

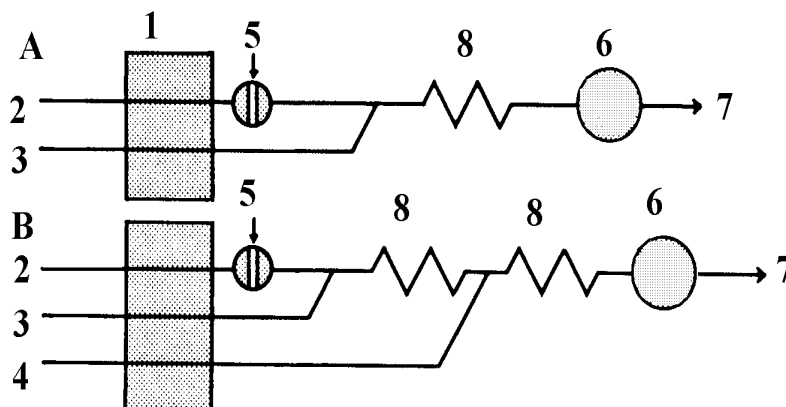
PRŮTOKOVÁ VSTŘIKOVACÍ ANALÝZA

Magda Vosmanská

Obecné základy

Současná praxe vyžaduje od analytické chemie značné množství analýz s dostatečnou přesností, citlivostí, spolehlivostí a především rychlostí při minimálních nárocích na lidskou práci a cenu jedné analýzy. Klasické analytické postupy toto vše nemohou zajistit. Používají se proto různé druhy automaticky pracujících analyzátorů.

Jednou z metod automatické analýzy je průtoková vstřikovací analýza (FIA - „Flow Injection Analysis“) zaváděná prof. Růžičkou v roce 1974. Proti jiným automatickým analyzátorům se průtoková vstřikovací analýza vyznačuje především jednoduchostí použitého zařízení (viz **obr. 1**).



Obr. 1: Schéma analyzátoru

A-soustava s jedním čidlem; B-soustava s dvěma čidly; 1-čerpadla; 2-nosný roztok; 3-čidlo 1; 4-čidlo 2; 5 vzorek; 6-detektor; 7-odpad; 8-reaktor

Proud nosné kapaliny (2) je čerpán peristaltickým čerpadlem (1) konstantní rychlostí. Do tohoto proudu se pomocí vstřikovacího ventilu (5) vstříkne definovaný objem vzorku tak, aby proudění nosné kapaliny bylo co nejméně narušeno. Do proudu nosného roztoku se vzorkem se mohou přidávat potřebná čidla (3,4). Po průchodu tzv. reaktorem (8), kde dochází k promíchání roztoků, případně proběhne chemická reakce, jde výsledný roztok do detektoru (6) (fotometrický, fluorimetrický, AAS, elektrometrický ap.). Signál z detektoru je veden na zapisovač nebo zpracován počítačem. Schéma analyzátoru je na **obr. 1**.

Důležitou charakteristikou experimentálního uspořádání analyzátoru (sestavy) je veličina nazývaná **disperze, D**. Ta je vyjádřena jako poměr látkové koncentrace neředěného vzorku v detektoru (c_0) a látkové koncentrace vzorku v detektoru po nástřiku vzorku a jeho průchodu celým systémem (c_{\max}), to je:

$$D = \frac{c_0}{c_{\max}}$$

Protože je obvykle přímý vztah mezi měřenou veličinou (absorbance, potenciál, pH, intenzita fluorescence ap.) a látkovou koncentrací vzorku, můžeme pro fotometrickou detekci vzorku dále psát:

$$D = \frac{A_0}{A_{\max}} \quad (\lambda = \text{konst.}),$$

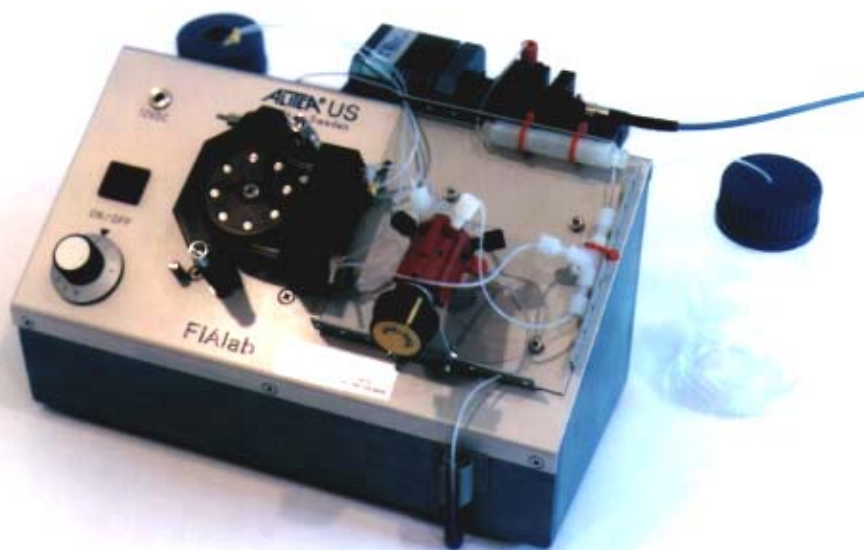
kde A_0 je absorbance neředěného vzorku a A_{\max} je maximální absorbance vzorku po průchodu daným systémem.

Na hodnotu disperze má vliv řada faktorů. Je to např. objem vstřikovaného vzorku, rychlost proudění, délka a tvar reaktoru ap.

Podle hodnoty disperze můžeme rozdělit systémy průtokové vstřikovací analýzy na systémy s nízkou disperzí ($D < 3$ - tyto hodnoty jsou obvyklé v případech, kdy je použita vysoká průtoková rychlost, např. $> 2 \text{ mL min}^{-1}$, velký objem nastříknutého vzorku a malá délka reaktoru). Lze je použít v případech, kdy neprobíhá chemická reakce, jde pouze o transport vzorku k detektoru (především potenciometrie - pH, iontově selektivní elektrody). Výhodou je vyšší citlivost a vzorkovací rychlost **S** (počet stanovení za hodinu). Systémy se střední disperzí ($3 < D < 10$) jsou obvyklé v případech, kdy při stanovení probíhá chemická reakce (dochází k míchání vzorku s činidlem příp. s více činidly). Vyžadují menší rychlost proudění roztoku, delší reaktor, případně další mísící body. Detekce je obvykle fotometrická nebo fluorimetrická. Citlivost a rychlost vzorkování je nižší. Systémy s vysokou disperzí ($D > 10 - 15$) užívají k promíchání vzorku s činidlem míchací komůrky nebo velmi dlouhé reaktory. Pro běžná měření toto uspořádání není vhodné, používá se u FIA titrací.

Přístroj

V naší laboratoři používáme dva přístroje od firmy FIALab Instruments. Jednodušší sestavu FIALab 2000, částečně ovládanou manuálně, a FIALab 2500 zcela řízenou počítačem.



Obr. 2: FIAlab-2000

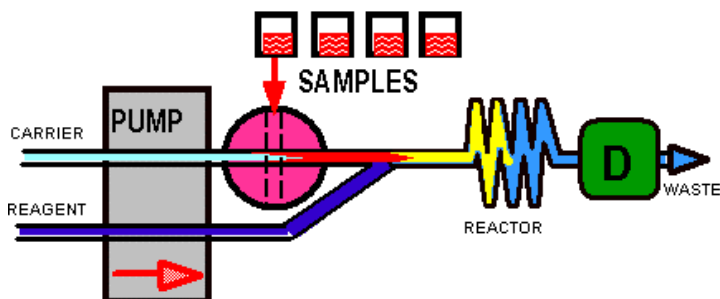


Obr. 3: FIAlab-2500

Nejvhodnějším zařízením pro čerpání vzorku i ostatních pomocných roztoků je **peristaltické čerpadlo**. Pracuje tak, že otočné přítlačné válečky stlačují postupně pružnou hadičku proti přítlačné liště. Určitou nevýhodou peristaltických čerpadel je, že čerpaný roztok neproudí kontinuálně, ale vznikají zde pulsace. Jejich velikost a frekvence je závislá na průměru rotoru, otáčkách čerpadla a počtu přítlačných válečků. Pružné čerpací hadičky se vyrábějí z různých materiálů (PVC, Tygon, silikonový kaučuk ap.). Výběr záleží na povaze čerpané kapaliny. Odolnost vůči

různým rozpouštědlům dodavatelé obvykle uvádějí. Množství čerpané kapaliny (průtok – ml min⁻¹) závisí na otáčkách centrálního rotoru.

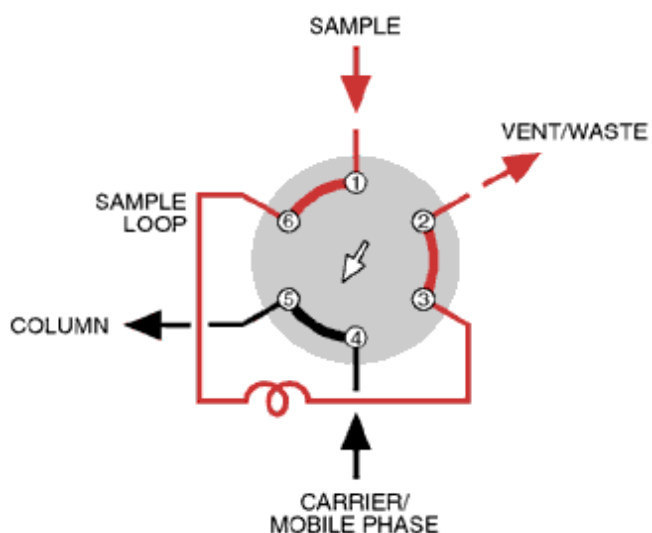
U jednodušší sestavy se čerpadlo spouští stisknutím tlačítka v levém horním rohu panelu do polohy **ON**, otáčky rotoru se nastavují otáčením knoflíku v levém dolním rohu s označením **SPEED**.



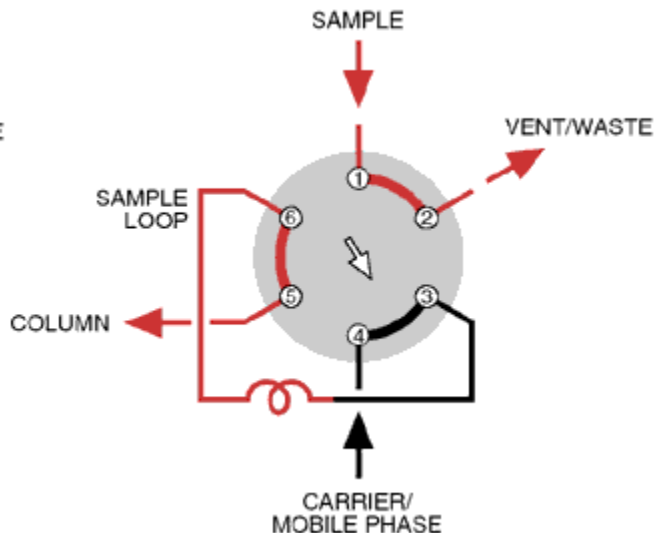
Obr. 4: Blokové schéma obou přístrojů

Vstřikovací ventil a jeho funkce schematicky znázorněn na **obr. 5**. Otočná část ventilu umožňuje připojení dávkovací smyčky, jejíž délkou měníme množství přidávaného vzorku.

Plnění smyčky – poloha LOAD



Nástřik vzorku – poloha INJECT

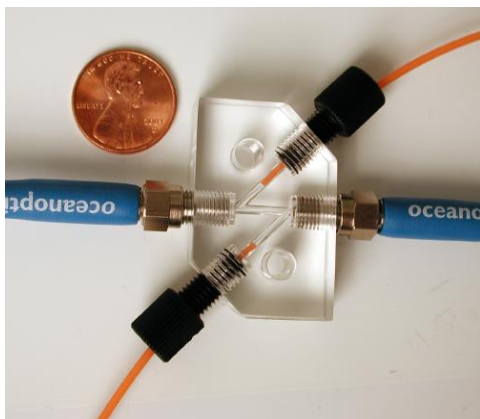


Obr. 5: Funkce vstřikovacího ventilu

V případě sestavy FIAlab-2000 se vstřikovací ventil ovládá manuálně rychlým a rázným otočením doleva (plnění) a doprava (nástřik).

Reaktor, ve kterém probíhá míchání, případně reakce vzorku s činidlem, je obvykle tvořen několika závití hadičky s vnitřním průměrem 0,5 mm. Používají se většinou hadičky teflonové, polyethylenové nebo polypropylenové.

Průtoková kyveta je v obou případech vyrobena z plexiskla. Délka optické dráhy je dána vzdáleností mezi optickými vlákny.



Obr. 6: Průtoková kyveta

Propojení jednotlivých celků (čerpadlo - vstřikovací ventil - reaktor - průtoková kyveta) je provedeno pomocí teflonových, popř. polyethylenových nebo polypropylenových hadiček o vnitřním průměru 0,5 mm. Výhodou malého vnitřního průměru hadiček je nízká spotřeba činidel i vzorku, na druhé straně je zde nebezpečí ucpání hadiček. Proto je třeba před použitím veškeré roztoky pečlivě zfiltrovat. Průchodem roztoku místy, kde se mění rychlost proudění (především průtoková kyveta) a tím i tlak, může dojít k uvolnění vzduchových bublin. Ty jsou potom zdrojem špatné reprodukovatelnosti měření. Je proto nutné roztoky pod vakuem odvzdušnit.

Detektory, kterými jsou oba systémy vybaveny, se výrazně liší. Přístroj FIAlab-2000 využívá tříbarevný diodový zdroj, barvy modrou, zelenou a červenou lze používat selektivně nebo v kombinaci. Zdroj i vlastní spektrometr Labjack jsou již ovládány počítačem.

Detektor přístroje FIAlab-2500 je vybaven wolframovou lampou (zdrojem pro viditelnou oblast) a spektrometrem USB2000.

Návod laboratorní práce

A. Vliv uspořádání systému na disperzi – práce na přístroji FIAlab-2000

Úkoly

1. Zjistěte velikosti průtoků při dvou rychlostech zadaných asistentem.
2. Zjistěte hodnotu disperze **D** při různých kombinacích průtokové rychlosti, velikosti dávkovací smyčky (50 μL , 100 μL) a délce reaktoru (50cm, 100 cm a 150 cm).

B. Stanovení chloridů – práce na přístroji FIAlab - 2500

Úkoly

1. Změřte spektrum činidla a spektrum reakčního produktu činidla s chloridy.
2. Proveďte kalibraci a zjistěte hmotnostní koncentraci chloridů danou metodou v dodaných vzorcích.

Činidla a roztoky

Bromthymolová modř (BTM) se používá jako barvivo při zjišťování disperze.

a) k přípravě základního roztoku se naváží 0,400 g bromthymolové modři, navážka se rozpustí v 25 mL 96%ního ethanolu a ve 100 mL odměrné baňce se doplní roztokem tetraboritanu sodného ($c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$);

b) pracovní roztok BTM - 1mL základního roztoku BTM se odpipetuje do 200 ml odměrné baňky a doplní se po značku roztokem tetraboritanu sodného ($c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$).

Tetraboritan sodný - používá se pro přípravu roztoků bromthymolové modře a jako nosný proud při zjišťování disperze. Navážíme 3,814 g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, rozpustíme ve 200 mL vody a po rozpuštění doplníme na 1000 mL. Látková koncentrace tohoto roztoku je $c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Činidlo ke stanovení chloridů - je to směs roztoků thiokyanatanu rtuťnatého a dusičnanu železitého. Za tepla se rozpustí 0,626 g $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ v 800 mL vody. Roztok se ochladí, přidá se 30,3 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ve 40 mL HNO_3 ($c(\text{HNO}_3) = 2 \text{ mol L}^{-1}$), 150 mL methanolu a doplní se vodou na 1000 mL.

Základní roztok chloridu sodného - navážíme 1,6485 g NaCl, rozpustíme a v odměrné baňce doplníme na 1000 mL. Tento roztok obsahuje $1 \text{ mg mL}^{-1} \text{ Cl}$.

Pracovní postup

A.1 Stanovení průtoků čerpadla přístroje FIALab-2000

Přítlačnou lištu přitiskneme na čerpací hadičku a upevňovacím šroubem ji dotáhneme. Na panelu přístroje nastavíme požadovanou rychlost, sací konec hadičky ponoříme do baňky s destilovanou vodou, výtlačný konec čerpací hadičky dáme do odměrného válečku (10 mL). Zapneme čerpání a pomocí stopek sledujeme čas potřebný k přečerpání určitého objemu vody. Pro každou nastavenou rychlost uděláme tři měření. Konečný průtok vyjádříme v mL min⁻¹.

A.2 Zjištění hodnot disperze

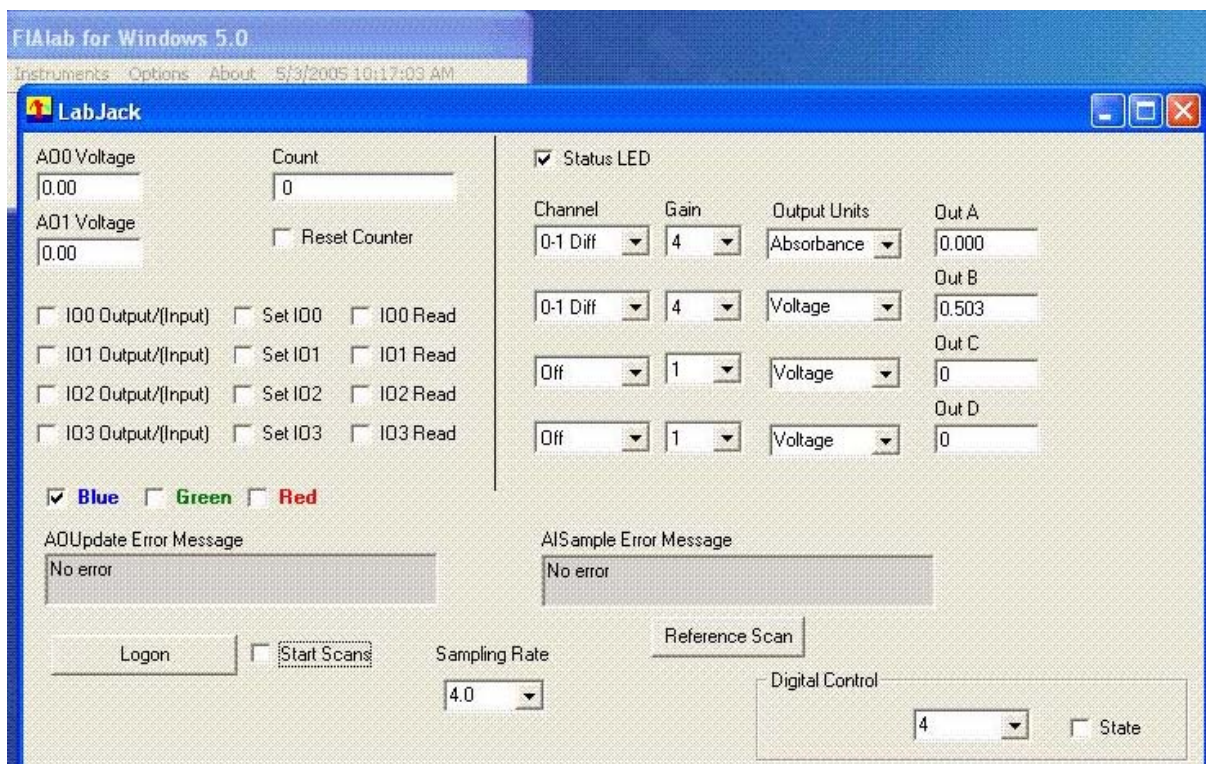
Jak bylo uvedeno dříve, disperzi můžeme vyjádřit jako poměr absorbancí

$$D = \frac{A_0}{A_{\max}} \quad (\lambda = \text{konst.}),$$

kde A_0 je absorbance roztoku, kdy v průtokové kyvetě je neřaděný vzorek (BTM) a A_{\max} je absorbance píku po nástřiku vzorku (BTM) při daném uspořádání.

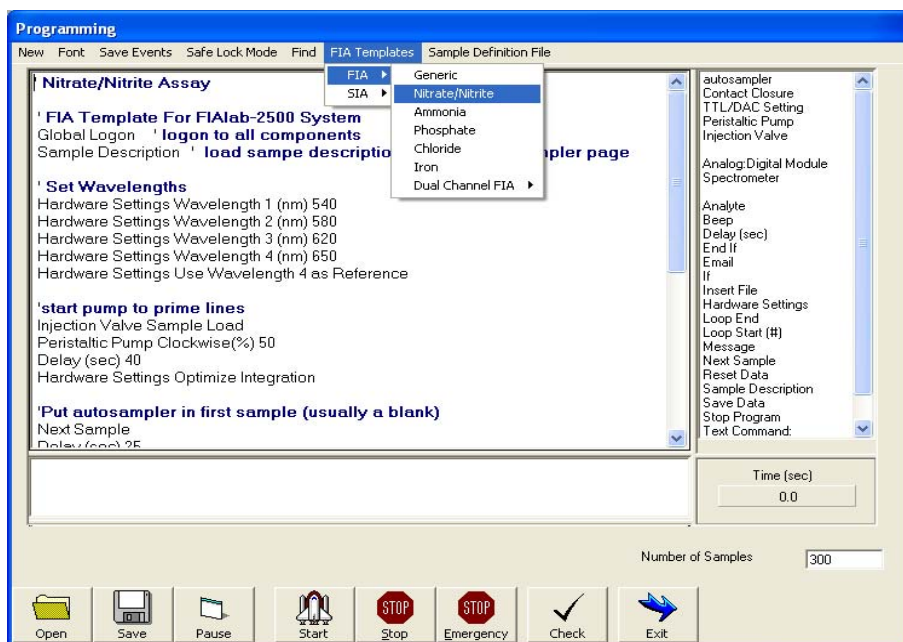
Roztoky tetraboritanu sodného a bromthymolové modře zfiltrujeme skleněnou fritou. Do 250 ml varné baňky odměříme asi 200 ml zfiltrovaného roztoku, dáme magnetické míchadlo a uzavřeme zátkou s kohoutem. Baňku připevníme na magnetickou míchačku, připojíme přes pojistnou baňku k vývěvě a za mírného míchání pomalu odsáváme. Zpočátku může dojít k prudkému uvolňování plynů, až k přestříknutí kapaliny do odsávací hadice (pozor na znečištění roztoku!). Mícháme za stálého odsávání tak dlouho, dokud dochází k uvolňování bublinek z kapaliny. Při ukončení odvzdušňování nejdříve uzavřeme kohout na zátce baňky, odpojíme hadici a teprve potom uzavřeme přívod vody do vývěvy. Odvzdušněné roztoky tetraboritanu sodného a bromthymolové modři použijeme k další práci.

Program ovládající přístroj FIALab-2000 spustíme kliknutím na ikonku **FIALab for Windows 5.0**. Rozbalí se nám okno minimálně se čtyřmi tlačítky, ze kterých vybereme **A/D Card**, a tím se nám otevře okno znázorněné na **obr. 7**. Kliknutím na jednotlivé barvy ověříme funkčnost zdroje a stav optických vláken. Pro naše měření disperze pomocí barviva bromthymolové modře, které má absorpční maximum při 620 nm, necháme pak zaškrtnuté **červené** světlo. Využíváme první dva kanály, první pro měření absorbance a druhý pro měření napětí. V okénku pro **gain** nastavíme hodnotu **4**. Před každým měřením absorbance musíme provést referenční scan kliknutím na tlačítko **Reference Scan**. Jednoduchá měření absorbance spouštíme zaškrtnutím okénka **Start Scans**. Hodnota uvedená v okénku **Sampling Rate** znamená frekvenci sběru dat. Používáme zpravidla hodnotu **4**, což znamená 4 hodnoty absorbance, respektive napětí, za vteřinu.



Obr. 7: Nastavení detektoru

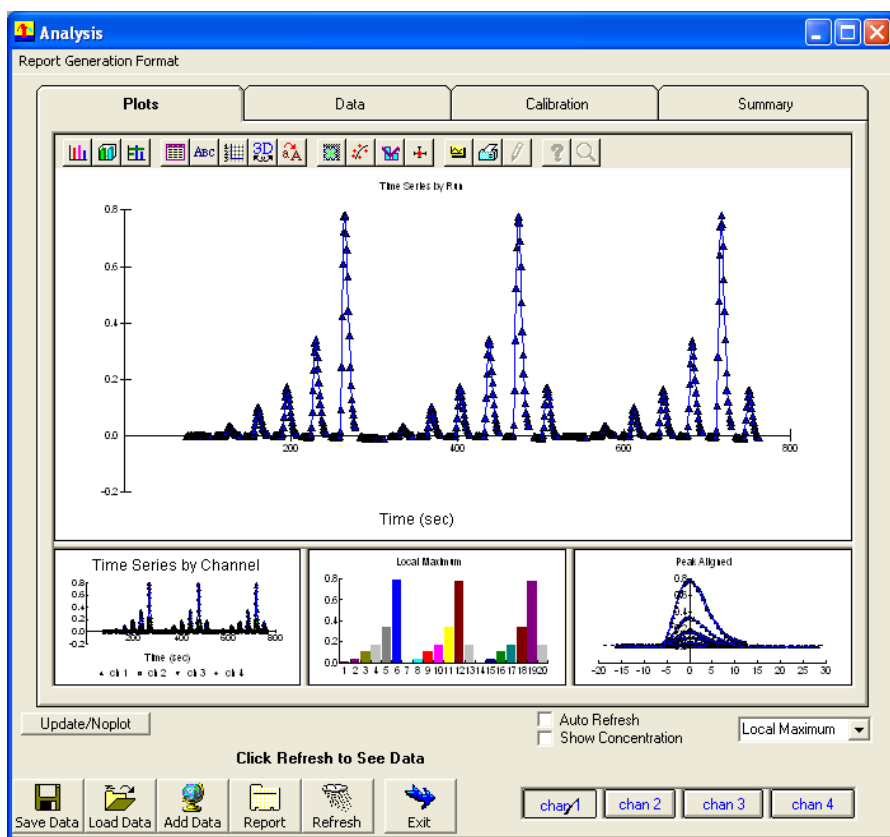
Pro sběr dat si vybereme další tlačítko s označením **Program** a tím se nám otevře okno na obr. 8.



Obr. 8: Metoda sběru dat

V tomto okně otevřeme metodu **BTM...**, kterou můžeme editovat v „Edit Mode“. V protokolu metody zkontrolujeme počet vzorků a dobu měření. Doba měření musí být dostatečně dlouhá pro analýzu celého píku. Při práci s přístrojem **FIAlab-2000** nám po uběhnutí doby analýzy zadané v metodě naskočí na obrazovce štítek, který nás vybídne k dalšímu nástřiku. Po odkliknutí tohoto štítku musíme do 5s provést nástřik otočením vstřikovacího ventilu do polohy **INJECT**. Do polohy **LOAD** vracíme ventil po klesnutí signálu na základní linii.

Pro sledování analýzy otevřeme okno tlačítkem **Analysis**, je znázorněno na **obr. 9**.



Obr. 9: Průběh analýzy

V pravém dolním rohu tohoto okna volíme sledovanou veličinu – hodnotu absorbance v maximu píku, takže **Local Maximum**. Sledovat průběh analýzy můžeme opakovaným stiskem tlačítka **Refresh** v levé dolní části okna. Po skončení analýzy uložíme soubor pomocí **Save Data**.

Zjišťování hodnoty A_0

Musíme si uvědomit, že potřebujeme zjistit hodnotu absorbance neředěného roztoku bromthymolové modře, to znamená, že do kyvety musíme tento neředěný roztok napumpovat. Nulování (referenční sken) provádíme na tetraboritan sodný.

Připravíme si baňku se zfiltrovaným a odvzdušněným roztokem tetraboritanu sodného. Rychlost čerpání nastavíme do polohy **2**, sací konec hadičky ponoříme do roztoku, výtlačný konec dáme do lahve ODPAD 1. Zapneme čerpání. V okně Analysis (**obr. 9**) sledujeme průběh absorbance. Jakmile dosáhne konstantní hodnoty, provedeme referenční měření kliknutím na **Reference Scan**. (roztok tetraboritanu sodného slouží jako srovnávací roztok). Po ustálení signálu zastavíme čerpadlo, sací konec hadičky vyjmeme z roztoku tetraboritanu sodného, otřeme buničitou vatou a ponoříme do baňky s roztokem BTM. Čerpadlo opět zapneme a sledujeme signál na zapisovači. Jakmile je průtoková kyveta zcela zaplněna čerpaným roztokem, signál je konstantní. Čerpadlo zastavíme a hadičku znovu přeneseme do roztoku tetraboritanu sodného. Celý tento postup opakujeme minimálně třikrát.

Zjišťování hodnoty A_{ma} pro různá uspořádání systému

Další měření budeme provádět s různým uspořádáním systému (různé rychlosti čerpání, velikost reaktoru, velikost dávkovací smyčky). Pro každé uspořádání systému provedeme vždy 3 měření, takže v metodě **BTM...** nastavíme počet vzorků (numsamples) = **3**. Číslo v názvu metody znamená dobu skenování v sekundách. Doporučená uspořádání jsou znázorněna v **tabulce I**.

Tabulka I: Sestavy systému FIA

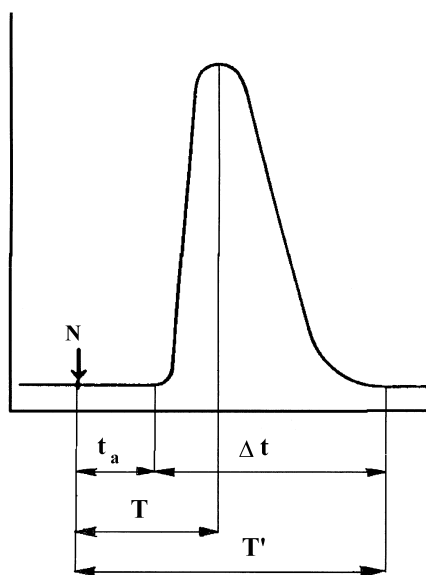
označení sestavy	dávkovací smyčka ¹	reaktor ²	průtok ³
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	2	1
4	1	2	2
5	2	1	1
6	2	1	2
7	2	2	1
8	2	2	2

¹ 1 = 50 μ l, 2 = 100 μ l; ² 1 = 50 cm; 2 = 150 cm; ³ 1 = nastavení 1; 2 = nastavení 2

Sací konec hadičky pro plnění dávkovací smyčky dáme do baňky s bromthymolovou modří, výtlačný konec do lahve ODPAD1. Na **obr. 10** je znázorněn průběh signálu po nástřiku BTM. Jsou zde zaznamenány časové úseky, které budeme sledovat. Je to doba odezvy t_a , doba zdržení **T**, doba návratu na základní linii **T'** a celková doba signálu Δt . Časové úseky odečítáme z okna

Analysis, kde stisknutím tlačítka **Data** v horní části okna se nám místo grafického znázornění při stisknutém tlačítku **Plots** zobrazí tabulka s číselnými údaji daného záznamu. Případně můžeme použít stopky. Pro přehlednost můžeme pro tyto účely snížit hodnotu v okénku **Sampling Rate** v okně LabJacku – viz **obr. 7**.

Před změnou sestavy (tj. přidání reaktoru, výměna dávkovací smyčky) zastavíme vždy čerpadlo. Teprve potom pomocí spojovacího šroubení připojíme požadovaný díl. Spojе **mírně** dotáhneme a zapneme čerpání. Pozorujeme, zda ve spojích nedochází k prolínání kapaliny. Někdy se stane, že do systému vnikne vzduch. Obvykle se to projeví prudkými změnami absorbance a v průtokové kyvetě pozorujeme procházející bublinky vzduchu. Může se stát, že malá bublinka vzduchu se zachytí v průtokové kyvetě a při změnách tlaku (peristaltické čerpadlo!) se mění její objem a tím i délka dráhy světelného paprsku v kyvetě.



Obr. 10: Průběh FIA křivky

N-nástřik vzorku; t_a -doba odezvy; T-doba zdržení; T'-doba návratu na základní linii; Δt -celková doba signálu

Z hodnot absorbancí **A₀** a **A** vypočítáme disperze. Dále vypočítáme hodnotu vzorkovací rychlosti **S**, obvykle vyjadřovanou jako počet vzorků změřených za hodinu. Z údajů, které máme k dispozici, vyjádříme **S** jako

$$S = \frac{60}{T'} ,$$

kde T' je doba od nástřiku vzorku do návratu signálu na základní linii.

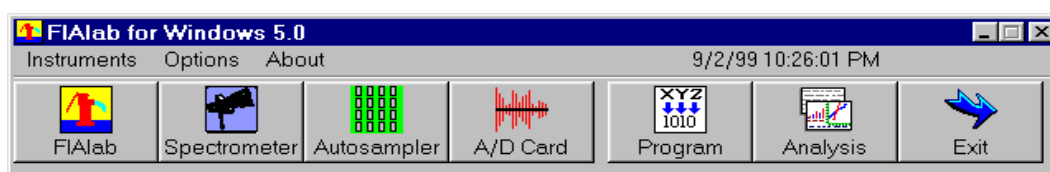
Po ukončení měření disperze je třeba celý systém **důkladně** promýt destilovanou vodou.

B.1 Měření spektra činidla a spektra reakčního produktu činidla s chloridy

Do 25ml odměrné baňky odpipetujeme 5ml činidla, přidáme 3 ml základního roztoku chloridu sodného a doplníme destilovanou vodou po značku.

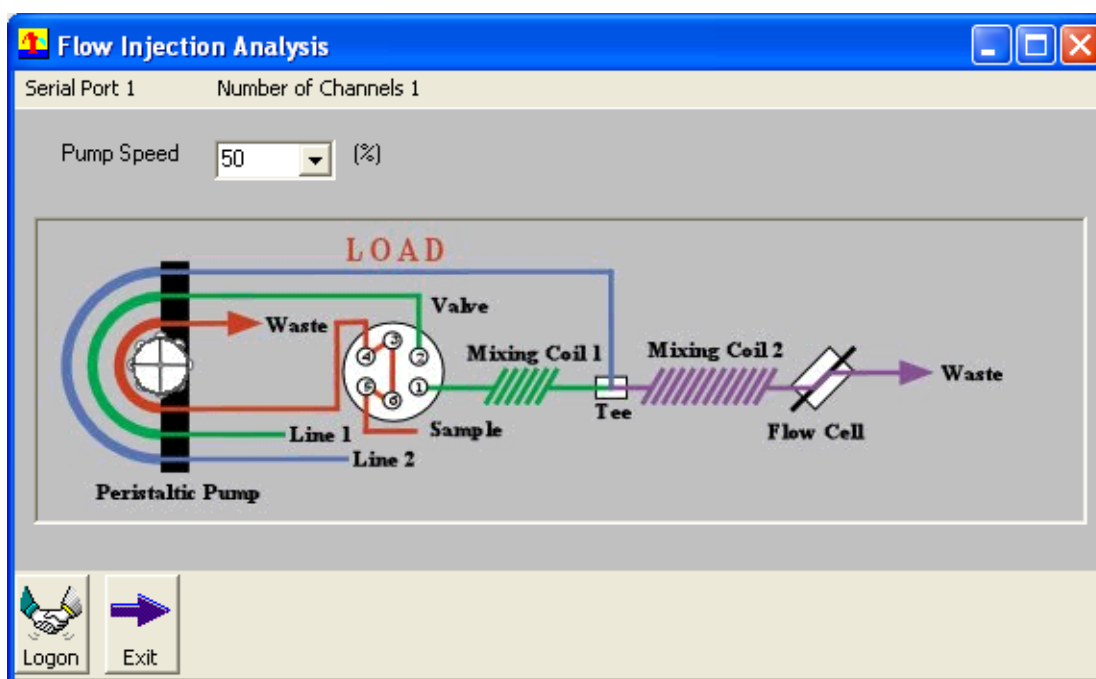
Sací hadičku čerpadla s označením Reagent 1 dáme do zfiltrovaného a odvzdušněného roztoku činidla.

Práce na přístroji **FIALab – 2500** je plně řízena počítačem. Při spuštění programu kliknutím na ikonku **FIALab for Windows 5.0** se rozbalí okénko se šesti tlačítky, jak je vidět na **obr. 11**, ovšem bez tlačítka autosampleru, který v naší sestavě není obsažen.



Obr. 11: Spouštění programu pro FIALab-2500

Stisknutím prvního tlačítka zleva se rozbalí okno **Flow Injection Analysis**, které je prezentováno na **obr. 12**.



Obr. 12: Ovládání čerpadla a vstřikovacího ventilu přístroje FIALab-2500

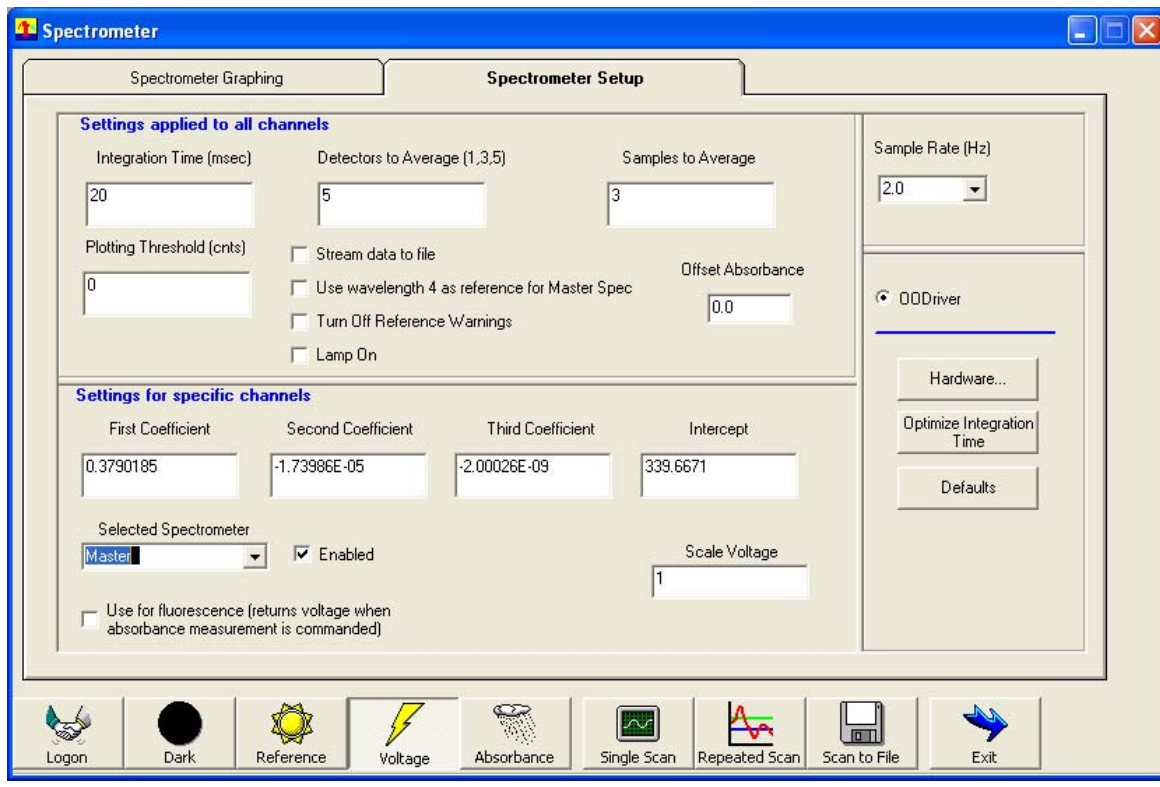
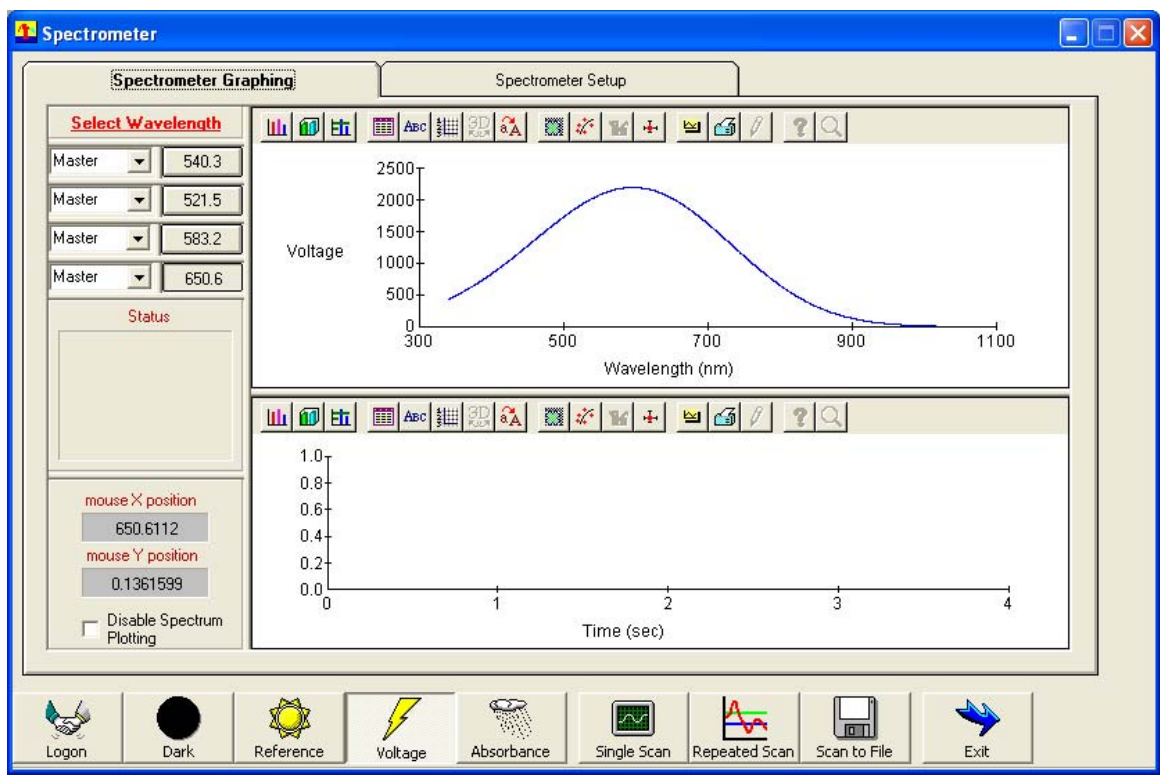
Po nalogování stisknutím tlačítka **Logon** v levém rohu dole můžeme ovládat čerpadlo a přepínat vstřikovací ventil kliknutím na patřičný obrázek ve schématu. V okénku pro rychlost průtoku (**Pump Speed**) vlevo nahoře nastavíme pro začátek hodnotu **30**. Sací hadička pro vzorek je vnořena do destilované vody, pro nosný proud do roztoku detergentu a pro činidlo je vnořena do činidla.

V dalším kroku připravíme spektrometr pro měření. Stiskneme 2. tlačítko zleva v okénku se šesti tlačítky (**obr. 11**) a otevře se okno spektrometru **Spectrometer**. Toto okno obsahuje dvě stránky, grafickou **Spectrometer Graphing** a seřizovací **Spectrometer Setup**, ve kterých listujeme přepínáním mezi těmito dvěma záložkami na horní liště. Obě tyto stránky jsou vidět na **obr. 13**. Ještě před zapnutím wolframové lampy stiskneme tlačítko s velkým černým puntíkem na dolní liště označené **Dark**, abychom změřili temný proud. Za předpokladu, že v systému nejsou žádné vzduchové bubliny, můžeme po zapnutí lampy přikročit k optimalizaci doby integrace. Stiskneme tlačítko **Voltage** se žlutým symbolem blesku, a pak klikneme na **Single Scan**. Napěťová křivka by měla mít tvar jako na **obr. 13**.

V ideálním případě se maximum křivky nachází mezi hodnotami 1500 až 3700 kauntů. Optimalizaci doby integrace provádíme kliknutím na tlačítko **Optimize Integration Time**, které se nachází v pravé části seřizovací stránky. Optimalizace trvá 10 sekund. Dále stiskneme tlačítko **Absorbance** s obrázkem deštivého mráčku a tlačítko **Request Scan**, abychom na spodním grafu viděli průběh absorbance s časem. Nestálý signál opět znamená přítomnost vzduchových bublin v průtokové kvytě.

Rychlost průtoku máme na hodnotě **30** a čerpáme do konstantní hodnoty absorbance. Na horním obrázku na grafické stránce okna spektrometru pozorujeme spektrum samotného činidla. Potom čerpadlo zastavíme a klikneme na **Reference Scan**, abychom vynulovali absorbanci. Nyní načerpáme do průtokové kvyty připravený roztok činidla s chloridy. Opět čerpáme, dokud absorbance nedosáhne konstantní hodnoty a pozorujeme pak spektrum komplexu.

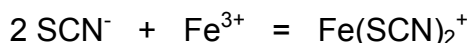
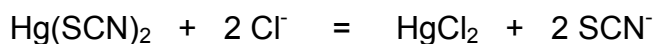
Zastavíme čerpání a před vlastní analýzou chloridů načerpáme zpět do průtokové kvyty činidlo, přepneme rychlost průtoku na hodnotu **40** a po ustálení hodnoty absorbance provedeme znovu referenční měření, případně znovu zoptimalizujeme dobu integrace.



Obr. 13: Nastavení spektrometru

B.2 Stanovení chloridů ve vzorcích– práce na přístroji FIALab - 2500

Vlastní stanovení chloridů je založeno na následujících reakcích:



Při stanovení chloridů se jako nosný proud používá destilovaná voda s jarem (2 kapky jaru do 250 mL). Složení činidla je uvedeno na str.6 nahoře v použitých činidlech a roztocích. Přítomné chloridy reagují s thiokyanatanem rtuťnatým a uvolňují ekvivalentní množství thiokyanatanových iontů. Ty pak reagují s přítomnými železitými ionty za tvorby červeného thiokyanatanového komplexu, jehož absorbance se měří při vlnové délce 480 nm.

Základní roztok NaCl má hmotnostní koncentraci $\rho 1 \text{ mg mL}^{-1} \text{ Cl}$. K přípravě kalibračních roztoků odměříme do 50 ml odměrných baněk 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 a 3,0 mL základního roztoku chloridu sodného. Doplníme po značku vodou a promícháme. Výsledné hmotnostní koncentrace jsou 10; 20; 30; 40; 50 a 60 $\mu\text{g mL}^{-1} \text{ Cl}$.

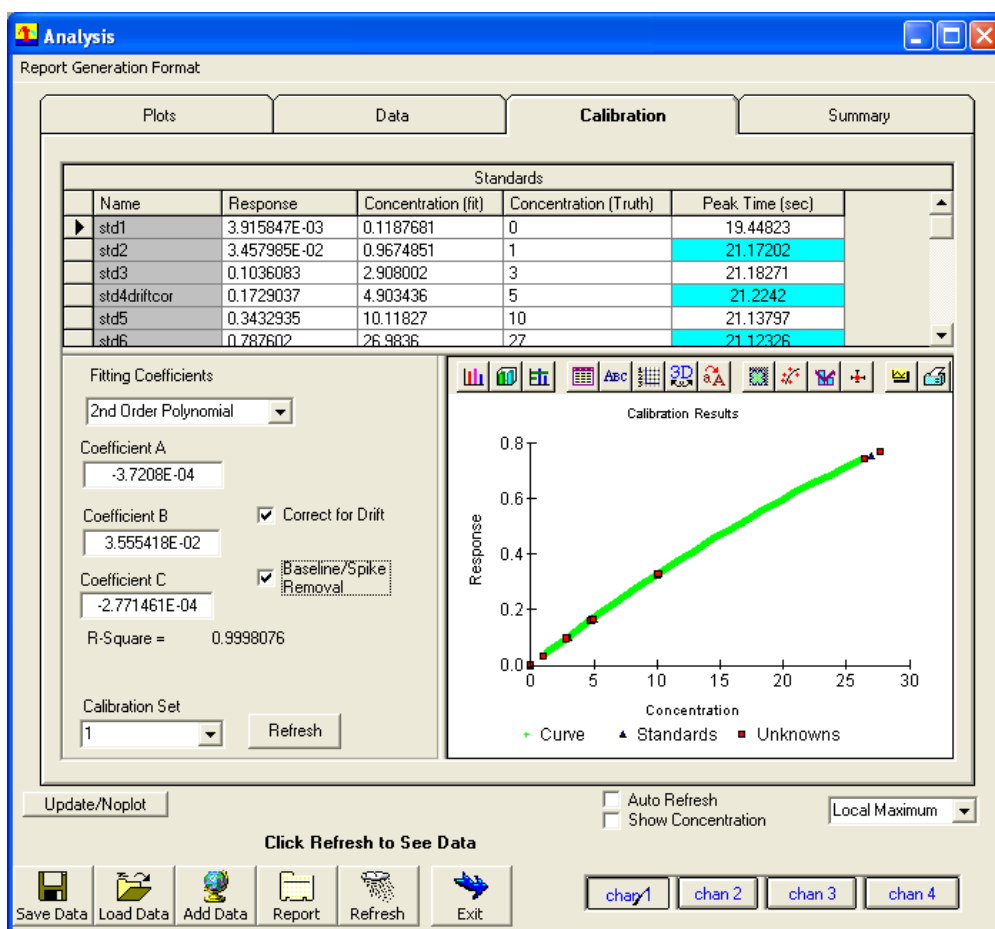
Vzorky jsou kapalné, připravené v odměrných baňkách. Doplníme je pouze destilovanou vodou po značku a po promíchání je změříme stejným způsobem jako kalibrační roztoky.

Metodu analýzy **Chloridy** otevřeme podobně jako při práci se sestavou **FIALab2000 (obr. 8)** stiskem tlačítka **Program** ve výchozím okénku se šesti tlačítky. Celkem budeme provádět devět nástřiků, šest kalibrací a tři neznámé vzorky. Po nastartování (vstřikovací ventil je v poloze **LOAD**) sledujeme v tomto okně průběh analýzy, abychom ve vhodném okamžiku vyndali sací hadičku, kterou se plní dávkovací smyčka, z jedné 50 mL odměrné baňky a vnořili ji do druhé. Tento vhodný okamžik nastává po nástřiku prvního vzorku. Musíme si uvědomit, že po dalším cvaknutí vstřikovacího ventilu se nachází systém v poloze **LOAD**, kdy se teprve plní dávkovací smyčka druhého vzorku, pak proběhne cvaknutí do polohy **INJECT**, kdy je druhý vzorek vstřikován a my můžeme sací hadičku vnořit do třetího vzorku atd.

Na výsledky analýzy se opět podíváme rozbalením okna **Analysis (Obr. 9)**. Tentokrát kromě záložek **Plots** a **Data** využijeme i kalibrační stránku **Calibration**, ve které vyplníme patřičné údaje (názvy vzorků, koncentrace standardů), jak je patrné z **obr. 14**.

Zpracování výsledků

1. Ve formě tabulky zapište zjištěné průtoky obou čerpadel přístroje **1** při zadaných otáčkách rotoru (1 a 2).
2. Do tabulky zpracujte časové údaje zjištěné při proměřování FIA křivky.
3. Ve formě tabulky uveďte zjištěné absorbance pro jednotlivé sestavy, tomu odpovídající hodnoty disperze **D** a hodnoty vzorkovací rychlosti **S**.
4. Výsledky analýzy chloridů převedte kliknutím na tlačítko **Report** v okně **Analysis** do Excelu a vytiskněte.



Obr. 14: Kalibrace a analýza vzorků chloridů

Kontrolní otázky

1. Jaké výhody má FIA proti běžným metodám?
2. Popište základní uspořádání FIA.
3. Jaký je princip funkce peristaltického čerpadla, jaké jsou jeho nevýhody?
4. Jak je třeba upravit roztoky používané v průtokové vstříkovací analýze a proč?
5. Definujte pojem disperze v průtokové vstříkovací analýze.
6. Jaké roztoky používáme při stanovení disperze?
7. Napište základní rovnice reakcí používaných při stanovení chloridů uvedenou metodou.
8. Co rozumíme pod pojmem kalibrační křivka a jaký má význam pro stanovení obsahu dané složky ve vzorku?