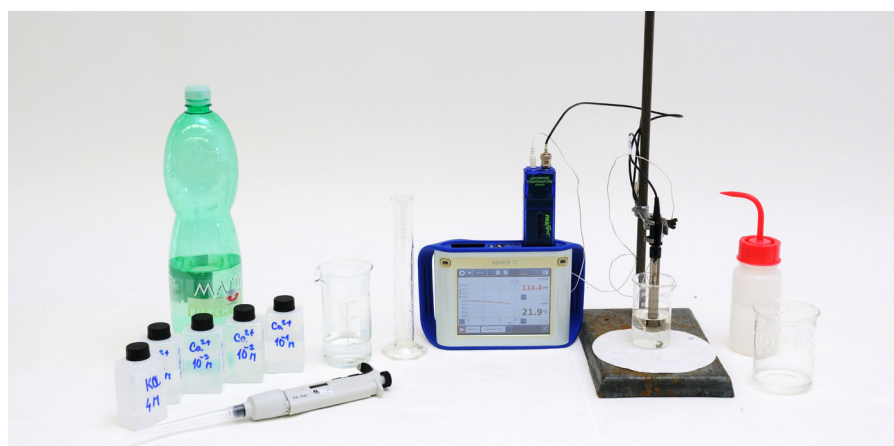
4) Proměření kalibračních roztoků a vzorku minerální vody

- Přejděte na následující část „Vlastní měření“.

5) Sestavení kalibrační přímky a výpočet neznámé koncentrace



Obr. 3: ISE při měření kalibračního roztoku



Obr. 4: Aparatura sestavená na stole s roztoky

Nastavení HW a SW

- S dataloggerem PASCO SPARK propojte rozhraní pro připojení elektrody („Precision pH and Temperature plus ORP/ISE Amplifier“, PS-2147).
- Pomocí BNC konektoru připojte elektrodu. Po nasunutí konektoru pootočením objímky konektor zajistěte.
- Na vašem dataloggeru SPARK si otevřete soubor **ch12-Ca_v_mineralce-sablona.spk**.

Vlastní měření a záznam dat

- Spusťte měření kliknutím na tlačítko *Start*. (Protože zaznamenáváte časový průběh v mV do grafu, můžete spustit měření již nyní a vypnout ho až v úplném závěru této části.)

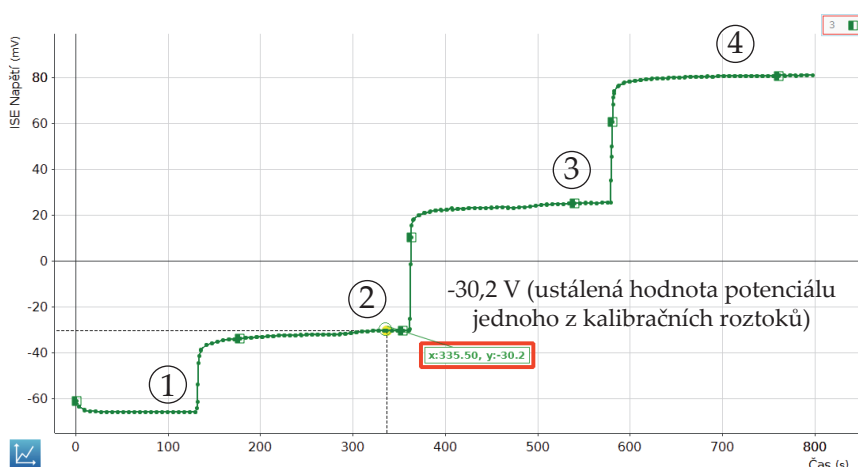
Způsob záznamu dat

Vzhledem k potřebě ustálení měřené hodnoty je vhodné používat časový záznam formou grafu. Doba ustálení hodnoty se u nové elektrody pohybuje kolem 2 minut.

Úskalí práce s ISE

- Starší či nevhodně skladované elektrody mohou mít velice pomalou odezvu. V takovém případě nemusí vůbec dojít k ustálení měřené hodnoty. V manuálu k elektrodě pak bývá uveden postup k „oživení“ elektrody. To zahrnuje především mechanické očištění membrány příloženým nástrojem (speciální čistící proužek) a ponechání elektrody nějakou dobu v určitém roztoku. Konkrétní kroky prostudujte v manuálu k elektrodě. Pokud to nepomůže, je třeba pořídit elektrodu novou.
- Pozor na interferující ionty, které mohou výsledky výrazně ovlivnit. V případě naší elektrody je kritická především přítomnost iontů Pb^{2+} , Hg^{2+} , H^+ (pH), méně pak Sr^{2+} , Fe^{2+} , Cr^{2+} , Ni^{2+} .
- Vedle přítomnosti interferujících iontů je při měření kritická také teplota a hodnota pH. Změna těchto parametrů může vést k velké chybě měření. (Již změna teploty o $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ vnáší cca 4% chybu!)

- 2) Vyměňte elektrodu ze skladovacího roztoku.
- 3) Měření začněte s kalibračním roztokem o nejnižší koncentraci (roztok č. 1).
- 4) Do čisté 150 ml kádinky přelijte kalibrační roztok a přidejte 2 ml roztoku pro úpravu iontové síly (ISA).
- 5) Pečlivě elektrodu opláchněte destilovanou vodou. Tělo elektrody, nikoli však membránu dole (!), osušte kouskem buničité vaty.
- 6) Ponořte elektrodu do kalibračního roztoku tak, aby se nedotýkala dna (pozor na poškození membrány!). Lehce elektrodou roztok promíchejte a pak ji upněte do držáku. Zkontrolujte, zda na membráně nezůstaly bublinky, pokud ano, znovu lehce elektrodou roztok promíchejte. Následně vyčkejte ustálení měřené hodnoty.
- 7) Po ustálení hodnoty si přímo v dataloggeru, v pravé dolní části, **naměřený potenciál poznamenejte**. (Nepřerušujte přitom záznam dat, ten je stále spuštěn.)



Obr. 5: Ukázka časového záznamu z průběhu kalibrace ISE. Každý „skok“ odpovídá jednomu kalibračnímu roztoku (1-4).

- 8) Vyměňte elektrodu z roztoku a postup od bodu č. 4 zopakujte postupně s kalibračními roztoky 2, 3, 4.
- 9) Nepřerušujte záznam měření. Všechny hodnoty tak budou zaznamenány v jednom grafu.
- 10) Obdobným způsobem změřte **vzorek minerální vody**. (Abyste zabránili tvorbě bublinek na povrchu elektrody v případě perlivých vod, nechte vzorek předem odstát.)
 - a) Do čisté kádinky odměřte ve válci 50 ml minerální vody a přidejte 1 ml roztoku ISA. (Oproti kalibraci pracujte s polovičním množstvím.)
 - b) Vyčkejte ustálení hodnoty.
 - c) Pokud vám zbývá dostatek času, proveďte ještě stejný postup s „kohoutkovou vodou“ ve vaší laboratoři.
 - d) Všechna měření je dobré provést alespoň dvakrát.
- 11) Na dataloggeru PASCOS SPARK stiskněte tlačítko *Stop*.
- 12) Soubor si uložte pod vlastním názvem pro další analýzu a případný tisk protokolu.

Analýza naměřených dat

- Již v průběhu jednotlivých měření jste si zaznamenávali jednotlivé ustálené hodnoty. Nyní sestavte z naměřených hodnot u roztoků o známé koncentraci (kalibrační roztoky) kalibrační přímku.

- Následně z kalibrační přímky dopočítejte koncentrace Ca^{2+} v minerální vodě, a případně v „kohoutkové vodě“.
- K sestavení kalibrační přímky a k výpočtům koncentrací je vhodné využít soubor **ch12-Ca_v_mineralce-kalibrace_a_vypocty.xlsx**. (Soubor je dostupný na portálu www.expoz.cz.)

Hodnocení práce žáků

- Nastudovali si žáci teorii předem?
- Sestavili a použili žáci měřicí aparaturu správně?
- Postupovali žáci korektně podle pracovního návodu?
- Porozuměli žáci uvedené problematice?
- Vypracovali žáci správně své pracovní listy?
- Získali žáci předpokládané výsledky?
- Interpretovali žáci výsledky správně?
- Shrnuli žáci nové poznatky v závěru?

Informační zdroje

- <http://cs.wikipedia.org/wiki/V%C3%A1pn%C3%ADk>
- http://www.wikiskripta.eu/index.php/Ionty_v_pitn%C3%A9_vod%C4%9B
- GREENWOOD, N a Alan EARNSHAW. *Chemie prvků*. 1. vyd. Praha: Informatorium, 1993. ISBN 80-85427-38-9.
- http://cs.wikipedia.org/wiki/Chlorid_v%C3%A1penat%C3%BD
- Vyhláška č. 252/2004 Sb (dostupná např. na adrese <http://www.tzb-info.cz/pravni-predpisy/vyhlaska-c-252-2004-sb-kterou-se-stanovi-hygienicke-pozadavky-na-pitnou-a-teplou-vodu-a-cetnost-a-rozsah-kontroly-pitne-vody>)

Hodnocení výsledků

Základem pro vyhodnocení tohoto experimentu je porovnání zjištěné hodnoty s hodnotou uvedenou výrobcem. V případě „kohoutkové vody“ bychom se měli dostat do rozmezí uváděného normou pro pitnou vodu. Podstatným kritériem je provedená kalibrace elektrody. Kalibrační body by měly skutečně ležet na přímce. K posouzení kvality provedení kalibrace můžete použít hodnotu korelačního koeficientu, která by měla být v ideálním případě 1.

Syntéza a závěr

Na závěr je vhodné žákům shrnout:

- V jaké formě se vápník v přírodě vyskytuje a jaký je jeho význam pro náš organizmus.
- Jaké jsou přípustné koncentrace Ca^{2+} iontů v pitné vodě a jak to souvisí s tvrdostí vody.
- Co jsou to ISE elektrody a na jakém principu pracují.
- Proč musíme vždy provést kalibraci ISE a jak při tom postupujeme.
- Hodnocení použitelnosti/náročnosti metody při měření přímo v terénu.