

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO  
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

FLUORIMETRICKÉ STANOVENÍ SKANDIA

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

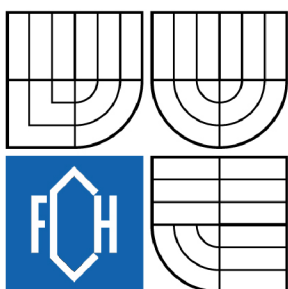
ZUZANA HOLUBOVÁ

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY  
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF  
ENVIRONMENTAL PROTECTION

## FLUORIMETRICKÉ STANOVENÍ SKANDIA

FLUORIMETRIC DETERMINATION OF SCANDIUM

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

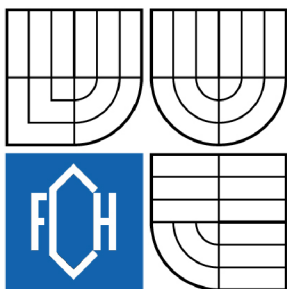
ZUZANA HOLUBOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. LUMÍR SOMMER, DrSc.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce

**FCH-DIP0210/2007**

Akademický rok: **2007/2008**

Ústav

Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí

Student(ka)

**Holubová Zuzana**

Studijní program

Chemie a technologie ochrany životního prostředí (M2805)

Studijní obor

Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)

Vedoucí diplomové práce

**prof. RNDr. Lumír Sommer, DrSc.**

Konzultanti diplomové práce

### Název diplomové práce:

Fluorimetrické stanovení skandia

### Zadání diplomové práce:

V rámci diplomové práce bude podrobně studován vliv podmínek na fluorimetrické stanovení skandia s použitím vybraných organických činidel. Bude ověřen vliv tenzidů, pH, tlumičů, doprovodných iontů a sloučenin na citlivost a mez detekce.

Jako organická činidla využity kyselina 8-hydroxychinolin-5-sulfonová a lumogallion.

### Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

---

Zuzana Holubová  
student(ka)

---

prof. RNDr. Lumír Sommer, DrSc.  
Vedoucí práce

---

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

---

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.  
Děkan fakulty

## ABSTRAKT

Komplex 8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny se skandiem poskytuje v závislosti na pH kolineární fluorescenční spektra s  $\lambda_{\max(\text{ex})} = 362 \text{ nm}$  a  $\lambda_{\max(\text{em})} = 503 \text{ nm}$ . Optimální pH komplexu je 4,5, intenzita fluorescence se minimálně po dobu dvou hodin nemění. Intenzitu fluorescence komplexu lze výrazně zvýšit přítomností již submicelární koncentrace kationtových tenzidů, obzvláště zephyraminu. Stechiometrie komplexu v nepřítomnosti tenzidu odpovídá molárnímu poměru M:L = 1:1, v přítomnosti zephyraminu se stechiometrie změní na molární poměr M:L = 1:3. Optimální koncentrační rozsah pro stanovení skandia je  $0,05 - 1 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , přičemž detekční limit podle IUPACu je  $0,005 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , podle Grahama je  $X_D^\alpha = 0,02 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,  $X_D^\beta = 0,07 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . V přítomnosti zephyraminu se při téže koncentračním rozpětí sníží detekční limit vypočtený podle IUPACu na  $0,0002 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , podle Grahama pak  $X_D^\alpha = 0,02 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,  $X_D^\beta = 0,06 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Silně negativní vliv na stanovení má  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ . Pozitivní chyba se projevila u interferentů  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$ ,  $\text{La}^{3+}$  v důsledku fluorescence jejich komplexů.

Vyhodnocením prvních derivací emisních spekter při pH 4,5 s  $\lambda_{\max(\text{ex})} = 474 \text{ nm}$  a  $\lambda_{\max(\text{em})} = 551 \text{ nm}$  neposkytuje lepší výsledky než vyhodnocení normálních spekter.

Hexamethylentetramin v koncentraci  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  je vhodným tlumičem pro praktické stanovení.

Optimalizovaná metoda stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou byla aplikována na reálné vzorky vod.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Fluorimetrie, skandium, 8-Hydroxychinolin-5-sulfonová kyselina, tenzidy, Morin, Lumogallion, analýza vody

## ABSTRACT

The scandium complex with the 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid produces collinear fluorescence spectra with  $\lambda_{\max(\text{ex})} = 362 \text{ nm}$  and  $\lambda_{\max(\text{em})} = 503 \text{ nm}$ . The optimal pH for the formation of the complex is pH 4,5. The fluorescence of the complex is constant during two hours. Its fluorescence considerably increases in the presence of submicellar concentration of cationic surfactant especially zephyramine. The stoichiometry of the complex formed compounds to the molar ratio Sc:L = 1:1 in the absence of zephyramine, but Sc:L = 1:3 in the presence of zephyramine. The optimal concentration interval for scandium is  $0,05 - 1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  with the detection limit according to IUPAC is  $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  and detection limits according to Graham are  $X_D^\alpha = 0,02 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,  $X_D^\beta = 0,07 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . In the presence of zephyramine detection limit according to IUPAC is  $0,0002 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  and detection limits according to Graham are  $X_D^\alpha = 0,02 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,  $X_D^\beta = 0,06 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . A strong negative influence on the fluorescence intensity involve  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ . Some positive error appears with  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ .

The evaluation of the 1st derivation of the fluorescence spectra does not give more precise results at pH 4,5 and  $\lambda_{\max(\text{ex})} = 474 \text{ nm}$  a  $\lambda_{\max(\text{em})} = 551 \text{ nm}$ .

0,05 M Hexamethylentetramine is a suitable buffer for the practical determination of  $\text{Sc}^{3+}$ .

The optimized method for the determination of Scandium with 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid has been applied for some real water samples.

## KEYWORDS

Fluorimetry, Scandium, 8-Hydroxyquinoline-5-sulphonic acid, surfactants, morin, lumogallion, water analysis

HOLUBOVÁ, Z. Fluorimetrické stanovení skandia. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 74 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Lumír Sommer, DrSc.

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat mému vedoucímu diplomové práce Prof. Lumíru Sommerovi, DrSc. za odborné rady a všestrannou pomoc při řešení mé diplomové práce. Taktéž bych chtěla poděkovat Ing. Šimonu Vojtovi za rady při praktickém řešení diplomové práce. V neposlední řadě Ing. Kristýně Urbánkové a Ing. Martinu Moosovi za příjemné pracovní prostředí a cenné podněty.

1. ÚVOD.....	8
2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY.....	9
2.1. Obecná charakteristika skandia .....	9
2.1.2. Historie .....	9
2.1.3. Výskyt a rozšíření na Zemi.....	9
2.1.4. Chemické vlastnosti.....	9
2.1.5. Komplexní sloučeniny.....	10
2.1.6. Hydrolýza skandia .....	10
2.1.6. Použití.....	11
2.1.7 Toxikologie skandia .....	11
3. POZNÁMKY K FLUORIMETRII .....	12
3.1. Původ molekulární fluorescence .....	12
3.2. Excitační a fluorescenční spektra molekul .....	13
3.3. Vliv tenzidů na fluorescenci .....	14
3.4. Vzrůst intenzity fluorescence chelátu s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou v micelárním prostředí .....	14
3.4. Princip fluorimetru .....	15
3.5. Fluorimetrické metody stanovení skandia.....	17
3.5.1. Reakce s deriváty flavonu.....	17
3.5.2. Stanovení $Sc^{3+}$ 2-hydroxy-3-naftoovou kyselinou .....	17
3.5.3 Fluorimetrické stanovení $Sc^{3+}$ ve formě iontového asociátu rhodaminu B s 5,7- dinitro-8-hydroxychinolinem. ....	18
3.5.4. Fluorescence komplexů $Sc^{3+}$ se Schiffovými bázemi .....	18
3.5.5. Stanovení $Sc^{3+}$ salicylaldehyd carbohydrazonem.....	18
3.5.6. Fluorescence iontového asociátu Sc-BPMPHD-CTMAB.....	18
3.5.7. Stanovení $Sc^{3+}$ salicylaldehyd salicyoylhydrazonem .....	18
3.6.8. Stanovení $Sc^{3+}$ salicylaldehyd-5-bromo-salicyoylhydrazonem.....	19
3.6.9. Stanovení 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyd semicarbazonem (HMBS).....	19
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	20
4.1. Přístroje a zařízení .....	20
4.1.1. Fluorimetr .....	20
4.1.2. Další použité přístroje.....	20
4.2. Použité chemikálie a roztoky.....	20
4.2.1. Standard .....	20
4.2.1. Činidla .....	20
4.2.3. Tenzidy .....	21
4.2.4. Tlumiče.....	23
4.2.5. Ostatní chemikálie .....	24
4.3. Charakteristika vzorků.....	24
4.3.1. Povrchová voda .....	24
4.3.2. Minerální voda.....	24
4.3.4. Voda z Tatranského plesa.....	24
4.4. Metodika vyhodnocení analytických výsledků .....	24
4.4.1. Výpočet intervalů spolehlivosti z variačního rozpětí (Dean, Dixon) .....	24
4.4.2. Kalibrace a charakteristiky metody .....	25
4.4.3. Posouzení kalibrace .....	25

4.4.4. Výpočet mezí detekce z kalibrační křivky .....	26
4.4.5. Mez detekce[30] .....	26
4.4.6. Vyhodnocení prvních derivací kalibračních spekter .....	27
4.4.7. Vyhodnocení kalibračních křivek pro vody .....	27
4.4.8. Metoda kontinuálních variací .....	27
5. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	29
5.1. Optimalizace reakce $Sc^{3+}$ s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou (8-HQS) ..	29
5.1.1. Excitačně fluorescenční spektra .....	29
5.1.2. Vliv pH roztoku .....	30
5.1.3. Závislost fluorescence komplexu na čase.....	31
5.1.4. Vliv koncentrace činidla.....	34
5.1.5. Základní kalibrační závislost.....	35
5.1.6. Vliv tenzidů .....	35
5.1.5. Vliv tlumičů.....	41
5.1.9. Porovnání kalibračních funkcí pro roztoky $Sc^{3+}$ s 8-HQS kyselinou za různých experimentálních podmínek .....	42
5.1.10 První derivace excitačně fluorescenčních spekter komplexu .....	44
5.1.7. Studium stechiometrie chelátu metodou kontinuálních variací.....	45
5.1.8. Rušení fluorescence komplexu $Sc^{3+}$ a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové jednotlivými ionty .....	46
5.2. Základní porovnání reakce $Sc^{3+}$ s 8-Hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou a reakce $Sc^{3+}$ s morinem (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon).....	50
5.2.1. Excitačně fluorescenční spektra .....	50
5.2.2. Vliv pH roztoku .....	51
5.2.3. Závislost fluorescence komplexu $Sc^{3+}$ a morinu na čase .....	52
5.2.4. Vliv ethanolu .....	54
5.2.5. Vliv koncentrace činidla.....	54
5.2.6. Kalibrační závislost .....	55
5.2.7. První derivace excitačně fluorescenčních spekter komplexu .....	56
5.3. Základní porovnání reakce $Sc^{3+}$ s 8-Hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou a reakce $Sc^{3+}$ s lumogallionem (5-chloro-3-[(E)-(2,4-dihydroxyfenyl)azo]- hydroxybenzensulfonová kyselina).....	59
5.3.1. Excitačně fluorescenční spektra .....	59
5.3.2. Vliv pH roztoku .....	60
5.3.2. Závislost fluorescence komplexu $Sc^{3+}$ a lumogallionu na čase.....	61
5.3.3. Vliv koncentrace činidla.....	62
5.3.4. Kalibrační závislost .....	63
5.3.5. První derivace excitačně fluorescenčních spekter komplexu .....	64
5.4. Aplikace stanovení $Sc^{3+}$ s použitím 8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny na různé typy vod.....	66
5.4.1. Optimalizovaný postup.....	66
6. ZÁVĚR.....	68
7. LITERATURA .....	71
8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	74



## 1. ÚVOD

Skandium lze stanovit spektrofotometrickými metodami, vzhledem k jejich jednoduchosti, cenové nenáročnosti a snadného zautomatizování. Začínají se však uplatňovat metody fluorimetrické a to hlavně kvůli vyšší citlivosti, důkazuschopnosti a selektivitě ve srovnání s metodami spektrofotometrickými, i při zhoršené opakovatelnosti měření.

V analytické chemii má kyselina 8-hydroxychinolin-5-sulfonová široké uplatnění při fluorimetrickém stanovování kationtů jednotlivých kovů např.  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Ce^{3+}$  a  $Al^{3+}$ .

V přítomnosti tenzidů dochází ke zvýšení intenzity fluorescence vzniklého komplexu. Komplexotvorné a analytické vlastnosti činidla jsou podobné 8-hydroxychinolinu. Liší se vyšší rozpustností vzniklých komplexů ve vodném prostředí a samotné činidlo nevykazuje fluorescenci v širokém rozmezí pH.

## 2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 2.1. Obecná charakteristika skandia

Skandium je 21. prvek periodické tabulky prvků se značkou Sc, nacházející se ve třetí vedlejší skupině prvků. Je to stříbřitě bílý, měkký a výrazně lehký kovový prvek. Patří mezi d-prvky s elektronovou konfigurací  $[\text{Ar}] 3d^1 4s^2$ , v jednotlivých slupkách 2, 8, 8 a 3 elektrony. Skandium má atomovou hmotnost  $44,9559 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

#### 2.1.2. Historie [33, 34]

Skandium se nachází podobně jako Y a La ve švédských rudách, kde je obsaženo jen v malém množství, a tato skutečnost byla také hlavní příčinou toho, proč bylo skandium objeveno s poněkud značným časovým odstupem. Stalo se tak v roce 1879, kdy L. F. Nielsen izoloval nový oxid, který pojmenoval „skandiová zemina“. O několik let později, když bylo k dispozici větší množství oxidu, z něho připravil P. T. Cleve značný počet solí a současně ukázal, že jde o oxid nového prvku, jehož vlastnosti se velice dobře shodovaly s vlastnostmi předpověděnými D. I. Mendělejevem pro ekabor (prvek chybějící v jeho klasifikaci).

Kovové skandium bylo připraveno až v roce 1937 elektrolýzou taveniny chloridu K, Li a Sc. Skandium 99% čistoty bylo získáno teprve v roce 1960.

#### 2.1.3. Výskyt a rozšíření na Zemi [5, 20, 33, 34]

Prvky třetí vedlejší skupiny nejsou tak vzácné, jak se o nich dříve tradovalo. V zemské kůře je Sc obsaženo v koncentraci 25 ppm (v jiné literatuře uvedeno rozmezí 5 – 22 ppm).

Skandium je v přírodě poměrně značně rozšířeno. Zřídka však tvoří větší ložiska a protože nemá valný hospodářský význam, nezpůsobuje jeho rozptýlený výskyt zvláštní problémy. Jediným nerostem bohatým na Sc je vzácný Thortveitit  $\text{Sc}_2\text{Si}_2\text{O}_7$ , který se nachází v Norsku. V současné době jsou k dispozici značná množství  $\text{Sc}_2\text{O}_3$ , který odpadá jako vedlejší produkt při zpracování uranu. V ČR se skandium nachází v cinoveckých wolframitech.

#### 2.1.4. Chemické vlastnosti [18, 33, 34]

Vzhledem k tomu, že na jedné straně bezprostředně sousedí se silně elektropozitivními kovy alkalických zemin a na straně druhé předchází přechodné prvky, projevují – podle očekávání – odstupňované vlastnosti. Prvek je méně elektropozitivní než příslušný prvek předcházející prvek skupiny II.A a přitom elektropozitivnější než následující přechodný prvek. Stoupající elektropozitivita ve směru od Sc k Y je však v souladu s rostoucím atomovým poloměrem.

Přítomnost jednoho elektronu d u Sc (na rozdíl od elektronu p atomů B, Al) se projevuje v některých vlastnostech typických pro kovy. Například teploty tání a varu, spolu s entalpiemi provázejícími příslušné proměny, od Al k Sc stoupají, zatímco ve směru od Al ke Ga naopak klesají. Z toho lze vyvodit, že elektron d má větší vliv na soudržnost než elektron p, jejíž příčinou může být lokalizovanější vazba v kovu zprostředkovaná elektrony d. A tak, třebaže Sc v kovovém stavu krystalizuje v nejtěsnějším hexagonálním uspořádáním (ostatní modifikace jsou stále při vyšších teplotách) typickém pro kovy, vykazují mnohem větší měrný odpor (rezistivitu) než Al. Připustíme-li, že měrný odpor je funkcí tepelných vibrací mřížky stejně jako míry lokalizace valenčních elektronů, musí být tak značný rozdíl

v měrném odporu mezi Al a Sc způsoben výrazným snížením pohyblivosti elektronu d atomu skandia.

Skandiu dominuje oxidační stav III, který reprezentují převážně iontové sloučeniny. Ztráta 3 valenčních elektronů vede ke kationtům s dobře charakterizovanou chemií jejich vodných roztoků, a ačkoli jde o prvek který je prvním členem příslušné přechodné řady, není jeho chemie typická pro přechodné prvky. Chybí mu proměnlivé oxidační stavy a výrazná schopnost poskytovat s nejrůznějšími ligandy koordinační sloučeniny. Skandium je ze své skupiny nejlehčím prvkem s nejmenším iontovým poloměrem s nejnižším bazickým charakterem. Ze všech tří prvků projevuje největší sklon k tvorbě komplexů. Po chemické stránce se dost přimyká k Al a tato podoba se navenek projevuje zejména v rozsáhlé hydrolýze vodných roztoků skanditých solí a v poněkud kyselém charakteru oxidu.

### 2.1.5. Komplexní sloučeniny [33, 34]

Skandium jehož koordinační chemie, podobně jako Y a La, není ve srovnání s dalšími přechodnými prvky rozhodně nijak zvlášť rozsáhlá, uplatňuje v komplexech, jak konečně ukazuje několik následujících příkladů, nejčastěji koordinační číslo šest:  $[\text{ScF}_6]^{3-}$ ,  $[\text{Sc}(\text{bipy})_3]^{3+}$ ,  $[\text{Sc}(\text{bipy})_2(\text{NCS})_2]^+$ ,  $[\text{ScCl}_2(\text{bipy})_2]^+$  a  $[\text{Sc}(\text{dmsO})_6]^{3+}$  (kde dmsO znamená dimethylsulfoxid). K tomu je nezbytné ještě dodat, že koordinační vazby v takových sloučeninách jsou vesměs slabé, a pokud bychom z tohoto hlediska porovnávali prvky skupiny IIIA mezi sebou, pak pevnost těchto vazeb klesá směrem od skandia k lanthanu. La tak i Y připomínají značně lanthanoidy, zatímco Sc se mnohem více podobá Al.

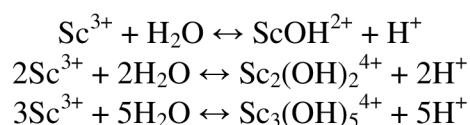
Ze všech donorových atomů se prvky skupiny IIIA nejčastěji koordinují s kyslíkem, a to zvláště, je-li součástí chelátového ligandu. Vzniklé komplexy mají iontový charakter, který se zvětšuje, postupujeme-li ve skupině shora dolů, podobně jako v tomto směru stoupá tendence prvků dosahovat koordinačních čísel větších než šest.

### 2.1.6. Hydrolýza skandia[16, 35]

Skandium se vyskytuje v trojmocném stavu v roztocích spadá tak mezi hliník a yttrium. Jelikož je iont skandia větší než iont hliníku, má větší tendenci podléhat hydrolýze. Běžné hodnoty koncentrací kdy dochází k hydrolýze začínají při pH 2,5, pokud může hodnota  $n$  dosáhnout hodnoty 1,2 před hydrolytickým srážením vyskytuje se hydrolýza až mezi pH 4 – 5. Vznik produktů hydrolýzy proběhne rychle a vratně.

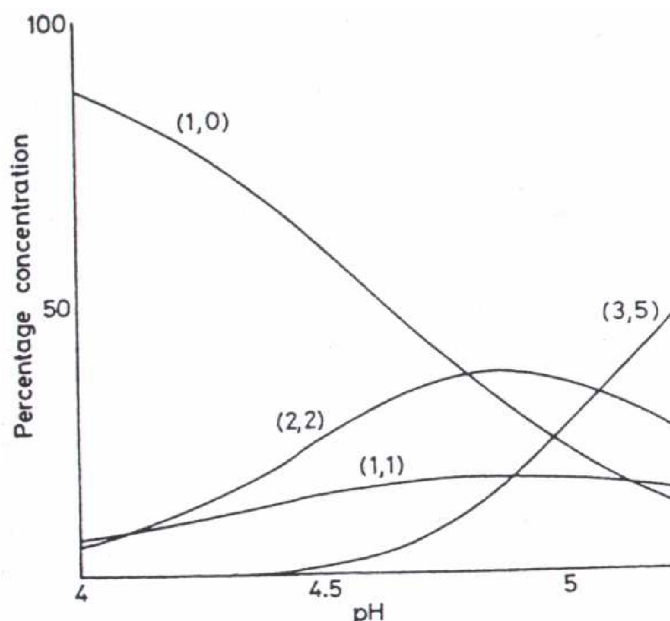
#### *Hydrolýza v kyselém prostředí*

Nejrozsáhlejší měření hydrolýzy skandia v roztoku bylo provedeno Kilpatrickem a Pokrasem (1953, 1954), studovali vliv iontové síly a teploty v roztoku  $\text{NaClO}_4$ . Aveston (1966) se zasloužil na základě vlastních měření o lepší interpretaci výsledku Kilpatricka a Pokrase:  $\text{ScOH}^{2+}$ ,  $\text{Sc}_2(\text{OH})_2^{4+}$ ,  $\text{Sc}_3(\text{OH})_5^{4+}$  probíhající podle rovnic:



Konečně Brown, Ellis a Sylva (1983) zaznamenali výsledky z rozsáhlé potenciometrické studie v  $0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ KNO}_3$ .

$\text{Sc}(\text{OH})^{2+}$  (forma převažující při pH = 3),  $\text{Sc}_2(\text{OH})_2^{4+}$  (forma převažující při pH = 4-5),  $\text{Sc}_3(\text{OH})_5^{4+}$  (forma převažující při pH = 6).



Obr. 1: Distribuce hydrolytických produktů  $Sc^{3+}$  v  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  roztoku  $KNO_3$

### 2.1.6. Použití [5, 33, 34]

Vzhledem k malému technickému významu se skandium vyrábí jen v omezeném množství. Zčásti se získává z Thortveititu, který obsahuje 35 – 40 %  $Sc_2O_3$ . Hlavním zdrojem jsou však odpady vznikající při zpracovávání uranových rud, ve kterých je obsaženo pouze asi 0,02 %  $Sc_2O_3$ . Ačkoli byla pro Sc navržena řada možností, jak jej využít, je stále nahrazováno levnějšími alternativami. Využití našlo zejména ve slitinách s Al, které se používají v leteckém průmyslu a při výrobě sportovního vybavení (kola,...). Používá se také jako konstrukční kov v kosmonautice.

### 2.1.7 Toxikologie skandia [19, 47]

Tento prvek a jeho sloučeniny jsou značně rozptýlené a tak ani toxikologický význam ani znalosti o něm nejsou velké. Ionty skandia jsou zřejmě méně jedovaté než ionty lanthanu a lanthanoidů. V pokusech na zvířatech bylo zjištěno, že přítomnost skandia v dietě vede ke vzniku maligních nádorů. Akutní toxicita chloridu skanditého –  $ScCl_3$  je  $LD_{50}$  (myš, orálně) =  $4 \text{ g.kg}^{-1}$ .

### 3. POZNÁMKY K FLUORIMETRII

#### 3.1. Původ molekulární fluorescence [22, 32, 36]

Fluorescence je emise fotonů (záření) v oblasti viditelného, ultrafialového a infračerveného spektra ze vzbuzených singletových elektronových hladin. Po absorpci záření se část energie transformuje v sekundární záření zpravidla o vyšší vlnové délce (Stokesův efekt). Vznik fluorescence je jenom jednou z možností relaxace vzbuzené molekuly. Důležitou charakteristikou fluorescence je kvantový výtěžek, excitační a emisní spektrum a v neposlední řadě doba existence záření (lifetime).

Relaxace (deexcitace) molekuly ze vzbuzených elektronových hladin je často složitým procesem. Vznik fluorescence doprovází vnitřní konverze molekuly a vibrační deaktivace bez emise záření. Složitým jevem je přechod elektronů do tripletového stavu (intersystem crossing), který navozuje zpožděnou fluorescenci nebo časově kinetickou fosforescenci.

Fluorescence je často vybuzena jen některým absorpčním maximem, které charakterizuje excitační spektrum. Fluorescenční spektrum je excitováno kteroukoliv vlnovou délkou v oblasti excitačního spektra, pouze výtěžek je různý. Pro analytické účely se měření provádí a vyhodnocuje zpravidla při maximech excitačního a emisního spektra. Pro zvýšení efektu fluorescence excitujeme analyt často energií v celém excitačním spektru.

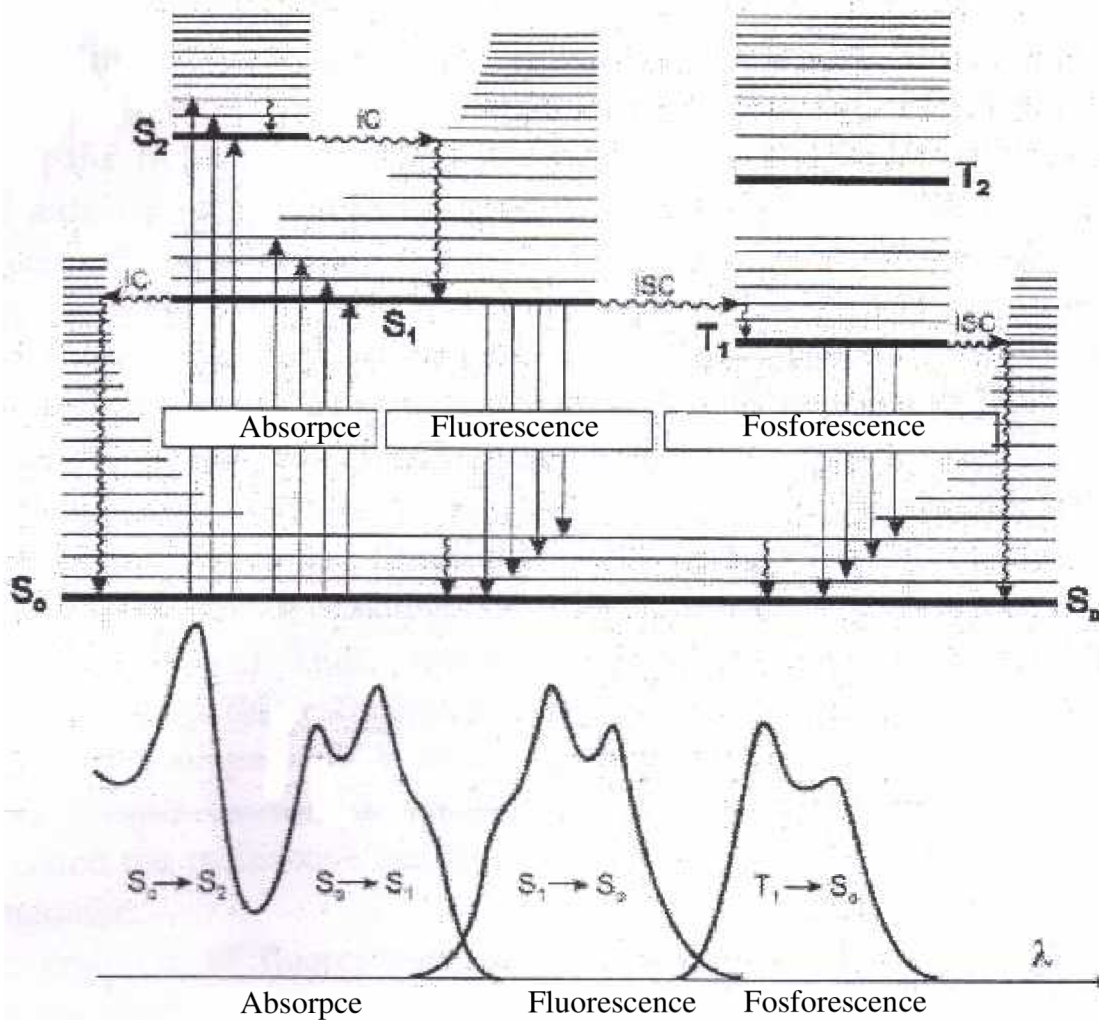
Emisní (fluorescenční) spektrum vybuzené kontinuálním zdrojem záření (xenonová lampa) je zpravidla přímo analyticky využito. Pro přesná fyzikální měření je nutné zavedení korekce výrobcem přístroje s přihlédnutím k charakteristice zdroje záření a detekce. Dalším možným řešením je korekce za použití fluorescenčních standardů s definovaným fluorescenčním spektrem.

V průběhu měření fluorescence se objevují komplikace s polarizací záření a difúzním rozptylem záření.

Složitou problematiku jevů probíhajících v molekule po absorpci záření popisuje Perrin-Jablonského diagram.

Tab. 1: Časová charakteristika jednotlivých dějů, probíhajících po absorpci primárního záření.

Časová charakteristika		
Absorpce	$10^{-15}$ s	
Vibrační relaxace	$10^{-12} - 10^{-10}$ s	
Doba existence záření excitovaného singletového stavu	$10^{-10} - 10^{-7}$ s	→ fluorescence
Intersystem crossing	$10^{-10} - 10^{-8}$ s	
Vnitřní konverze	$10^{-13} - 10^{-9}$ s	
Doba existence záření excitovaného tripletového stavu	$10^{-8} - 1$ s	→ fosforescence



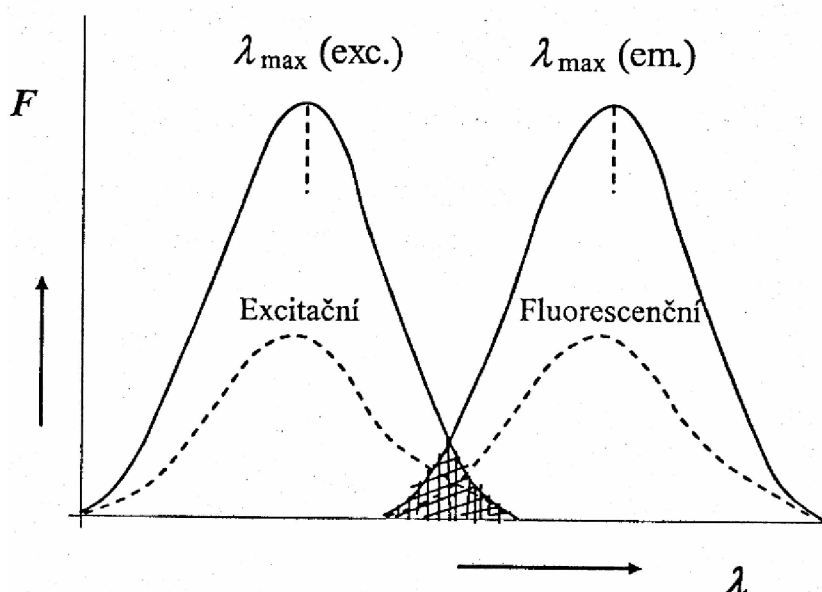
Obr. 2: Perrin-Jablonského diagram, ilustrace vztahu absorpčních, fluorescenčních a fosforescenčních spekter.

Analytické využití fluorescence je komplikováno koncentračním samozhášením fluorescence od definované koncentrace analytu (Vavilov), ale také vlivem cizích iontů na fluorescenci v závislosti na elektronové struktuře iontu (molecular collision).

V současné době je studován vliv kationtových, aniontových a neiontových tenzidů na fluorescenci v submicelární a micelární koncentraci. Pozornost je také věnována fluorescenci komplexů a chelátů s organickými činidly a jejich složení a struktury těchto sloučenin.

### 3.2. Excitační a fluorescenční spektra molekul [17]

Při registraci  $F = f(\lambda)$  jsou zaznamenána zdvojená symetrická spektra, která se mohou částečně překrývat – excitační spektrum v kratkovlnější oblasti a emisní spektrum (fluorescenční spektrum) v dlouhovlnější oblasti. Excitační spektrum je vlastně zjednodušené absorpční spektrum analytu, protože jen některá absorpční maxima jsou fluorescenčně aktivní. Pro analytické účely nejsou zpravidla již dále korigována na nekonstantní emisi zdroje v daném oboru (xenonová lampa) nebo proměnlivou citlivost detektoru (fotonásobič).



Obr. 3: Excitační a fluorescenční spektrum molekuly. Čárkované křivky odpovídají menšímu  $\lambda_{ex}$ , šrafovaná oblast souvisí s vnitřně-filtračním efektem.

### 3.3. Vliv tenzidů na fluorescenci [23, 24, 25, 44, 45]

Fluorimetrické stanovení může být citlivější v přítomnosti různých tenzidů. Jsou to amfifilní molekuly skládající se z polární skupiny a dlouhého nepolárního řetězce a lze u nich tedy rozlišit hydrofobní a hydrofilní část. Podle charakteru polární skupiny mohou být kationtové, aniontové, neiontové a amfolytické. Po překročení kritické micelární koncentrace (CMC) tvoří molekuly tenzidů sférická seskupení a vznikají micely různého typu.

V micelárním prostředí dochází k:

- rozpuštění, oddělování a koncentrování látek
- změně kyselosti, polarity, fluidity a dalších vlastností rozpuštěných látek
- změně kvantového výtěžku fluorescence
- posunu chemické rovnováhy

Zvyšování intenzity fluorescence v micelárním prostředí je způsobováno:

- stíněním komplexu sloučeniny s kovem v excitovaném singletovém stavu před zhášením způsobeným vibrační vazby mezi kyslíkem a vodíkem v molekule vody
- zvýšením viskozity kolem vazebných míst svítivé látky
- omezením možnosti zhášečů v roztoku dostat se do kontaktu se vzorkem
- omezením jiných zhášečů a dezaktivních pochodů v důsledku uspořádanějšího lokálního prostředí
- změnou rychlostí zářivých a nezářivých pochodů

Obecně aniontové micely chrání nejlépe proti aniontovým zhášečům a kationtové micely proti kationtovým. Neiontové micely poskytují částečnou ochranu proti oběma typům rušících iontů.

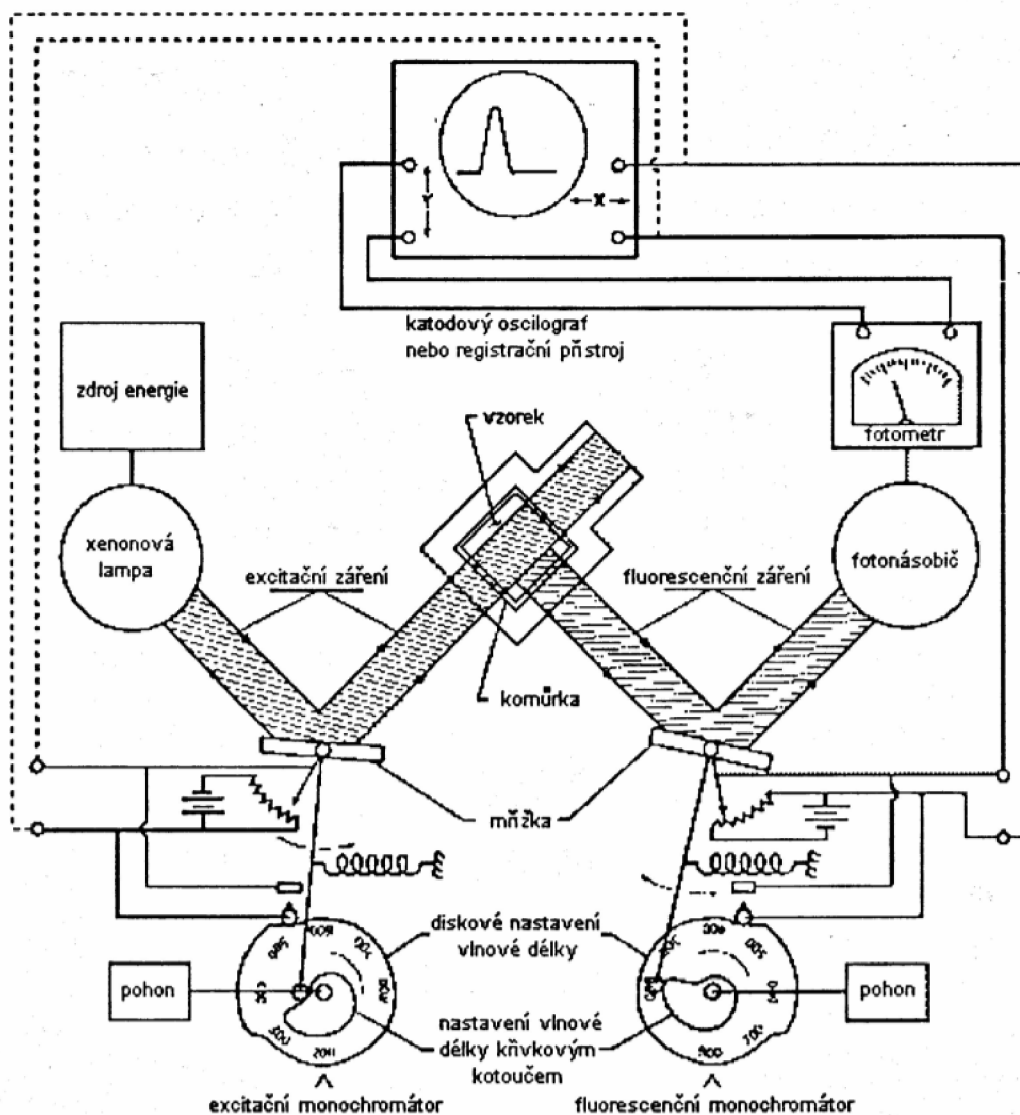
### 3.4. Vzrůst intenzity fluorescence chelátu s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou v micelárním prostředí [41, 42]

Dodecylsulfát sodný (aniontový tenzid) vytváří negativně nabitě micely. Negativně nabitý ligand, kterým je chinolinsulfát podle očekávání nepodléhá asociaci, není pozorované žádné významné zvýšení intenzity fluorescence chelátu. Malé, ale těžko rozpoznatelné zvýšení

intenzity fluorescence je pozorováno u neiontových tenzidů, jakým je např. Triton X-100 nebo Brij-78. Kationtové tenzidy vytvářejí pozitivně nabitě micely a způsobují významný vzrůst intenzity fluorescence.

### 3.4. Princip fluorimetru [32, 48, 49, 50]

Na obrázku jsou vidět jednotlivé součásti fluorimetru. Zdrojem záření je obvykle vysokotlaká xenonová lampa, používány jsou i různé typy laserů. Následuje dvojnásobný monochromátor (mřížkový) s nezávislým pohonem, jako detektor je použit fotonásobič s přepínatelnou citlivostí.



Obr. 4: Schéma spektrofotofluorimetru Aminco Bowman.[43]

Fluorescence je nejčastěji měřena v pravém úhlu či úhlu 45 % ke směru paprsku primárního záření, aby primární záření procházející kyvetou nerušilo měření fluorescence.

Reprodukovatelnost měření bývá horší než u molekulové spektroskopie v UV a VIS oblasti, důkazschopnost je však nejméně o rád vyšší.

Nekorigovaná spektra jsou zdeformována v závislosti kolísání intenzity zdroje záření, na účinnosti přenosu monochromátorů a citlivosti detektoru.



Správná korekce excitačních a emisních spekter není jednoduchá a má největší význam v kvantitativní analýze (stanovení kvantových výtěžků a výpočet překrývajících se integrálů), ve srovnání excitačních a emisních spektrech a ve srovnání dat fluorescence získaných za jiných experimentálních podmínek. Korigovaná fluorescenční spektra lze získat použitím korekčních faktorů měření od výrobce například použitím kalibrované wolframové lampy nebo fluorescenčními standardy. Srovnáním spektra fluorescenčního standardu a skutečně zaznamenaného spektra fluorescenčního standardu na přístroji lze získat potřebné korekční faktory. Počet těchto standardů je však omezen.

Ve fluorimetrickém měření je však mnoho dalších komplikací jako je polarizace primárního záření a emise fluorescence (účinnost přenosu monochromátoru závisí na polarizaci primárního záření), dále možná kontaminace signálu rozptýleným zářením (Rayleigh, Raman) zvláště u vzorků se zákalem nebo fluorescenčním pozadím vzorku.

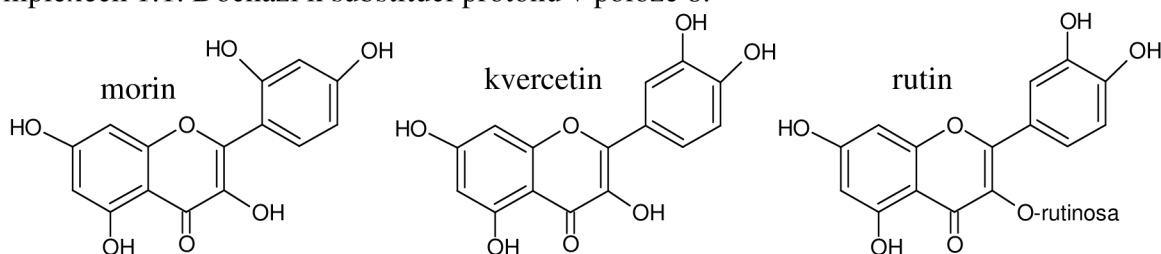
V moderním pojetí jsou používány tyto typy fluorimetrie: laserová, časově a fázově rozlišená, s modulací vlnových délek, rentgenová, zhášecí, matricová izolační, dvoufotonová a stereofluorografie.

### 3.5. Fluorimetrické metody stanovení skandia

Fluorimetrické metody stanovení skandia jsou založeny na jeho schopnosti vytvářet stabilní komplexy s organickými činidly vhodné struktury.

#### 3.5.1. Reakce s deriváty flavonu

Reakcí skandia s polyhydroxyflavony vznikají dva druhy komplexů, fluoreskující a nefluoreskující v závislosti na použitém pH. Kvercetin (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavon) vytváří tři komplexy, z toho dva komplexy fluoreskují. Morin (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon) poskytuje jeden fluoreskující a jeden nefluoreskující komplex. Rutin vytváří pouze jeden nefluoreskující komplex. Všechny nefluoreskující komplexy a jeden fluoreskující komplex kvercetinu při pH 6,0 – 6,5 jsou elektricky neutrální. Druhý fluoreskující komplex kvercetinu při pH 5,5 6,0 a fluoreskující komplex morinu mají pozitivní náboj ( $\text{ScOH}^{2+}$ ,  $\text{Sc}(\text{OH})^{2+}$ ). Stechiometrický poměr složek je ve všech zmíněných komplexech 1:1. Dochází k substituci protonu v poloze 8.



Komplex  $\text{Sc}^{3+}$  s morinem dává zelenou fluorescenci. Komplex obsahující skandium, morin a antipyrin vzniká při pH 1,2 - 4 a je extrahován jako komplex iontového asociátu slabými bazickými anionty. Vzniklý komplex je vhodný pro fotometrické stanovení skandia po extrakci (citlivost je  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) i fluorimetrické stanovení skandia po extrakci (citlivost  $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). [1,2]

Skandium s morinem vytváří ve vodném roztoku ethanolu dva komplexy při pH 3,7 – 4,0. V přítomnosti antipyrinu se extrahuje asociát do chloroformu při pH 3,3 – 3,4. Citlivost je  $0,01 - 0,2 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1} \text{Sc}^{3+}$ . Stanovení ruší Al, In, Zr, Th, Ti, Lu, Y a lanthanoidy. V přítomnosti silné kyseliny, např. kyseliny chloristé, je citlivost  $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Stechiometrický poměr je  $\text{Sc}^{3+} : \text{morin} : \text{antipyrin} : \text{ClO}_4^- = 1:1:3:1$ . [3]

Reakce  $\text{Sc}^{3+}$  s morinem je citlivá pro fluorimetrické stanovení v neutrálním nebo lehce kyselém prostředí, ale není selektivní. Je nutné  $\text{Sc}^{3+}$  oddělit extrakcí butylalkoholem, ethylacetátem nebo amylalkoholem. Ruší Fe, Al, Be, Ga, Zn. [4].

Byl popsán způsob stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  v povrchových vodách. Vzorek po filtraci, okyselen  $\text{HNO}_3$ , dvakrát odpařen do sucha v křemenné misce při 80-95 °C. K suchému zbytku přidat 5 ml redestilované vody, 3 ml  $9 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{HCl}$ , 3 ml 20% tributylfosfátu v  $\text{CHCl}_3$ , 3 ml  $\text{CaCl}_2$ . Následuje extrakce 5 ml  $\text{CHCl}_3$  po dobu 5 min,  $\text{Sc}^{3+}$  reextrahovat vodou. Přidat činidlo myricetin-5-glukozid, aceton, tlumič (acetát + HCl) a měří se fluorescence při pH = 3 a při emisním maximu 480 nm s excitací při 436 nm. [6]

Podle Charlota lze morinem dokazovat skandium v množství 10-3 – 10-4,5 %. [9]

#### 3.5.2. Stanovení $\text{Sc}^{3+}$ 2-hydroxy-3-naftoovou kyselinou

Komplex vykazuje modrou fluorescenci při pH > 3, fluorescenční maximum při  $\lambda_{\text{max}} = 475 \text{ nm}$ . Koncentrace činidla je  $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , koncentrace skandia  $10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Stanovení ruší

acetát, neruší chloridy, chloristany, dusičnany, také Cu, U, Cr. Významně ruší železo. Metoda je vhodná pro stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  v silikátech – extrakce  $\text{Sc}^{3+}$  tributylfosfátem z 8-9 mol.l<sup>-1</sup> HCl, maskování Ti, V, Mo přítomností  $\text{H}_2\text{O}_2$ , reextrakce 3-4 mol.l<sup>-1</sup> HCl. Komplikované oddělení  $\text{Sc}^{3+}$ . [7]

### **3.5.3 Fluorimetrické stanovení $\text{Sc}^{3+}$ ve formě iontového asociátu rhodaminu B s 5,7-dinitro-8-hydroxychinolinem.**

Extrakce se provádí toluenem, benzenem,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$  při pH 1,5 – 6,0. Maximální fluorescence je dosaženo při pH 2,0 – 3,0. Musí se dát pozor na hodnotu fluorescence slepého pokusu ( $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Stanovení ruší Th, U, Mg, Ca, Zn, Cd, La. Selektivní extrakce  $\text{Sc}^{3+}$  se provádí při pH = 3 1-fenyl-3-methyl-4-benzoylpyrazolonem ve formě iontového asociátu s rhodaminem B. Mez detekce je 0,02  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  Sc. [8]

### **3.5.4. Fluorescence komplexů $\text{Sc}^{3+}$ se Schiffovými bázemi**

Byla studována fluorescence  $\text{Sc}^{3+}$  se sedmnácti Schiffovými bázemi. Jako nejlepší činidlo se ukázal 2,4-dyhydroxybenzaldehydesemicarbazon. Excitační maximum je při 360 nm, emisní maximum při 425 nm. Optimální pH je rovno 6,0. Komplex je stabilní minimálně 3 hodiny. Stanovení neruší Sb, As, Ba, Be, B, Bi, Cd, Ca, Ce, Eu, Ge, In, La, Mg, Mn, Se, Sr, Th a W.

Negativní chybu stanovení způsobují Cr, Co, Cu, Ga, Fe, Ni a Sn, pozitivní chybu prokazuje Al, Y a Zn. Rozsah stanovení je při 2-400  $\text{ng.ml}^{-1}$ . [10]

### **3.5.5. Stanovení $\text{Sc}^{3+}$ salicylaldehyd carbohydratonem**

Tato fluorimetrická metoda je jednoduchá, rychlá, citlivá a selektivní. Reakce se provádí v rozpětí pH 2,7 – 5,2 ve vodném roztoku ethanolu (60% v/v ethanol). Fluorescenční maximum je při 452 nm, excitační maximum při 375 nm. pH bylo upravováno použitím zředěných roztoků hydroxidu draselného a kyseliny chlorovodíkové. Intenzita fluorescence je konstantní minimálně hodinu. Měří se při laboratorní teplotě. Stechiometrický poměr komplexu je 1:3 (ion : ligand). Stanovení neruší Ba, Ca, Mg, Pb, Se, Mn, Tl, In, Zr, W, Cr, Co, Sr, Sb, La, Ce, Sm, chloridy, bromidy, dusičnany, jodidy, dusitany, jodistany. Stanovení ruší Bi, Ni, Al, Zn, Th, Cu, Fe. Detekční limit metody je 0,2  $\text{ng.ml}^{-1}$   $\text{Sc}^{3+}$  standardní relativní odchylka stanovení je  $\pm 1,5\%$ . [11]

### **3.5.6. Fluorescence iontového asociátu Sc-BPMPHD-CTMAB**

Silnou fluorescenci vykazuje iontový asociát skandia s 1,6-bi(1'-fenyl-3'-methyl-5'-pyrazolon-4'-)hexadionem (BPMPHD) a s kationtovým tenzidem cetyltrimethylammonium bromidem (CTMAB). Ionový asociát vykazuje fluorescenci při 350 – 550 nm při pH = 5,5. Koncentrace BPMPHD byla  $3 \cdot 10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup>, koncentrace CTMAB  $3 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup>. Fluorescenci neruší K, Na, Ca, Cd, Sr, Ba, As, Mg, Zn, Mn, Cr, La, Dy, Sm, Yb, Gd, chloridy, bromidy, dusičnany, sírany a fosforečnany v relativní chybě  $\pm 10\%$ . Ostatní lanthanoidy však fluorescenci ovlivňují a před stanovením skandia musejí být separovány. Rozsah stanovení je  $4 \cdot 10^{-8}$  –  $5 \cdot 10^{-7}$   $\text{g.ml}^{-1}$   $\text{Sc}^{3+}$ , s detekčním limitem 14  $\text{ng.ml}^{-1}$ . [12]

### **3.5.7. Stanovení $\text{Sc}^{3+}$ salicylaldehyd salicyoylhydratonem**

Metoda založena na chelatační reakci, probíhající ve vodném roztoku ethanolu (1:1, v/v) při pH = 5. Vzniklý komplex má fluorescenční maximum při 465 nm, excitační maximum je

při 388 nm. Kalibrační závislost má lineární rozsah pro  $\text{Sc}^{3+}$  je 0,4 – 100  $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Detekční limit je 0,12  $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Fluoreskující komplex vzniká v molárním poměru 1:1. Vliv interferentů lze odstranit extrakcí 1-fenyl-3-methyl-benzoylpyrazolonem z roztoku kyseliny mravenčí a mravenčanu sodného při  $\text{pH} = 3$ . [13]

### **3.6.8. Stanovení $\text{Sc}^{3+}$ salicylaldehyd-5-bromo-salicyoylhydrazonem**

Metoda je založena na chelatační reakci, probíhající ve vodném roztoku ethanolu (1:1, v/v) při  $\text{pH} = 4,8$ . Vzniklý komplex má fluorescenční maximum při 466 nm, excitační maximum je při 392 nm. Lineární rozsah pro  $\text{Sc}^{3+}$  je 0 – 1  $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$ . Detekční limit je 0,15  $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$  skandia. Komplex vzniká v molárním poměru 1:1. Metoda aplikována na geologické vzorky. [14]

### **3.6.9. Stanovení 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyd semicarbazonem (HMBS)**

Směs 3 ml 0,1% HMBS v N,N-dimethylformamidu a 2 ml 10% octanu sodného jako tlumivého roztoku je přidán k roztoku obsahující (2.10<sup>-3</sup> stejný 6  $\mu\text{g}$ ) skandium. Roztok je zředěn destilovanou vodou na objem 25 ml a po přidavku 1 ml 1% dodecylbenzensulfonátu sodného a 10 ml chloroformu, je po dobu 10 minut protřepáván. Intenzita fluorescence komplexu skandia po převedení do organické fáze se měří při emisním maximu 467 nm a excitačním maximu 380 nm. Detekční limit získaný tradiční metodou je 0,8  $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ , tímto postupem klesl na 0,08  $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ . [15]

## 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1. Přístroje a zařízení

#### 4.1.1. Fluorimetr

Měření bylo uskutečněno na luminiscenčním spektrofluorimetru Aminco Bownam Series 2. Fluorimetr je jednopaprskový, zdrojem záření je vysokotlaká xenonová lampa a detektorem fotonásobič převádějící zářivý tok na elektrický signál. Fluorescence komplexů skandia byla měřena v jednocentimetrové křemenné kyvetě. Citlivost fotonásobiče byla nastavena vždy na 60 % pro všechna měření, která probíhala při různém napětí. Šířka spektrální štěrbině byla 4 nm.



Obr. 5: Luminiscenční spektrofluorimetr Aminco Bowman Series 2 [31]

#### 4.1.2. Další použité přístroje

Analytické váhy SCALTEC SPB 32 (Scaltec Instruments GmbH), magnetické míchadlo s ohřevem Fischer Scientific (Fisher Scientific, spol. s.r.o.), pH metr WTW level 3 se skleněnou elektrodou (pravidelná standardizace pomocí pufrů pH = 4,0 a pH = 7,0).

## 4.2. Použité chemikálie a roztoky

Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a.

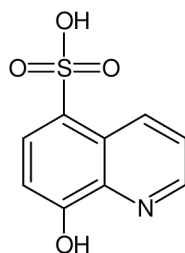
#### 4.2.1. Standard

Standard skandia o koncentraci  $1 \text{ g.l}^{-1}$  v 10 % HCl.

Byl připraven rozpuštěním navážky 0,1534 g  $\text{Sc}_2\text{O}_3$  (Lachema, Brno) ve 23,5 ml koncentrované HCl, roztok byl zahříván dokud se veškerý oxid nerozpustil, po vychladnutí byl roztok doplněn v odměrné baňce destilovanou vodou na objem 100 ml. Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny pracovní roztoky o koncentracích 100 a  $10 \mu\text{g.ml}^{-1}$ .

#### 4.2.1. Činidla

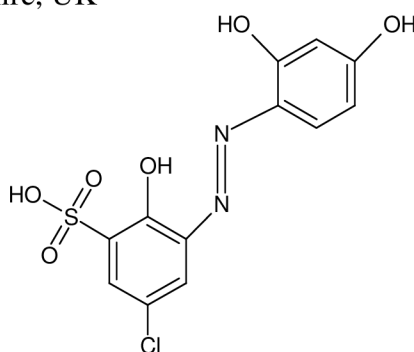
8-hydroxychinolin-5-sulfonová kyselina, Aldrich, Steinheim, SRN



Obr. 6: 8-Hydroxychinolin-5-sulfonová kyselina

Výchozí roztok byl připraven rozpuštěním 0,1 g 8-HQS ve 250 ml destilované vody, jeho konečná koncentrace  $1,78 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ .

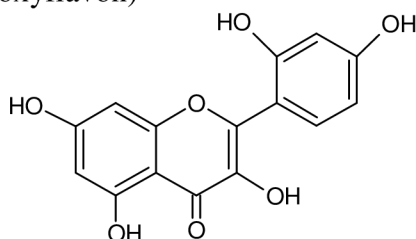
Lumogallion (5-chloro-3-[(E)-(2,4-dihydroxyfenyl)azo]-hydroxybenzensulfonová kyselina), Fluorochem, Derbyshire, UK



Obr. 7: Lumogallion (5-chloro-3-[(E)-(2,4-dihydroxyfenyl)azo]-hydroxybenzensulfonová kyselina)

Výchozí roztok připraven rozpuštěním 0,01 g lumogallionu ve 100 destilované vody, jeho konečná koncentrace  $2,91 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Morin (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon)



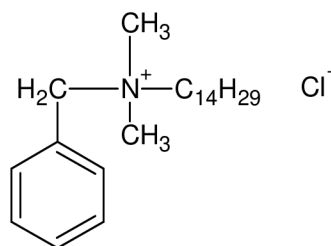
Obr. 8: Morin (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon), Aldrich, Steinheim, SRN

Výchozí roztok připraven rozpuštěním 0,0338 g morinu ve 100 ml absolutního ethanolu, výsledná koncentrace roztoku  $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ .

#### 4.2.3. Tenzidy

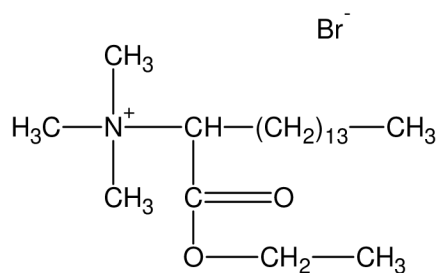
Navážka tenzidu byla po rozpuštění v destilované vodě doplněna po značku v 50 ml odměrné baňce, čímž vznikl potřebný roztok. Roztoky byly připravovány buď jako 0,1 M či 1%, záviselo na jejich rozpustnosti chemikálie.

0,1 M Benzyl dimethyl tetradecyl ammonium chlorid (Zephyramin) – Sigma-Aldrich, Steinheim, SRN



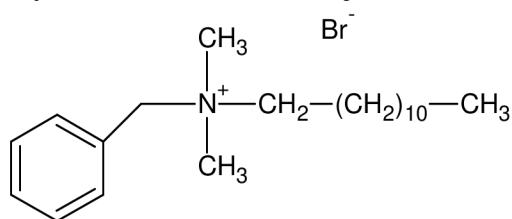
Obr. 9: Benzyl dimethyltetradecylammonium chlorid (Zephyramin)

0,1 M 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylammonium bromid (Septonex) – Sigma-Aldrich, Steinheim, SRN



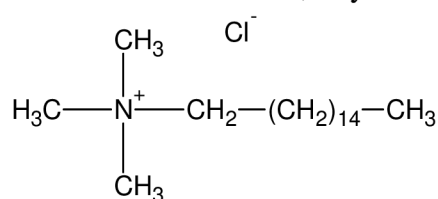
Obr. 10: 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylammonium bromid (Septonex)

0,1 M Benzyl dodecyl dimethylammonium bromid (Ajatin) – Fluka, Švýcarsko



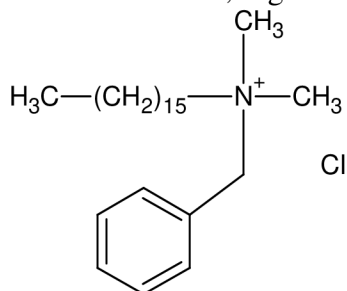
Obr. 11: Benzyl dodecyl dimethylammonium bromid (Ajatin)

1 % Hexadecyltrimethylammonium chlorid – Fluka, Švýcarsko



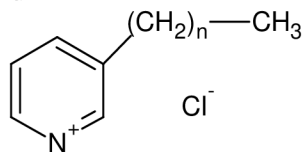
Obr. 12: Hexadecyltrimethylammonium chlorid

1% Benzyl dimethylhexadecylammonium chlorid, Sigma-Aldrich, Steinheim, SRN



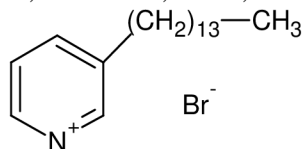
Obr. 13: Benzyl dimethylhexadecylammonium chlorid

0,1 M Decylpyridinium chlorid  
 0,1 M Hexadecylpyridinium chlorid



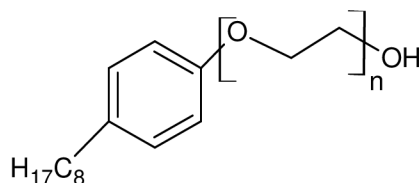
Obr. 14: Decylpyridinium chlorid  $n = 9$ , Hexadecylpyridinium chlorid  $n = 15$

0,1 M Tetradecylpyridinium bromid, Lachema, Brno, ČR



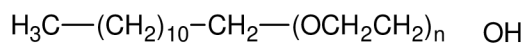
Obr. 15: Tetradecylpyridinium bromid

1 % 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)fenyl-polyethylen glykol (Triton X-100), Calbiochem co., San Diego, USA



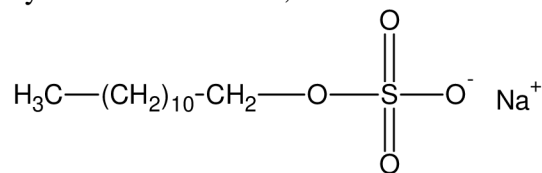
Obr. 16: 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)fenyl-polyethylen glykol (Triton X-100)

1 % Polyoxyethylen(23)lauryl ether (Brij 35) – Sigma-Aldrich, Steinheim, SRN



Obr. 17: Polyoxyethylen(23)lauryl ether (Brij 35)

0,1 M Dodecylsulfát sodný – BDH Chemicals, UK



Obr. 18: Dodecylsulfát sodný

#### 4.2.4. Tlumiče

0,1 M Octan sodný  
 0,1 M Mravenčnan sodný

Výše uvedené tlumivé roztoky byly připraveny neutralizací příslušných kyselin zředěným roztokem hydroxidu sodného na požadované pH = 4,5.

0,1 M 2-(N-Morpholino)ethansulfonová kyselina (MES) – Sigma-Aldrich Co.  
 0,1 M Hexamethylentetramin – Lachema.



Tlumivé roztoky byly připraveny rozpuštěním vypočtené navážky a případným upravením na požadované pH = 4,5 pomocí zředěných roztoků kyseliny chlorovodíkové a hydroxidu sodného.

#### 4.2.5. Ostatní chemikálie

Ostatní použité chemikálie byly produkty firem Penta (Chrudim, ČR), Lachema (Brno, ČR), Onex (Rožnov pod Radhoštěm) vesměs analytické čistoty

1 g.l<sup>-1</sup> standard Fe<sup>3+</sup>, Analytika, Praha, ČR

1 g.l<sup>-1</sup> standard Y<sup>3+</sup>, Analytika, Praha, ČR

1 g.l<sup>-1</sup> standard Al<sup>3+</sup>, Analytika, Praha, ČR

Dusičnan praseodymitý, Fluka, Švýcarsko

Hexahydrát chloridu lanthanitého, Union Chimique, Belgie

Hexahydrát dusičnanu ceritého, Loba-chemie, Vídeň, Rakousko

### 4.3. Charakteristika vzorků

#### 4.3.1. Povrchová voda

Odběr vzorku povrchové vody byl proveden z potůčku Ještědka, v lokalitě Stráž pod Ralskem, do tmavé lahve dne 31. března 2008. Před samotným stanovením byl vzorek zfiltrován na 0,45 μm filtru.

#### 4.3.2. Minerální voda

Minerální voda Rajec neperlivá byla před samotným stanovením zfiltrována na 0,45 μm filtru.

#### 4.3.4. Voda z Tatranského plesa

Odběr vzorku vody byl proveden v červenci 2007 v lokalitě Pleso nad Skokem, do tmavé lahve. Před samotným stanovením byl vzorek zfiltrován na 0,45 μm filtru.

Všechny vzorky vod byly vyhodnoceny metodou standardního přídávku. Po přidání standardu do vzorku byl ponechán roztok po dobu 24 hodin v klidu, aby proběhla dokonalá ekvilibrace.

### 4.4. Metodika vyhodnocení analytických výsledků

#### 4.4.1. Výpočet intervalů spolehlivosti z variačního rozpětí (Dean, Dixon) [46]

Pro malý počet paralelních stanovení patří v analytické praxi mezi nejlépe osvědčené metody určení intervalů spolehlivosti z rozpětí výsledků. Výpočet se provádí dle vztahu 1:

$$L_{1;2} = \bar{x} \pm K_n \cdot R \quad (1)$$

kde R je rozpětí výsledků ( $R = x_n - x_1$ ) a hodnotu  $K_n$  pro koeficient spolehlivosti ( $1 - \alpha$ ) = 0,95 nebo 0,99 najdeme v tabulce č. 2.

Tab. 2. Tabulka hodnot koeficientu  $K_n$  pro výpočet intervalu spolehlivosti z rozpětí, přičemž  $n$  udává počet měření.

n	(1 - $\alpha$ )	
	0,95	0,99
2	6,4	31,8
3	1,3	3,01
4	0,92	1,32
5	0,51	0,84
6	0,40	0,63
7	0,33	0,51
8	0,29	0,43
9	0,26	0,37
10	0,23	0,33

Tento výpočet intervalů spolehlivosti byl použit pro výpočet chybových úseček jednotlivých bodů kalibračních závislostí.

#### 4.4.2. Kalibrace a charakteristiky metody

Analyzované ekvidistantní kalibrační roztoky byla zpracovány lineární regresní analýzou, z níž byly získány hodnoty koeficientů  $a$  a  $b$  kalibrační funkce, která popisuje lineární korelaci mezi koncentrací  $x$  jako nezávisle proměnnou a naměřenou hodnotu  $y$  jako závisle proměnnou. Lineární kalibrační funkce je vyjádřena rovnicí:

$$y = a + bx \quad (2)$$

Tato rovnice vyjadřuje odhad skutečné funkce, která je omezena nevyhnutelným rozptýlením hodnot. Shoda odhadu s daty je číselně vyjádřena hodnotou reziduální směrodatné odchylky  $s_y$ , která je mírou rozptýlení informačních hodnot kolem kalibrační přímky.

#### 4.4.3. Posouzení kalibrace [27]

Hodnota koncentrace v analyzovaném vzorku se získá z naměřené hodnoty  $y$  podle:

$$\hat{x} = \frac{y - a}{b} \quad (3)$$

nebo z hodnoty průměru řady opakování  $\bar{y}$  naměřené se stejným původním vzorkem podle:

$$\hat{\bar{x}} = \frac{\bar{y} - a}{b} \quad (4)$$

Ze zákona o rozdělení chyb vyplývá, že pro každou hodnotu  $x$  existuje interval spolehlivosti (konfidenční interval) pokrývající skutečnou hodnotu  $y$ . Krajní body tohoto intervalu leží na dvou hyperbolických obloucích (meze intervalu spolehlivosti) mezi nimiž lze očekávat skutečnou kalibrační funkci pro úroveň významnosti  $\alpha$ , která se určí pomocí kvantilu  $t$ -rozdělení podle Studenta.

Horní mez intervalu spolehlivosti:

$$ULC = \frac{y-b}{a} + \left( \frac{s_{y1} \cdot t}{b} \cdot \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y-\bar{y})}{b^2 \cdot \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \right) \quad (5)$$

kde t je kvantil, t-rozdělení podle Studenta.

Dolní mez intervalu spolehlivosti:

$$LCL = \frac{y-b}{a} - \left( \frac{s_{y1} \cdot t}{b} \cdot \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y-\bar{y})}{b^2 \cdot \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \right) \quad (6)$$

#### 4.4.4. Výpočet mezí detekce z kalibrační křivky [26]

Při běžně používaných způsobech určení detekčního limitu metody většinou ignorují závislost odezvy měřicího přístroje na koncentraci analytu ve vzorku. Základním předpokladem popisované metody je lineární odezva měřicího přístroje až k nulové koncentraci analytu v měřeném vzorku. Vzhledem k tomu, že tento předpoklad nemusí být vždy zcela splněn, je třeba změřit odezvu ve vzorcích s tak nízkou koncentrací, jak jen to je možné (pro zajištění dostatečné věrohodnosti výsledků).

Detekční limit metody  $X_D$  představuje koncentraci analytu, jež nemůže být statisticky rozlišena od koncentrace nulové. S využitím výše uvedených statistických výpočtů lze  $X_D$  nalézt jako koncentraci, jejíž dolní mez intervalu spolehlivosti na dané hladině statistické významnosti je právě rovna nule. Takto nalezený detekční limit (včetně příslušných mezí intervalu spolehlivosti) chrání před chybou prvního druhu. Přijetí hypotézy, že analyt je přítomen, když ve skutečnosti přítomen není. Bývá označován jako  $X_D^\alpha$ .

$$LLCI(X_D^\alpha) = 0 = X_D^\alpha - \left( \frac{s_{y1} \cdot t}{b} \cdot \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y-\bar{y})}{b^2 \cdot \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \right) \quad (7)$$

Ochranu před chybou druhého druhu (přijetí hypotézy, že analyt je nepřítomen, když je skutečnosti přítomen je) poskytuje detekční limit metody označovaný jako  $X_D^\beta$ , pro něhož platí, že jeho dolní mez intervalu spolehlivosti je totožná s horní mezí intervalu spolehlivosti  $X_D^\alpha$  a jeho výpočet také nečiní žádnou potíže.

$$DMIS(X_D^\beta) = ULCI(X_D^\alpha) = X_D^\alpha + \left( \frac{s_{y1} \cdot t}{b} \cdot \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y-\bar{y})}{b^2 \cdot \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \right) \quad (8)$$

Hodnoty detekčních limitů  $X_D^\alpha$  a  $X_D^\beta$  byly nalezeny z těchto rovnic pomocí funkce hledání řešení v programu Microsoft Excel.

#### 4.4.5. Mez detekce[30]

Je definována jako absolutní množství nebo koncentrace analytu, které poskytuje signál rovný trojnásobku směrodatné odchylky signálu pozadí [30]. Je vyjádřena vztahem 9:

$$m.d. = \frac{3 \cdot s_{BL}}{S} \quad (9)$$

kde, S je citlivost (směrnice kalibrační křivky) a  $s_{BL}$  je směrodatná odchylka signálu slepého pokusu.

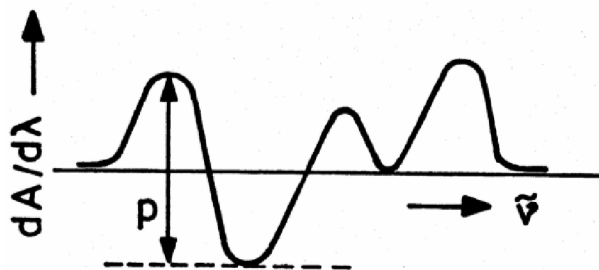
Mez detekce byla získána desetinásobným proměřením signálu slepého pokusu a vypočtena dle rovnice 9. Tato mez detekce je označována jako  $X_b$ .

#### 4.4.6. Vyhodnocení prvních derivací kalibračních spekter [21, 22]

Derivace spekter umožňuje rozlišit překrývající absorpční maxima ve složitějších spektrech, určit přesnější polohu absorpčního maxima analytu, stanovit příměs nebo minoritní koncentraci analytu na intenzivně absorbujícím pozadí, eliminovat vliv pozadí, difúzního rozptylu u koloidních roztoků.

Derivační spektra byla vypočtena použitím softwaru přístroje na bázi Golay-Savitzky jedenácti bodové konvoluce. Vypočtená spektra byla vyhodnocena metodou peak to peak, jak je znázorněno na obrázku 19.

Statistické vyhodnocení derivačních spekter bylo stejné jako vyhodnocení spekter normálních.



Obr. 19: Metoda peak to peak pro vyhodnocení derivačních spekter

#### 4.4.7. Vyhodnocení kalibračních křivek pro vody

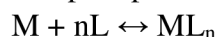
Vyhodnocení standardních přídavek bylo možné přímo z kalibračních křivek vod a roztoků. Hodnoty fluorescence v těchto kalibračních křivkách je také možno přepočítat na teoretické hodnoty pro destilovanou vodu podle jednoduchého vztahu:

$$F = \frac{b_0}{b_n} \cdot F' \quad (10)$$

kde  $b_0$  a  $b_n$  jsou směrnice pro destilovanou vodu a analyzovanou vodu a  $F'$  jsou naměřené hodnoty fluorescence pro analyzovanou vodu.

#### 4.4.8. Metoda kontinuálních variací [21,28,29]

Tato metoda se využívá pro zjištění molárního poměru složek v komplexu, vzniká-li komplex podle schématu :



Principem této metody je míchání ekvimolárních roztoků kationtu M a ligandu L, tak aby celková koncentrace  $C_0 = C_M + C_L$  zůstala konstantní, naproti tomu dochází ke změně molárního zlomku  $x_M$ . Zjednodušeně řečeno, mísí se různé objemy ekvimolárních roztoků kationtu M a ligandu L tak, aby jejich celkový objem a tím i celková koncentrace byly konstantní.

Základní vztahy jsou:

$$[M]_0 = c_0(1 - x_L) - [ML_n] \quad (11)$$

$$[L]_0 = c_0 \cdot x_L - n[ML_n] \quad (12)$$

$$\beta_n = \frac{[ML_n]}{[M]_0 \cdot [L]_0^n} \quad (13)$$

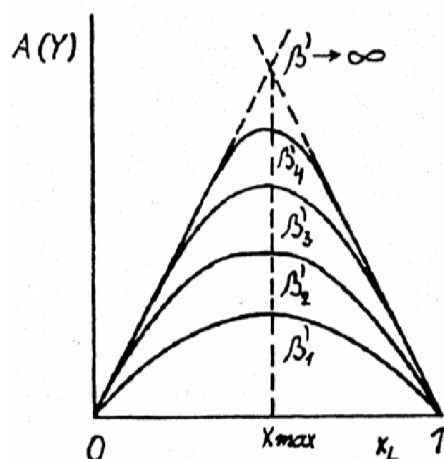
Derivací rovnic (11, 12 a 13) podle  $x_L$  a zavedením podmínek pro maximum  $d[ML_n]/dx_L = 0$  dostaneme rovnici (14).

$$n - x_{\max}(1 + n) = 0 \quad (14)$$

ze které po úpravě dostaneme rovnici (15)

$$n = \frac{x_{\max}}{1 - x_{\max}} \quad (15)$$

ze které vypočteme  $n$ , jestliže je  $n$  rovno jedné. Vznikající komplex se tvoří v poměru složek 1:1, je-li hodnota rovna číslu 0,75 je vznikající komplex v poměru 1:2 atd. Obecně řečeno, maximum závislosti ( $x_{\max}$ ),  $[ML_n] = f(x_L)$  udává souřadnice molárního poměru složek v komplexu.



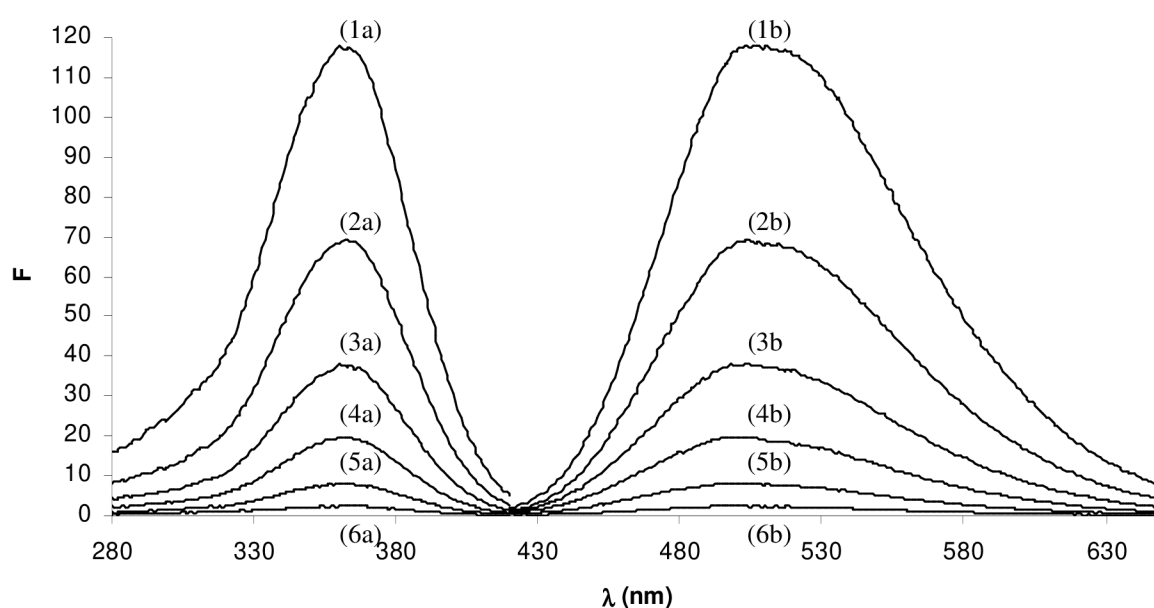
Obr. 20: Tvar variačních křivek pro komplexy 1:1, pro různé podmíněné konstanty stability.  $x_{\max}$  – maximum závislosti  $[ML_n] = f(x_L)$ ,  $\beta'_1 - \beta'_n$  – podmíněné konstanty stability.

## 5. VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1. Optimalizace reakce $\text{Sc}^{3+}$ s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou (8-HQS)

#### 5.1.1. Excitačně fluorescenční spektra

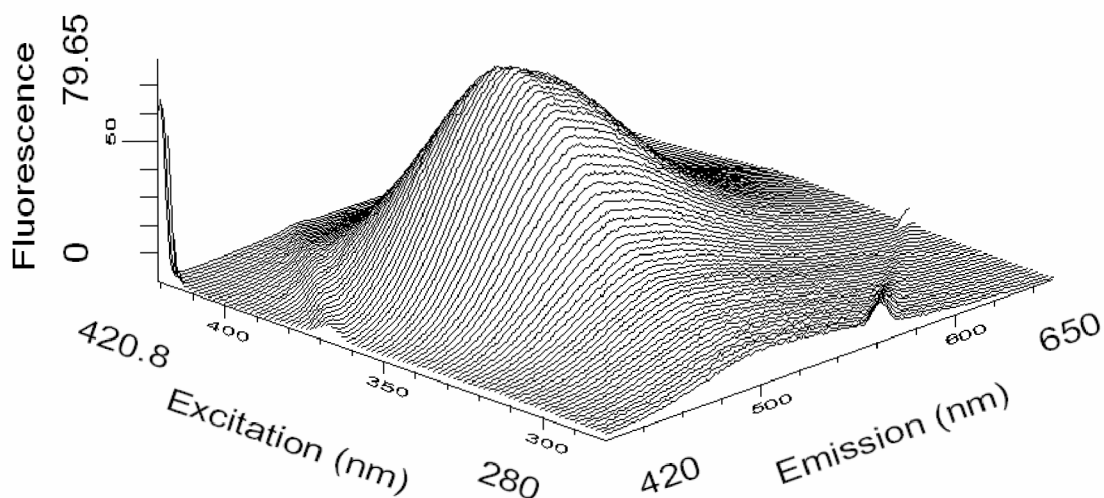
Při reakci  $\text{Sc}^{3+}$  s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou vzniká zeleně fluoreskující chelát při pH = 4,5 ve vodném prostředí. Excitační spektrum má maximum  $\lambda_{\text{ex(max)}} = 362 \text{ nm}$ . Maximum pro emisní křivku je při  $\lambda_{\text{em(max)}} = 503 \text{ nm}$ . Poloha maxim není ovlivněna koncentrací činidla. Fluorescence samotného činidla nebyla pozorována.



Obr. 21: Závislost fluorescence na koncentraci skandia. Zobrazena jsou excitační (a) a emisní (b) spektra komplexu Skandia v přítomnosti  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 730 \text{ V}$  při pH 4,5.

1 –  $1,6 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 2 –  $0,8 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 3 –  $0,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 4 –  $0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 5 –  $0,05 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 6 –  $0 \mu\text{g.ml}^{-1}$

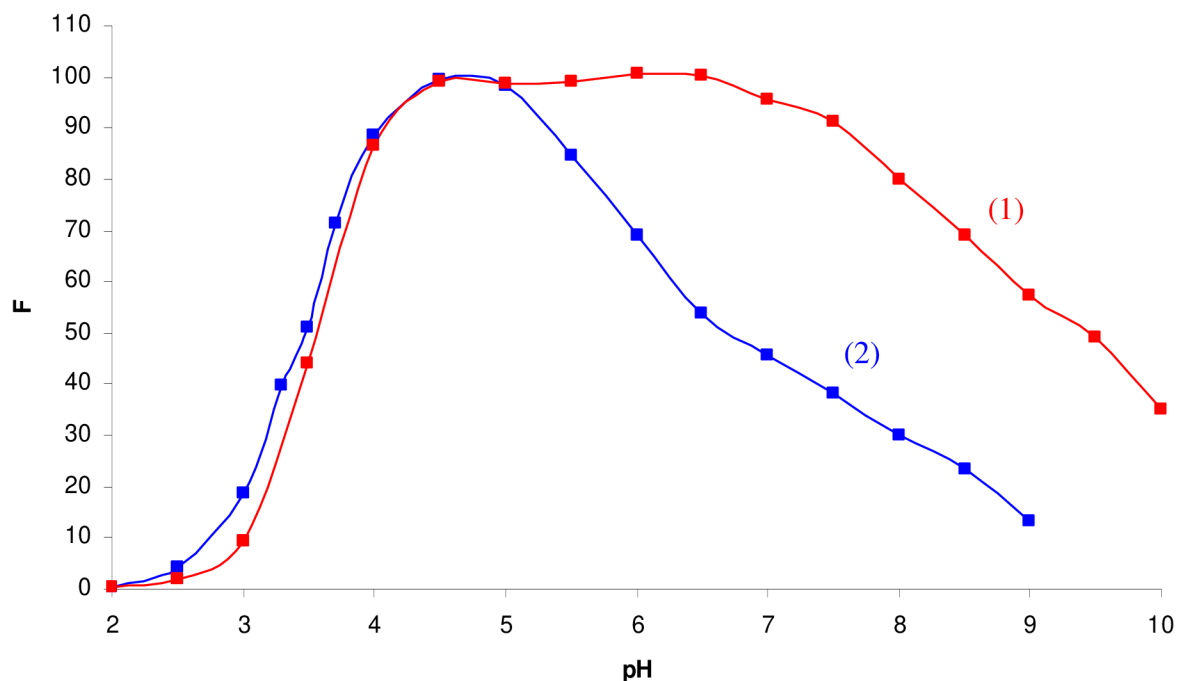
K vyhodnocení dalších vlivů byly použity pouze hodnoty maxima fluorescence při 503 nm. Na spektrofluorimetru byla také vždy nastavena excitační a emisní vlnová délka 362 nm a 503 nm. Pro veškerá stanovení byla vybraná hodnota koncentrace kovu z kalibrační křivky a to buď  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a nebo  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ).



Obr. 22: 3D excitačně-emisní spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 760 \text{ V}$  a při pH 4,5.

### 5.1.2. Vliv pH roztoku

Pro zjištění optimálního pH reakce  $\text{Sc}^{3+}$  s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou byla změřena fluorescence roztoků o stejné koncentraci  $\text{Sc}^{3+}$  ( $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ ) a stejné koncentraci činidla ( $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ). pH jednotlivých roztoků bylo upravováno pomocí různě zředěných roztoků hydroxidu sodného a kyseliny chlorovodíkové.



Obr. 23: Závislost maxima fluorescence komplexu na pH. (1)  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 730 \text{ V}$ , (2)  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $4,44 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 755 \text{ V}$ .

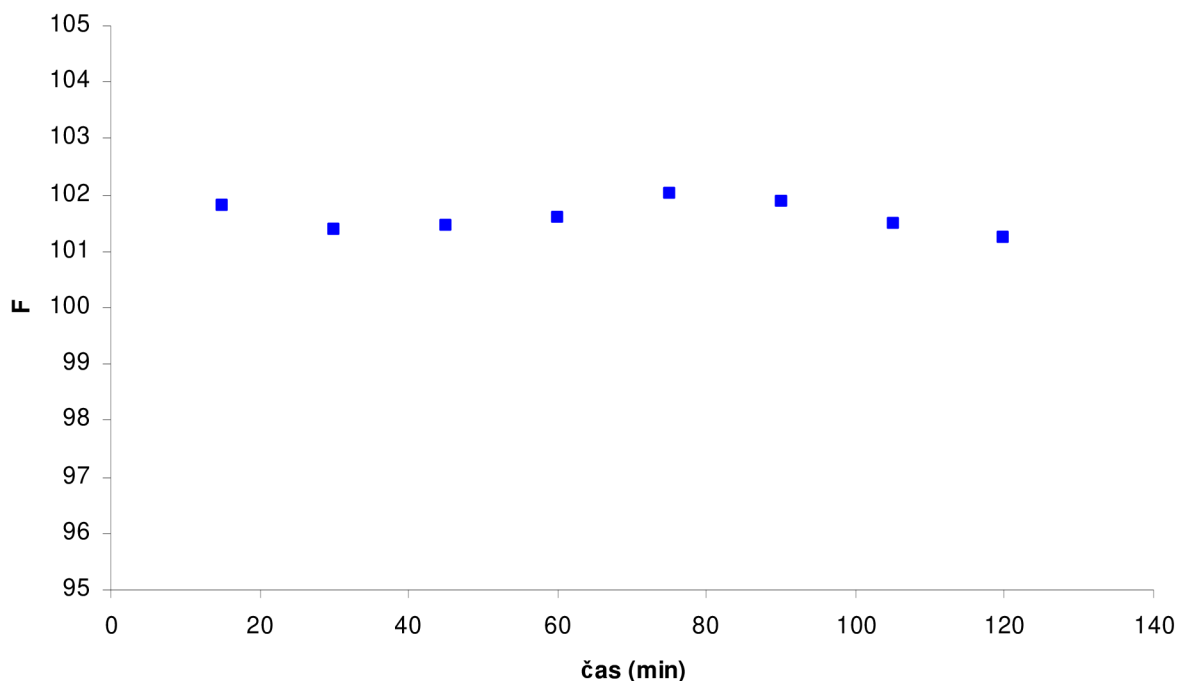
Z první křivky je patrné, že optimální pH při molárním 5násobku činidla vzhledem ke kovu je v rozmezí od pH 4,5 až po pH 6,5. Vzhledem k tomu, že by mohl vznikající komplex při  $\text{pH} > 7$  hydrolyzovat, bylo zvoleno optimální pH v kyselejší oblasti.

Pro kontrolu byla sestrojena ještě druhá křivka, z níž vyplývá, že při molárním 20násobku činidla vzhledem ke kovu, je optimální pH 4,5. Vzhledem k naměřeným závislostem, byla optimální hodnota pH zvolena 4,5, ta byla použita ve všech ostatních proměřovaných roztocích.

### 5.1.3. Závislost fluorescence komplexu na čase

Byl připraven roztok o koncentraci  $\text{Sc}^{3+}$   $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a pětinašobném molárním nadbytku činidla o  $\text{pH} = 4,5$ . Fluorescence roztoku byla proměřována po dobu 2 hodin v intervalu 15 minut.

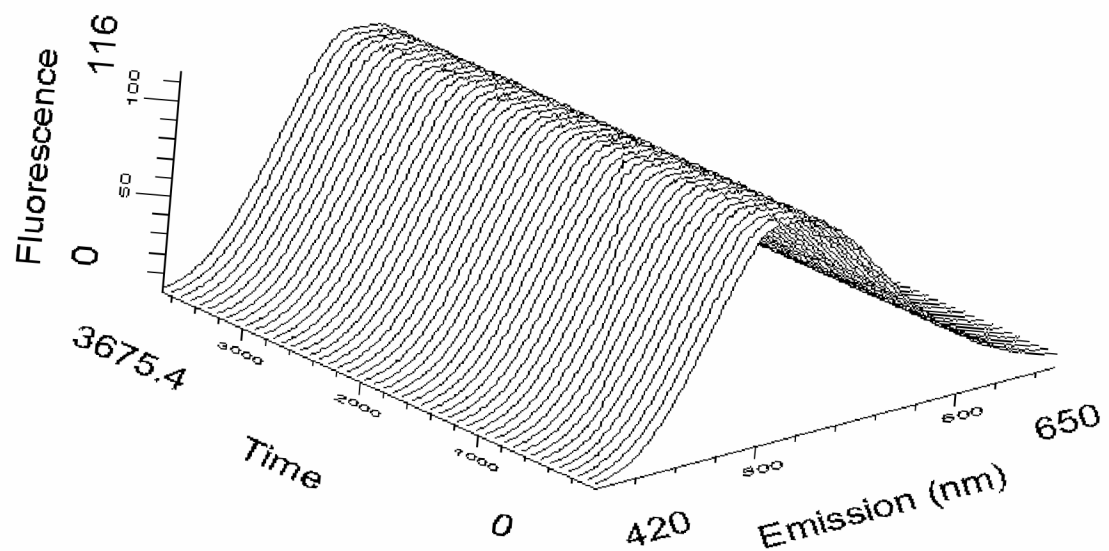




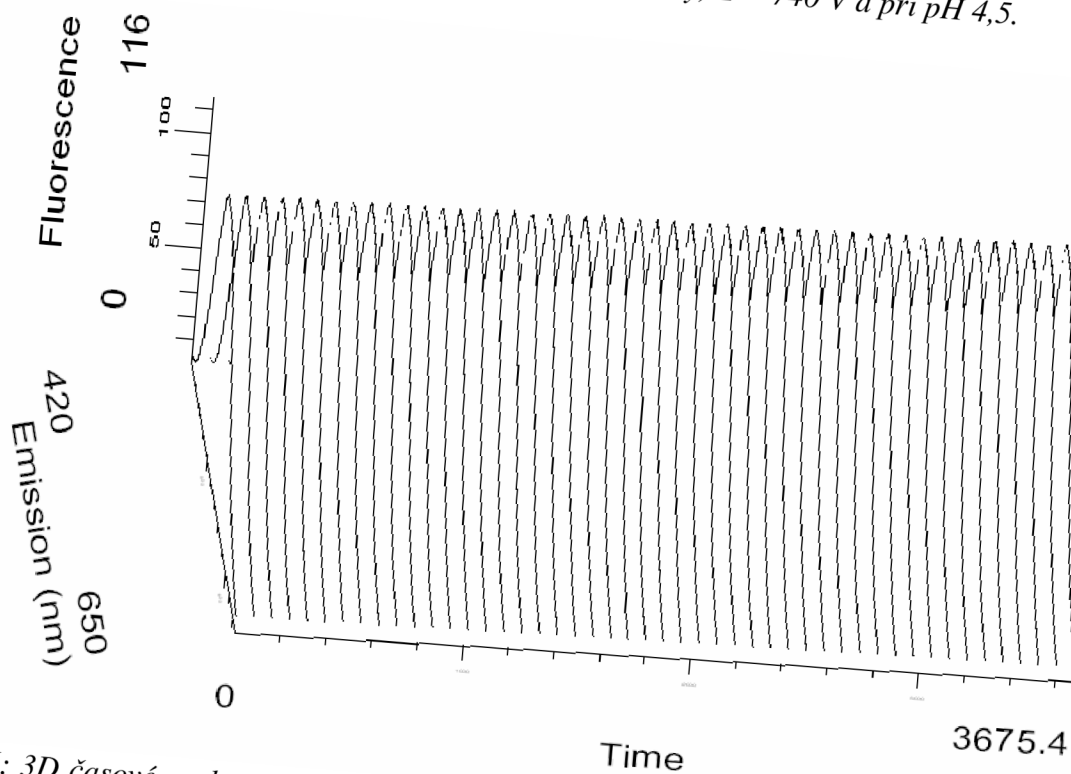
Obr. 24: Časová závislost fluorescence komplexu  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 730 \text{ V}$  a při  $\text{pH } 4,5$ .

Během doby, po kterou byla fluorescence komplexu sledována, nebyl zaznamenán žádný výrazný pokles intenzity fluorescence. Komplex je hned po namíchání stabilní a jeho stabilita se téměř nemění po dobu dvou hodin. Všechny vzorky byly měřeny až po dvou hodinách. Doba potřebná k přípravě jedné sady roztoků vzorků je zhruba 2 hodiny, proto byly roztoky měřeny po uplynutí této doby.

Dále bylo proměřeno i 3D časové spektrum tohoto komplexu. Měření probíhalo přibližně hodinu, přičemž jednotlivá spektra byla měřena po 78 vteřinách.



Obr. 25: 3D časové spektrum komplexu pro  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 740 \text{ V}$  a při pH 4,5.



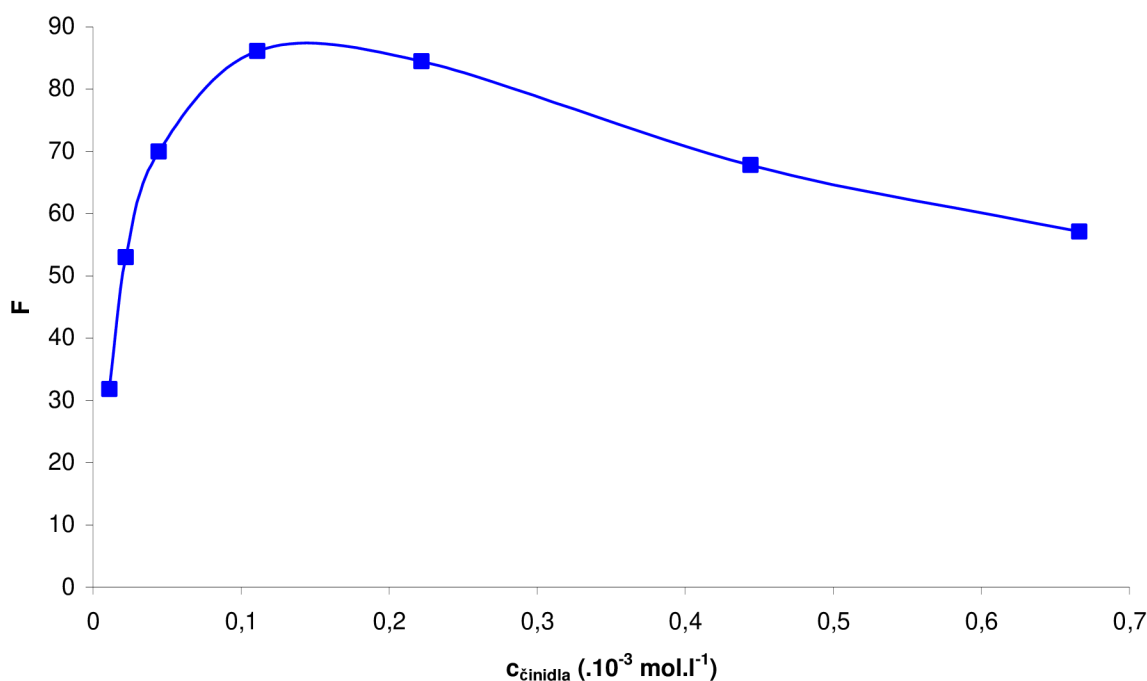
Obr. 26: 3D časové spektrum komplexu  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 740 \text{ V}$  a při pH 4,5. Obrázek odpovídá obr. 25 je snímán z jiné perspektivy.

#### 5.1.4. Vliv koncentrace činidla

Pro zjištění optimálního nadbytku činidla pro tvorbu chelátu byla proměřena fluorescence  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny v rozmezí 0,5 až 30 násobném molárním nadbytku.

Tab. 3: Poměr molárních koncentrací činidla ke  $\text{Sc}^{3+}$  je uveden v následující tabulce.

poměr	cčinidla ( $\text{mol.l}^{-1}$ )
1 : 0,5	$1,11 \cdot 10^{-5}$
1 : 1	$2,22 \cdot 10^{-5}$
1 : 2	$4,44 \cdot 10^{-5}$
1 : 5	$1,11 \cdot 10^{-4}$
1 : 10	$2,22 \cdot 10^{-4}$
1 : 20	$4,44 \cdot 10^{-4}$
1 : 30	$6,66 \cdot 10^{-4}$



Obr. 27: Vliv koncentrace činidla na fluorescenci chelátu  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  až  $6,66 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové při pH 4,5 a  $E = 730 \text{ V}$ .

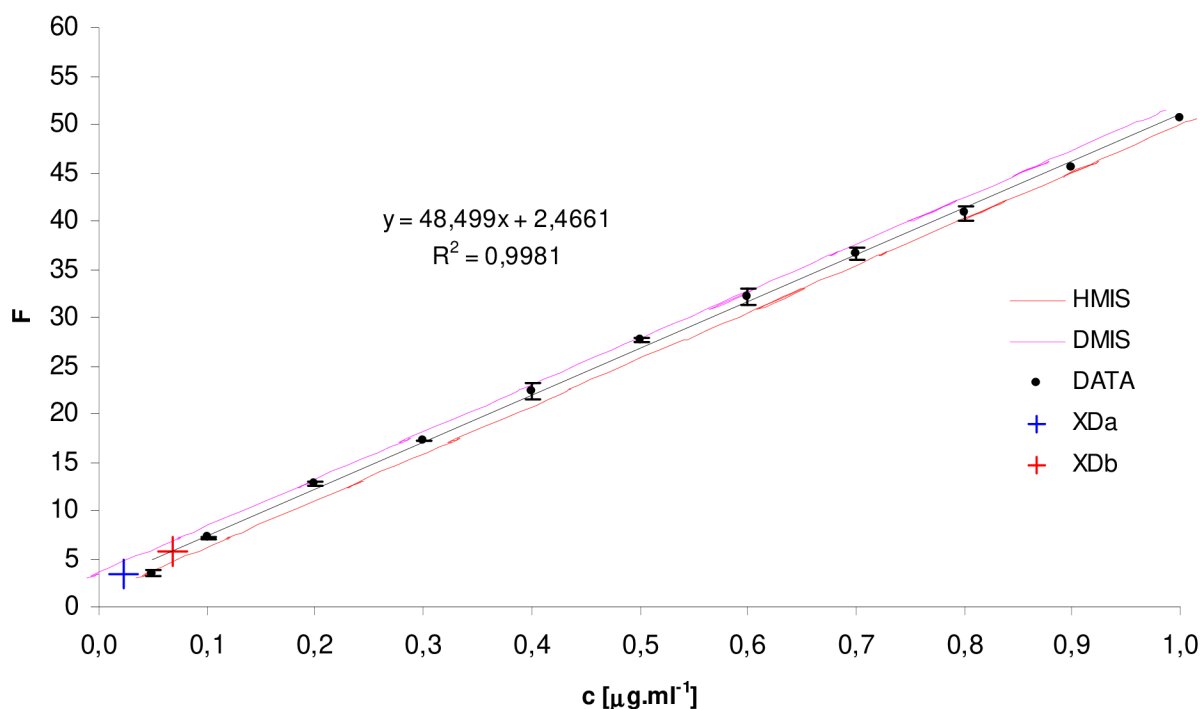
Z obrázku je patrné, že nejvyšší fluorescenci má chelát v přítomnosti 5násobného až 10 násobného molárního nadbytku činidla pro koncentraci kovu  $2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $1 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ).

Při větším molárním nadbytku činidla se objevuje samozhášení fluorescence samotným činidlem.

Proto byla zvolena pro všechna následující měření koncentrace činidla odpovídající 5násobnému molárnímu nadbytku vzhledem ke koncentraci kovu.

### 5.1.5. Základní kalibrační závislost

Studium kalibrační funkce bylo prováděno pro rozsah koncentrací  $Sc^{3+}$  od 0,1 – 1  $\mu g \cdot ml^{-1}$ , změřená závislost byla lineární. Koncentrace činidla byla konstantní a byla stanovena jako 5molární násobek nejvyšší koncentrace kovu v kalibrační křivce.



Obr. 28: Kalibrační závislost  $Sc^{3+}$  pro koncentrace 0,1 – 1  $\mu g \cdot ml^{-1}$  s intervaly spolehlivosti. Koncentrace kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové  $1,11 \cdot 10^{-4} mol \cdot l^{-1}$  při pH 4,5 a  $E = 700 V$ .

Tab. 4: Teoretická kalibrační závislost

	regresní rovnice	detekční limit podle IUPAC ( $\mu g \cdot ml^{-1}$ )	detekční limity podle Grahama ( $\mu g \cdot ml^{-1}$ )
kalibrační závislost	$y = 48,499x + 2,4661$	$X_b = 0,005$	$X_D^\alpha = 0,02$ $X_D^\beta = 0,07$

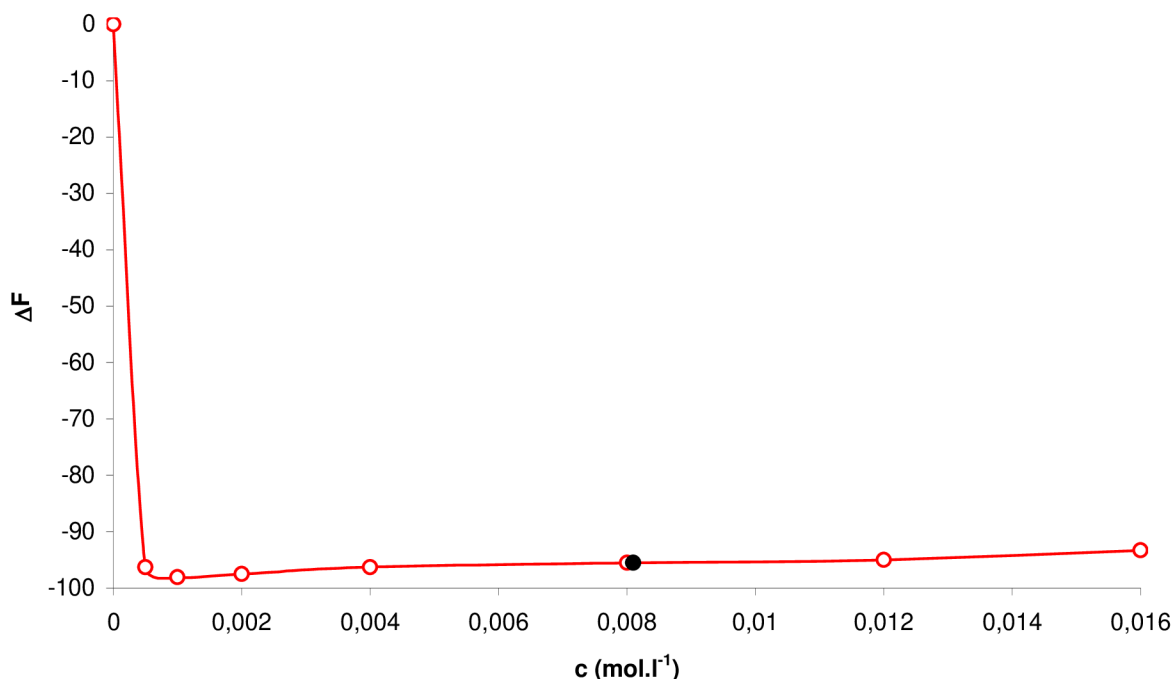
### 5.1.6. Vliv tenzidů

Tenzidy různé struktury různě ovlivňují fluorescenci sloučenin i komplexů kovů s organickými činidly.

Byla proměřena fluorescence o koncentraci  $Sc^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} mol \cdot l^{-1}$  ( $0,5 \mu g \cdot ml^{-1}$ ) a činidla  $1,11 \cdot 10^{-4} mol \cdot l^{-1}$  v závislosti na měnící se koncentraci kationtových, aniontových a neiontových tenzidů. Volba koncentračního rozsahu jednotlivých tenzidů byla zvolena vzhledem k jejich kritické micelární koncentraci (CMC) tak, aby bylo možné posoudit vliv jak podkritické tak i kritické a micelární koncentrace daného tenzidu.

#### 5.1.6.1. Vliv aniontových tenzidů

Byl studován vliv aniontového tenzidu dodecylsulfátu sodného ( $CMC = 8,1 \cdot 10^{-3} mol \cdot l^{-1}$ ) do koncentrace  $0,016 mol \cdot l^{-1}$ .



Obr. 29: Závislost fluorescence chelátu  $Sc^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové na koncentraci aniontového tenzidu dodecylsulfátu sodného při pH 4,5 a  $E = 870$  V. Černým plným bodem je označena kritická micelární koncentrace.

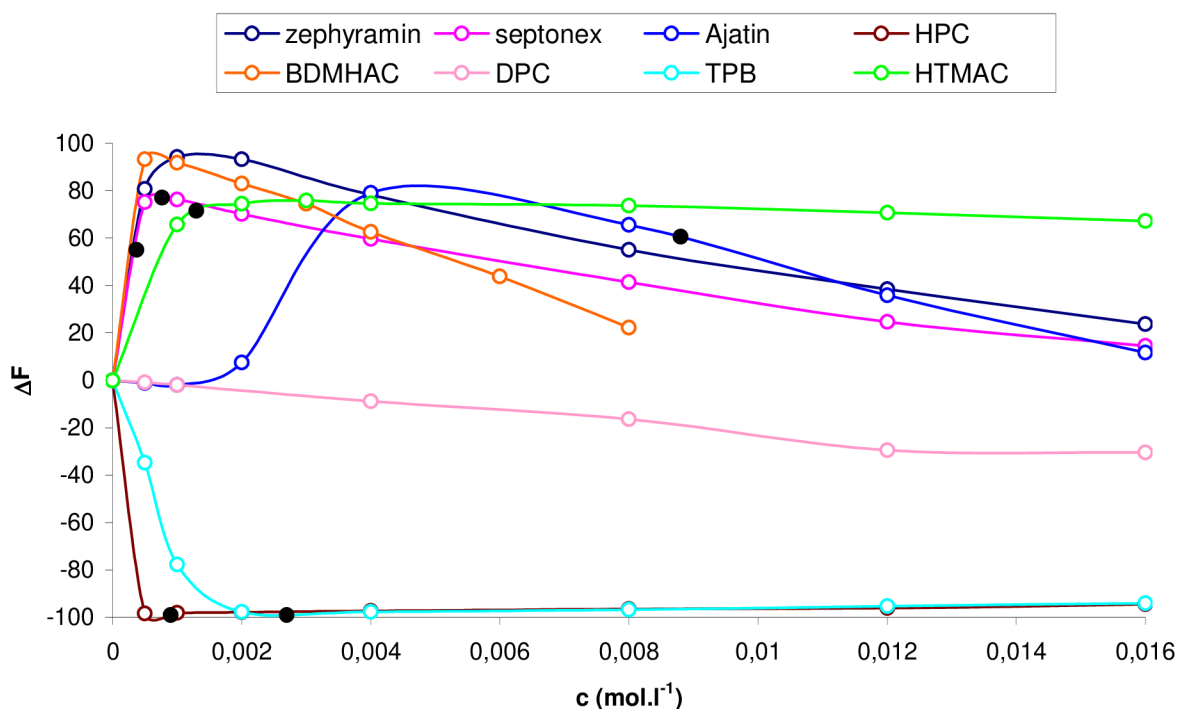
Aniontový tenzid ovlivňuje již v submicelární koncentraci fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou výrazně negativně. Už po přidání nepatrného množství dodecylsulfátu sodného je takřka všechna fluorescence zhašena a při dalším přidávání tenzidu už zůstává na velice nízkých hodnotách. Z obrázku je patrné, že v tomto případě kritická micelární koncentrace tenzidu nehraje žádnou roli.

#### 5.1.6.2. Vliv kationtových tenzidů

Dále byl podrobněji studován vliv kationtových tenzidů. Jednalo se o ajatin (benzyl-dodecyldimethylammonium bromid), zephyramin (benzyl-dimethyltetradecylammonium chlorid), septonex (1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylammonium bromid), benzyl-dimethylhexadecylammonium chlorid (BDMHAC), hexadecyltrimethylammonium chlorid (HTMAC), decylpyridinium chlorid (DPC), tetradecylpyridinium bromid (TPB) a hexadecylpyridinium chlorid (HPC).

Tab. 5: Kritické micelární koncentrace použitých kationtových tenzidů

Tenzid	CMC(mol.l <sup>-1</sup> )
Zephyramin	0,00037
Septonex	0,00077
Ajatin	0,0088
HPC	0,0009
TPB	0,0027
HTMAC	0,0013



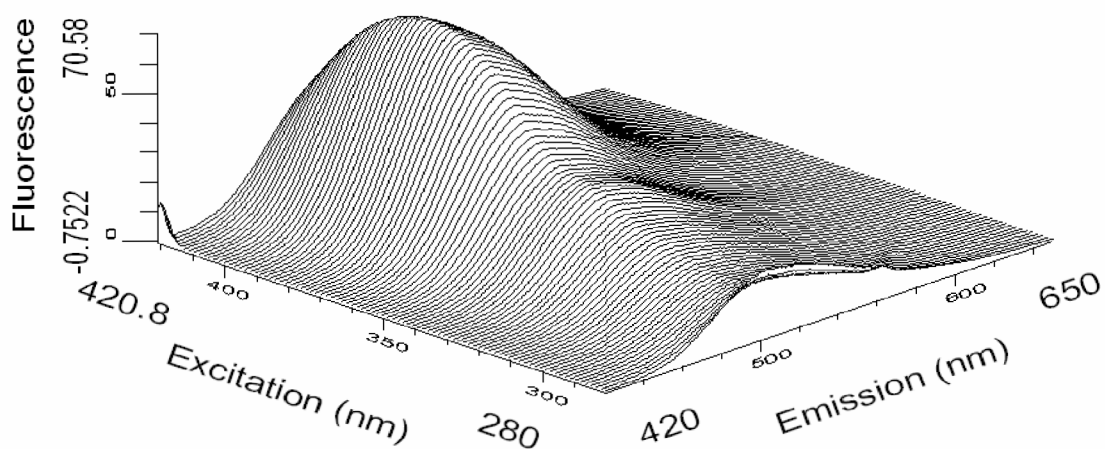
Obr. 30: Vliv různých kationtových tenzidů na komplex  $Sc^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové při pH 4,5. Ajatin, zephyramin, septonex, benzyldimethylhexadecylammonium chlorid (BDMHAC), hexadecyltrimethylammonium chlorid (HTMAC), decylpyridinium chlorid (DPC), tetradecylpyridinium bromid (TPB) a hexadecylpyridinium chlorid (HPC). Černými plnými body jsou vyznačeny kritické micelární koncentrace příslušného tenzidu.

Z obr. 30 vyplývá, že kationtové tenzidy ovlivňují fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou ve většině případech výrazně pozitivně. Dochází k bathochromnímu posunu excitačního maxima o 25 nm (excitace byla proto prováděna při vlnové délce 387 nm), u emisního maxima se žádný posun neprojevil ( $\lambda_{em} = 503$  nm) pouze lehká deformace spektra. Nejvyšší fluorescence byla zaznamenána u zephyraminu, a proto byla pro tento tenzid zhotovena kalibrační závislost za stanovených podmínek. Největší efekt byl pozorován pro koncentraci tenzidu  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$ . Zhotovená kalibrační závislost má lineární průběh, přičemž směrnice kalibrační funkce se výrazně zvýšila, dokonce o 7,75krát vůči původní kalibraci bez přítomnosti tenzidu.

Byly zkoumány i tenzidy na bázi pyridinu. Z obr. 30 je patrné, že všechny tenzidy na bázi pyridinu, intenzitu fluorescence zhašejí. Byla však pozorována závislost na délce postranního řetězce této sloučeniny. Čím je postranní řetězec delší, tím více daný tenzid zhaší fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou.

#### **Emisní a excitační spektrum komplexu v přítomnosti zephyraminu**

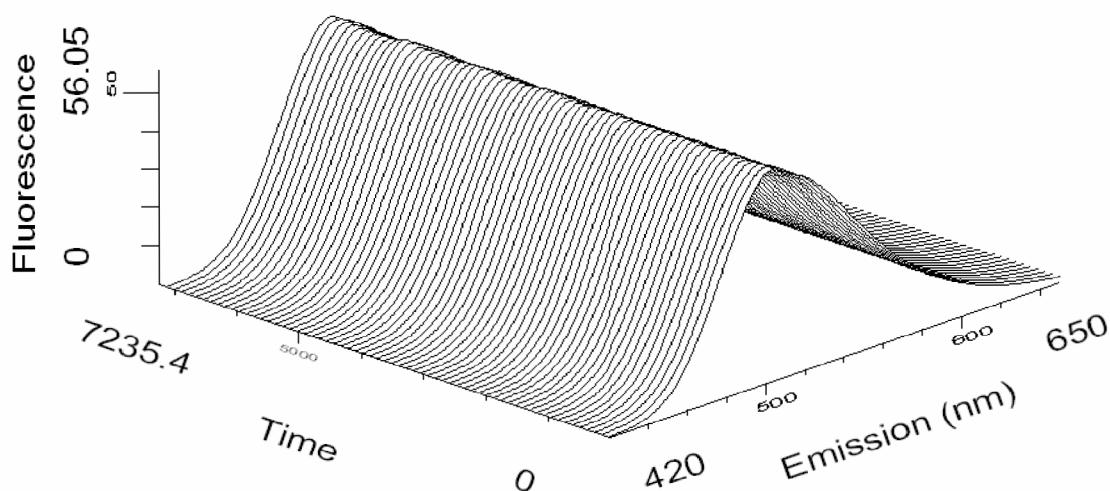
Byl připraven roztok o koncentraci  $Sc^{3+} 1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a desetinásobném molárním množství činidla, v přítomnosti konstantní koncentrace  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu a o pH = 4,5.



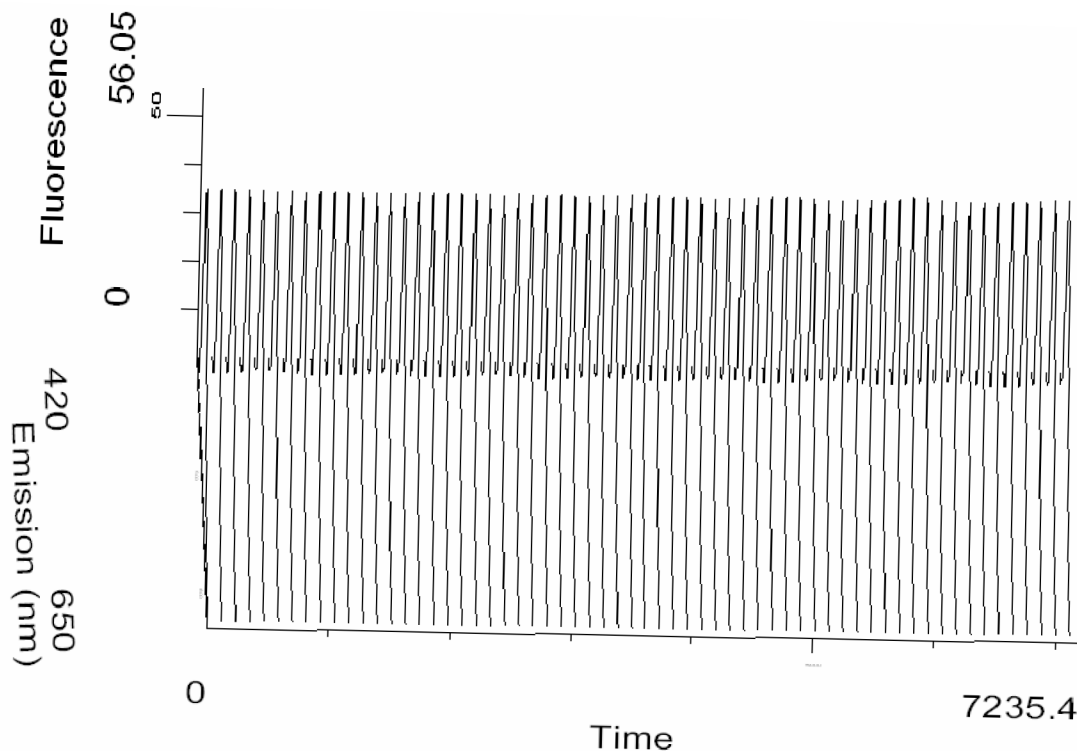
Obr. 31: 3D excitačně-emisní spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ }\mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny v přítomnosti  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu,  $E = 625 \text{ V}$  a při pH 4,5.

#### Časová závislost komplexu se zephyraminem

Byl připraven roztok o koncentraci  $\text{Sc}^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ }\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a desetinásobném molárním nadbytku činidla a konstantní koncentraci  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu při pH = 4,5. Fluorescence roztoku byla proměřována po dobu 2 hodin v intervalu přibližně 2 minut.



Obr. 32: 3D časové spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ }\mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny v přítomnosti  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu,  $E = 610 \text{ V}$  a při pH 4,5.



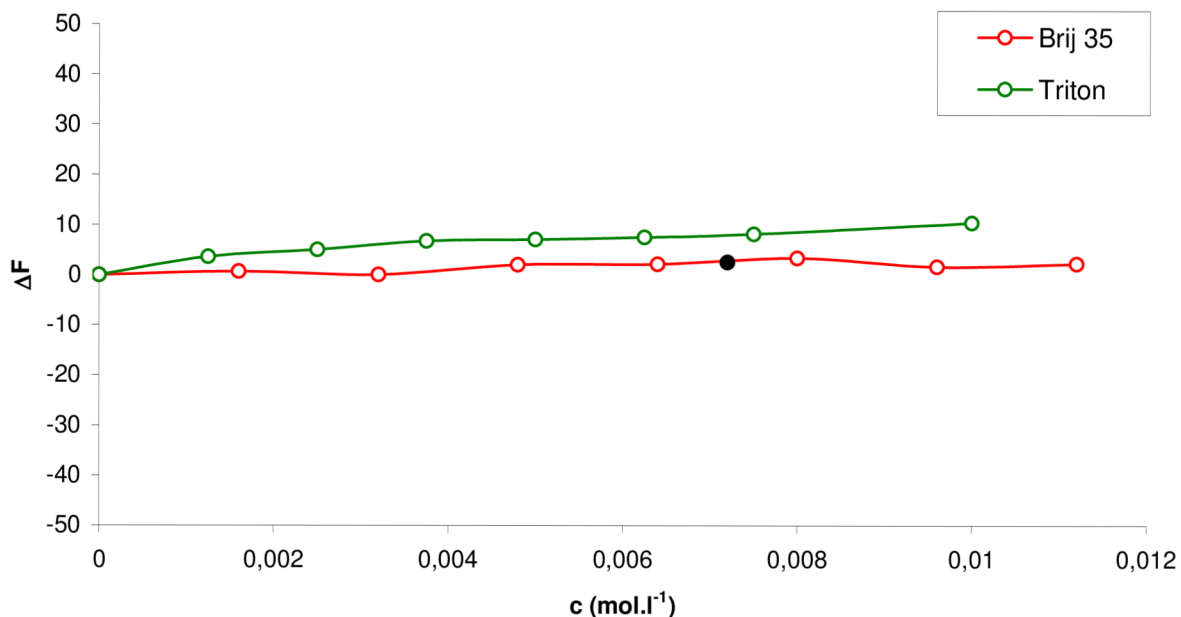
Obr. 33: 3D časové spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ }\mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny v přítomnosti  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu,  $E = 610 \text{ V}$  a při pH 4,5. Obrázek stejný jako obr. 32 pouze z jiné perspektivy.

Fluorescence komplexu je konstantní hned po namíchání roztoku a stálá minimálně po dobu dvou hodin. Jestliže je vzorek neustále ozařován dochází k zanedbatelnému nárůstu fluorescence o 1 %. U roztoku, který byl po dobu dvou hodin uchovávan ve tmě, došlo taktéž jen k minimální změně, fluorescence komplexu se zvýšila o 2,7 %. V následujících měřeních byla fluorescence měřena vždy až po dvou hodinách.

### 5.1.6.3. Vliv neiontových tenzidů

Byl zkoumán i vliv neiontových tenzidů na fluorescenci komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou. Jako zástupci této skupiny, byly zvoleny Brij 35 (CMC =  $0,00009 \text{ mol.l}^{-1}$ ) a Triton X-100 (CMC =  $0,0003 \text{ mol.l}^{-1}$ ).

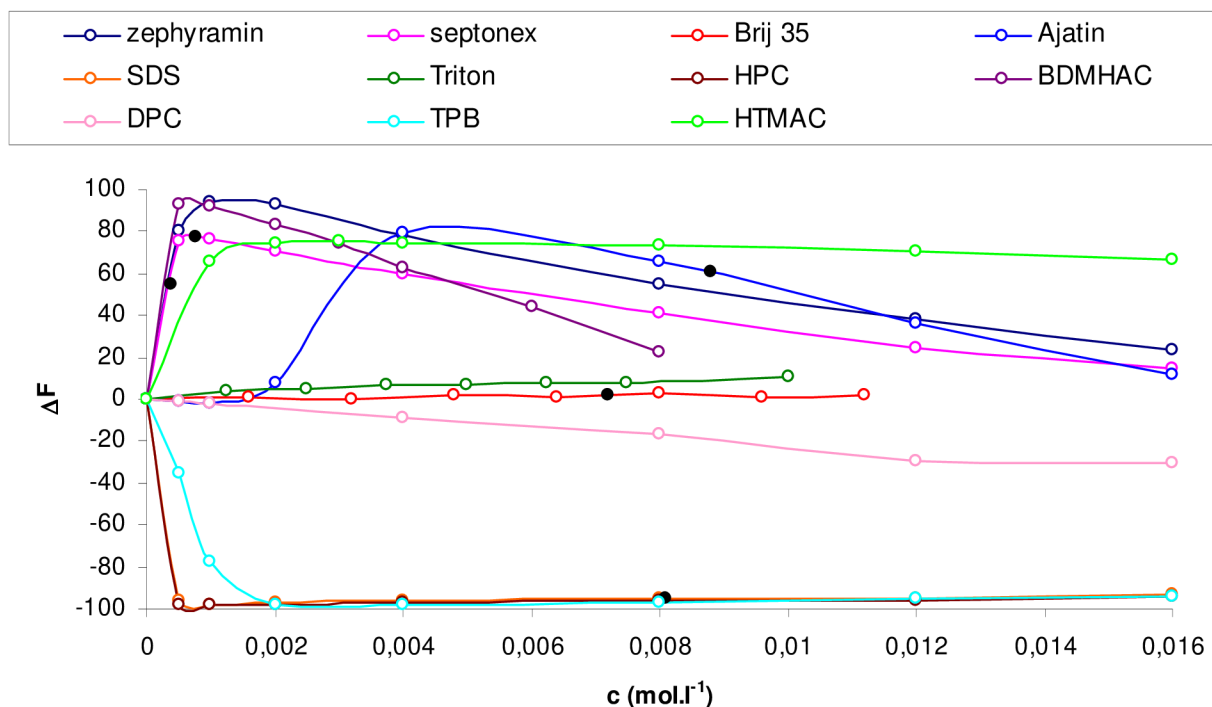




Obr. 34: Vliv neiontových tenzidů na komplex  $Sc^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové při pH 4,5. Koncentrace  $Sc^{3+}$  byla  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a koncentrace činidla  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Černým plným bodem je označena kritická micelární koncentrace. Brij 35 –  $c \cdot 80$  ( $\text{mol.l}^{-1}$ ); Triton X-100 –  $c / 4 \cdot 10^{-4}$  ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ).

Z obrázku vyplývá, že neiontové tenzidy fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou nijak výrazně neovlivňují. Lze vyčíst pouze zanedbatelný pozitivní vliv jak u Tritonu X-100 tak i u Brije 35. Neprojevilo se žádným způsobem ani vliv kritické micelární koncentrace.

Souhrn vlivů všech použitých tenzidů je na obr. 35.

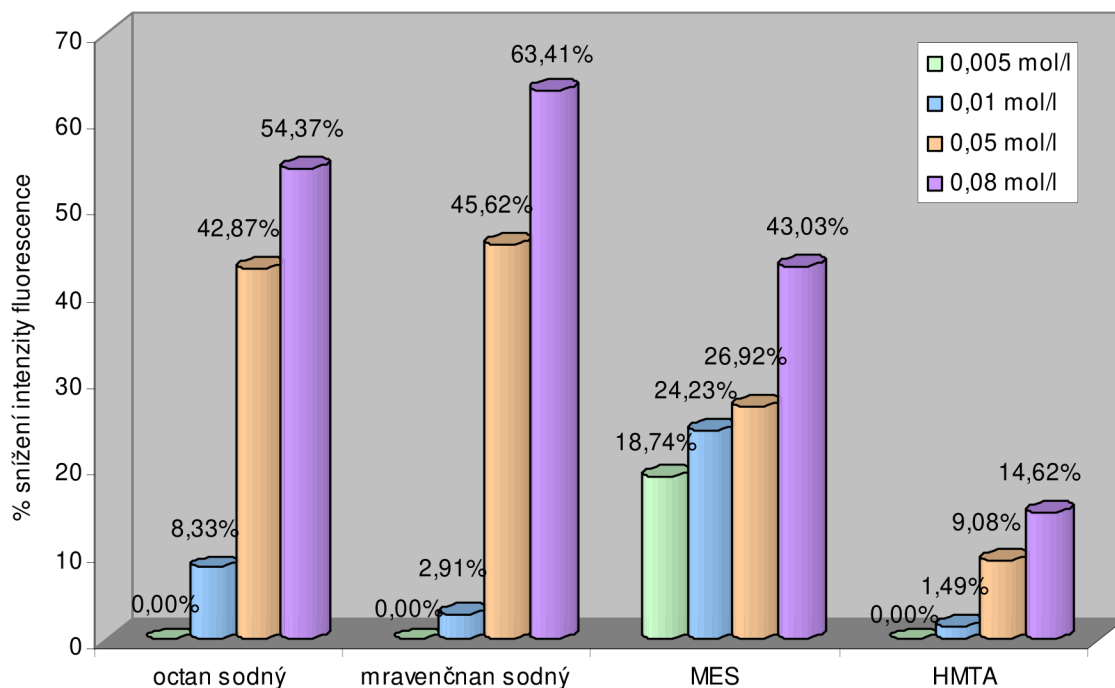


Obr. 35: Vliv tenzidů na fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou. Koncentrace  $Sc^{3+}$  byla  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a koncentrace činidla  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Septonex, Zephyramin, Ajatin, HTMAC (hexadecyltrimethylammonium chlorid), SDS (dodecylsulfát sodný), BDMHAC (benzyl dimethylhexadecylammonium chlorid), DPC (decylpyridinium chlorid), TPB (tetradecylpyridinium bromid), HPC (hexadecylpyridinium chlorid) – (mol/l); Brij 35 – c·80 (mol/l); Triton X-100 – c/  $4 \cdot 10^{-4}$  ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ).

Je zřejmé, že pro praxi jsou vhodné kationtové tenzidy, které fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou zvyšují (s výjimkou kationtových tenzidů obsahující pyridinovou strukturu). Aniontové tenzidy fluorescenci komplexu zhasí a neiontové tenzidy fluorescenci komplexu téměř nemění.

### 5.1.5. Vliv tlumičů

Pro optimální hodnoty pH 4,5, byly studovány vybrané tlumivé systémy pro rychlé nastavení pH. U všech zkoušených tlumivých systémů byl pozorován pokles intenzity fluorescence. Koncentrace nižší než  $0,005 \text{ mol.l}^{-1}$  tlumiče nebyla testována, vzhledem k velkému poklesu kapacity tlumiče.

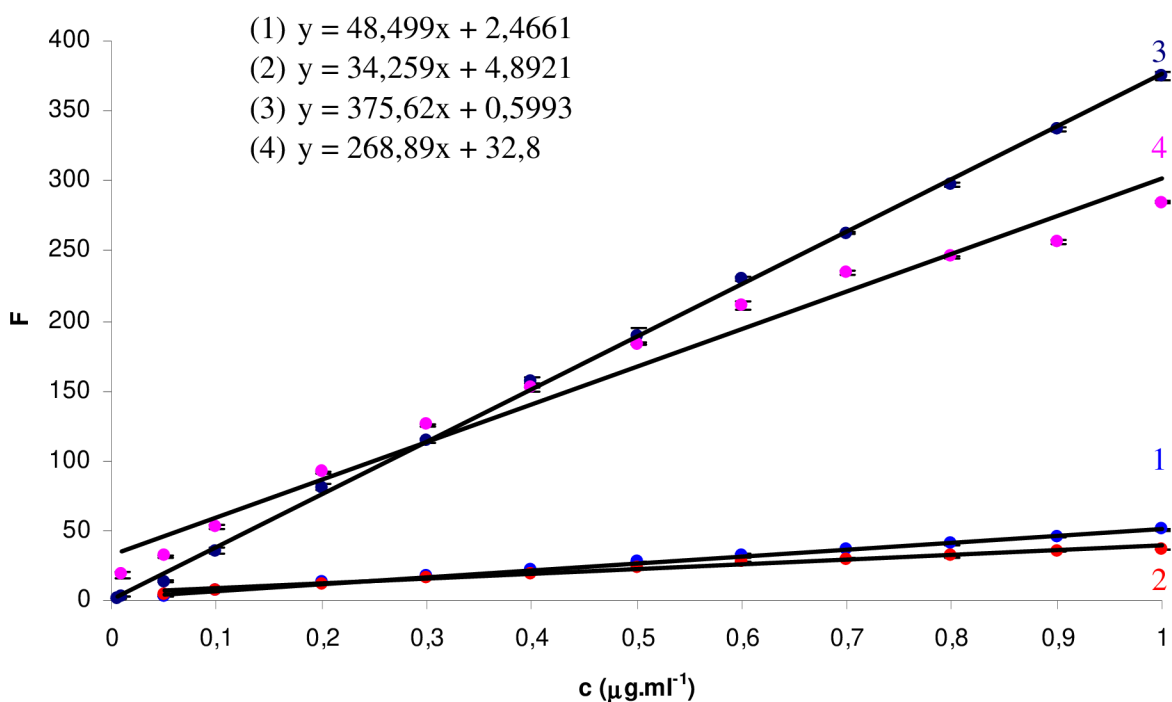


Obr. 36: Snížení intenzity fluorescence komplexu  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  ( $1,11\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny v přítomnosti  $0,005 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $0,08 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  tlumičů na bázi octanu, mravenčnanu, MES a hexamethylentetraminu.

Na obr. 36 je zaznamenáno o kolik procent klesla intenzita fluorescence komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou po přidání určitého množství tlumiče. Jako nejvhodnější tlumič se jeví hexamethylentetramin v koncentraci  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  pro nastavení optimálního  $\text{pH} = 4,5$ , při které dochází jen k 10 % poklesu intenzity fluorescence. Za těchto podmínek byla proměřena kalibrační závislost. Tato funkce je lineární, směrnice se však podstatně snižuje v porovnání se závislostí za stejných podmínek bez přítomnosti tlumiče. Proto byly k nastavování optimálního  $\text{pH} = 4,5$  roztoků používány dále zředěné roztoky kyseliny chlorovodíkové a roztoku hydroxidu sodného.

### 5.1.9. Porovnání kalibračních funkcí pro roztoky $\text{Sc}^{3+}$ s 8-HQS kyselinou za různých experimentálních podmínek

Studium kalibračních funkcí bylo prováděno pro rozsah koncentrací  $\text{Sc}^{3+}$  od  $0,1 - 1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , změřené závislosti byly lineární. Koncentrace činidla byla konstantní a byla stanovena jako 5molární násobek nejvyšší koncentrace kovu v kalibrační křivce.



Obr. 37: Kalibrační závislosti komplexu  $Sc^{3+}$  pro koncentrace  $0,1 - 1 \mu\text{g.ml}^{-1}$  a koncentraci činidla  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  při  $\text{pH} = 4,5$  a  $E = 700 \text{ V}$  (1) v nepřítomnosti zephyraminu i HTMA (hexamethylentetramin), (2) v nepřítomnosti zephyraminu a  $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$  HTMA, (3) v přítomnosti  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu a v nepřítomnosti HTMA, (4) v přítomnosti  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu a  $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$  HTMA.

Tab. 6: Regresní rovnice a detekční limity pro různé kalibrační funkce pro  $E = 700 \text{ V}$ .

kalibrační závislost	regresní rovnice	detekční limit podle IUPAC ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	detekční limity podle Grahama ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )
základní	$y = 48,499x + 2,4661$	$X_b = 0,005$	$X_D^\alpha = 0,02$ $X_D^\beta = 0,07$
základní v přítomnosti HTMA	$y = 34,259x + 4,8921$	$X_b = 0,009$	$X_D^\alpha = 0,06$ $X_D^\beta = 0,17$
základní v přítomnosti zephyraminu	$y = 375,62x + 0,5993$	$X_b = 0,0002$	$X_D^\alpha = 0,02$ $X_D^\beta = 0,06$
základní v přítomnosti zephyramina a HTMA	$y = 268,89x + 32,8$	$X_b = 0,001$	$X_D^\alpha = 0,07$ $X_D^\beta = 0,20$

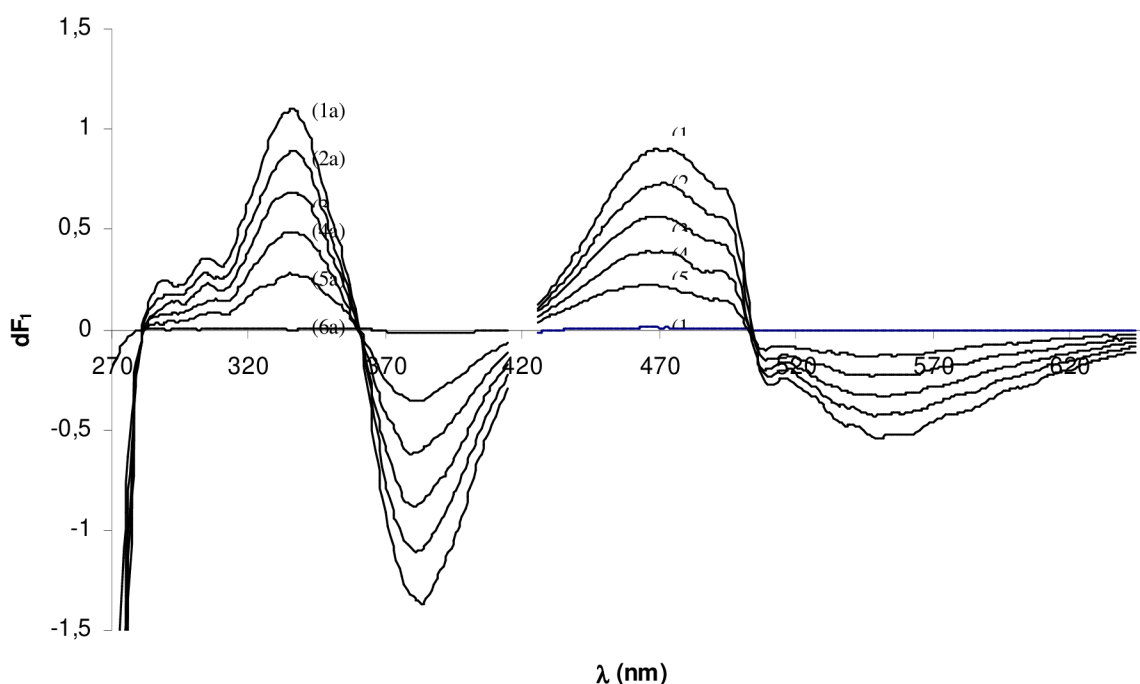
Z výše uvedené tabulky a obrázku je patrné, že intenzita fluorescence v přítomnosti zephyraminu významně vzroste. Směrnice kalibrační závislosti s tímto tenzidem je 7,75krát větší než kalibrační funkce bez tenzidu, z toho plynou i výrazně nižší detekční limity.

Pro aplikaci v praxi je uvedena i kalibrační závislost v přítomnosti tlumivého roztoku hexamethylentetraminu. Směrnice kalibrační funkce v přítomnosti tohoto tlumiče klesla o 29 %.

Dále byla proměřena také kalibrační závislost v přítomnosti  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu a  $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$  tlumivého roztoku, v porovnání s kalibrační závislostí pouze s tenzidem klesla směrnice kalibrační závislosti o 28 %. Tento pokles souhlasí i s poklesem pro roztok bez přítomnosti tenzidu.

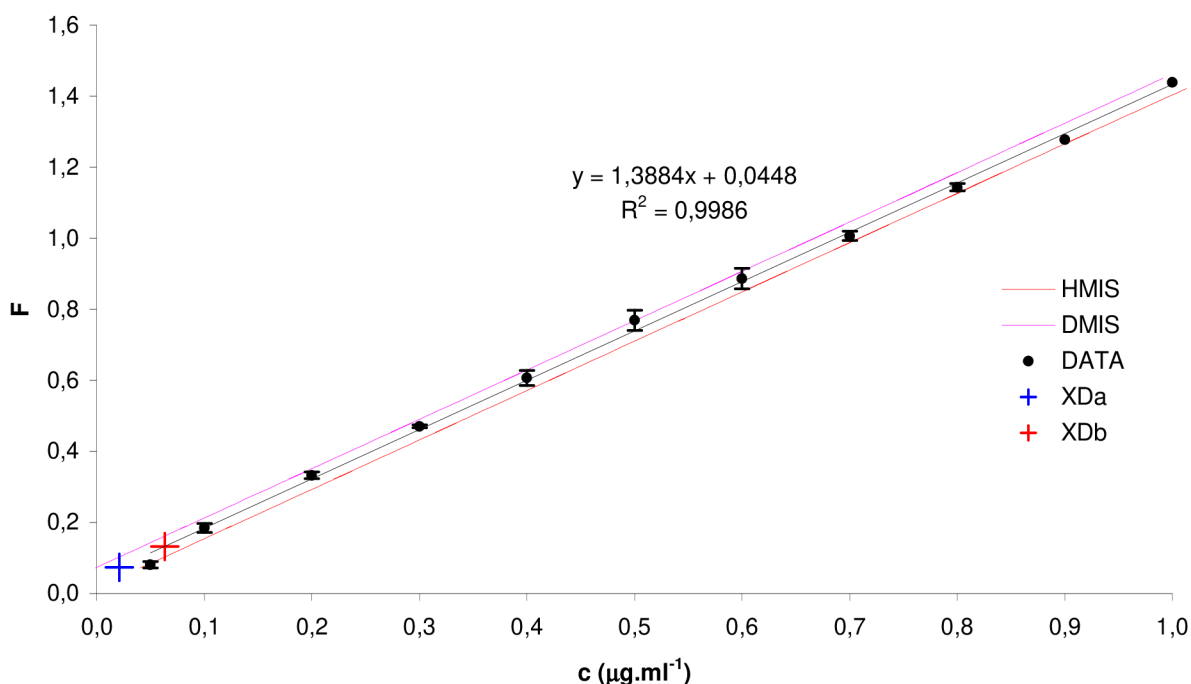
### 5.1.10 První derivace excitačně fluorescenčních spekter komplexu

Byla proměřena a vyhodnocena také spektra první derivace excitačních i emisních spekter, za stejných optimálních podmínek jako normální spektra. Kalibrační funkce pro  $\lambda_{\text{max(em)}} = 551 \text{ nm}$  a pro  $\lambda_{\text{max(ex)}} = 474 \text{ nm}$ . Kalibrační závislosti derivací byly vyhodnoceny jako základní kalibrační funkce. Pro vyhodnocení derivačních spekter byla použita metoda peak to peak.



Obr. 38: První derivace excitačních (a) a emisních (b) spekter komplexu pro měnící se koncentraci skandia v přítomnosti  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny,  $E = 700 \text{ V}$  při  $\text{pH } 4,5$ .

1 –  $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 2 –  $0,8 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 3 –  $0,6 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 4 –  $0,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 5 –  $0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 6 –  $0 \mu\text{g.ml}^{-1}$



Obr. 39: Kalibrační závislost ze spekter prvních derivací základní kalibrační závislosti získaná metodou peak to peak.

Ostatní kalibrační funkce, tedy pro roztoky komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  0,1 – 1  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  a koncentraci činidla  $1,11\cdot 10^{-4}$   $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  v přítomnosti konstantní koncentrace 0,0012 M zephyraminu, pro roztoky komplexu v přítomnosti tlumivého roztoku hexamethylentetraminu a v neposlední řadě pro roztoky komplexu v přítomnosti jak zephyraminu tak i tlumivého roztoku HTMA, byly také vyhodnoceny z derivačních spekter podle stejného postupu.

Tab. 7: Regresní rovnice a detekční limity pro derivace různých kalibračních funkcí.

kalibrační závislost	regresní rovnice	detekční limit podle IUPAC ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	detekční limity podle Grahama ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )
základní	$y = 1,3884x + 0,0448$	$X_b = 0,02$	$X_D^\alpha = 0,02$ $X_D^\beta = 0,06$
základní v přítomnosti HTMA	$y = 1,0159x + 0,1289$	$X_b = 0,05$	$X_D^\alpha = 0,07$ $X_D^\beta = 0,21$
základní v přítomnosti zephyraminu	$y = 14,425x + 0,0662$	$X_b = 0,0004$	$X_D^\alpha = 0,02$ $X_D^\beta = 0,07$
základní v přítomnosti zephyramina a HTMA	$y = 8,8519x + 1,0147$	$X_b = 0,008$	$X_D^\alpha = 0,07$ $X_D^\beta = 0,21$

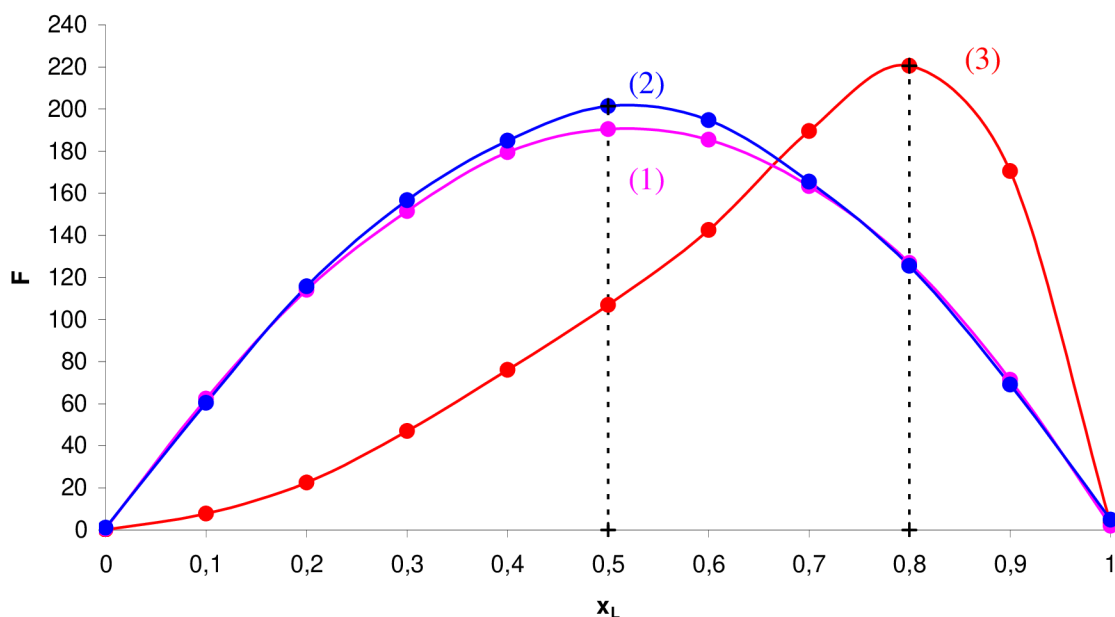
### 5.1.7. Studium stechiometrie chelátu metodou kontinuálních variací

V závislosti na koncentraci činidla se neobjevuje žádný výrazný zlom, který by umožňoval posoudit stechiometrii fluoreskujícího komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou, a proto byla použita metoda kontinuálních variací. Byla použita směs různých objemů ekvimolárních roztoků tak, aby jejich celkový objem byl konstantní při celkové koncentraci  $c_0 = 1,34\cdot 10^{-4}$   $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  a  $6,67\cdot 10^{-5}$   $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Pro tuto celkovou koncentraci byla

metoda aplikována i v přítomnosti konstantní koncentrace  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu. Maximum závislosti udává souřadnice poměru složek komplexu.

Tab. 8: Objemy ekvimolárních roztoků použité k měření

Objem roztoku $\text{Sc}^{3+}$ (ml)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Objem roztoku činidla (ml)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10



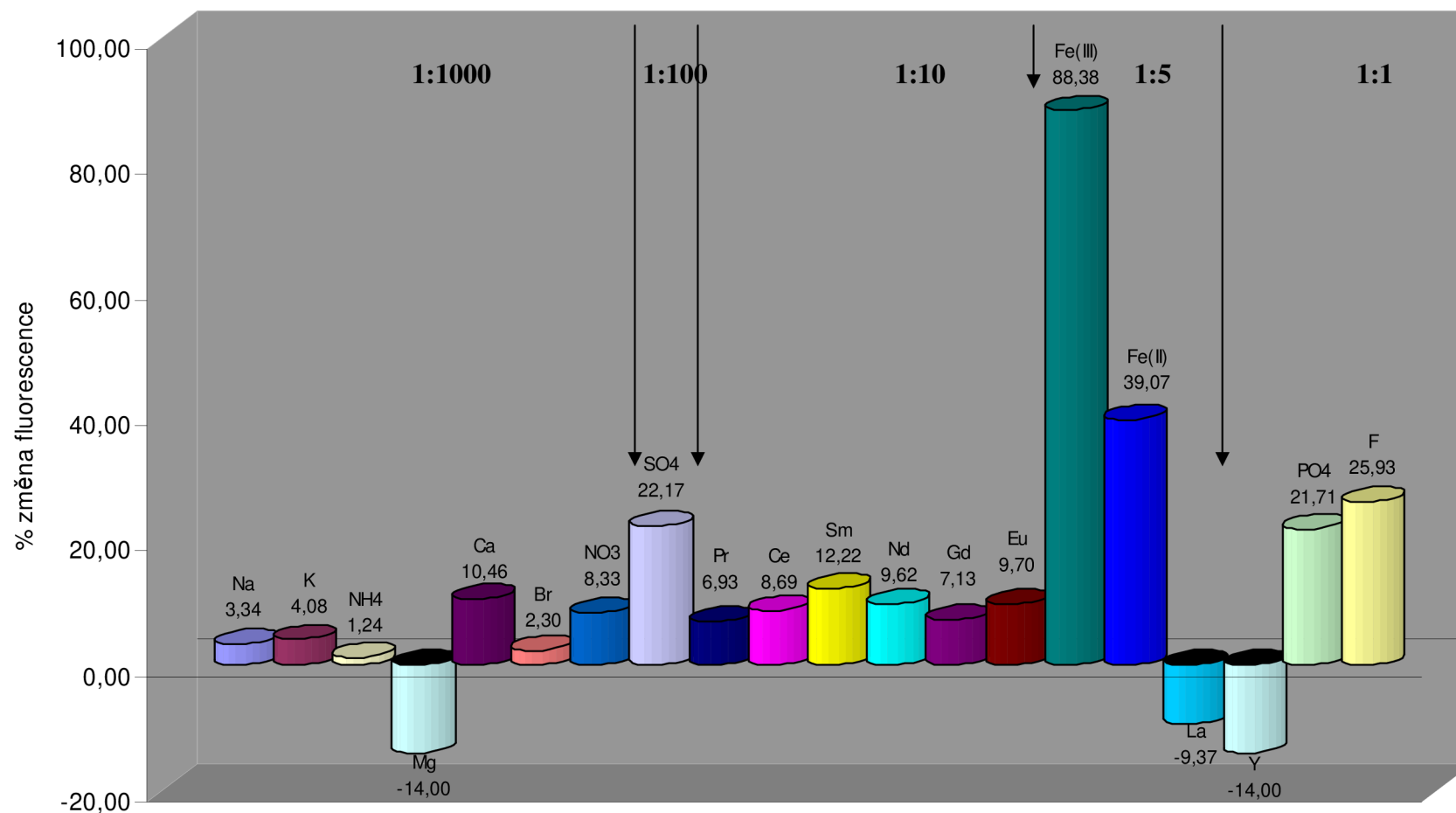
Obr. 40: Závislost fluorescence komplexu na objemu ekvimolárního roztoku činidla kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové. Celková koncentrace  $\text{Sc}^{3+}$  a činidla (1)  $1,34 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  při pH 4,5 a  $E = 800 \text{ V}$ ; (2)  $6,67 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  při pH 4,5 a  $E = 860 \text{ V}$ ; (3)  $6,67 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ ,  $0,0012 \text{ M}$  zephyraminu při pH 4,5 a  $E = 770 \text{ V}$ .

Metoda kontinuálních variací indikuje v rozsahu koncentrací  $\text{Sc}^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} - 2,22 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 - 1 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) při pH 4,5 jednoznačný vznik komplexu v molárním poměru  $\text{Sc:L} = 1:1$ .

Dále byl metodou kontinuálních variací vyhodnocen i komplex  $\text{Sc}^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové v přítomnosti konstantní koncentrace  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu. V tomto případě vzniká komplex v molárním poměru  $\text{Sc:L} = 1:3$ , který může odpovídat neutrálnímu komplexu.

### 5.1.8. Rušení fluorescence komplexu $\text{Sc}^{3+}$ a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové jednotlivými ionty

Interference fluorescence komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  byla studována pro koncentraci  $\text{Sc}^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové za optimálních podmínek vzniku komplexu. Byla měřena fluorescence komplexu v roztoku s přidavkem postupně 1000, 100, 10, 5 a 1 násobného molárního nadbytku interferentu vůči skandiu. Jestliže látka snižovala fluorescenci o méně než 5 % byl použit interferent vždy ve vyšším poměru vůči skandiu.



Obr. 41: Interference daných iontů na fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové. Koncentrace  $Sc^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové za optimálních podmínek při pH 4,5. Číselná hodnota nad sloupcem označuje pokles intenzity fluorescence, číselná hodnota pod sloupcem označuje vzrůst intenzity fluorescence komplexu.



V uvedeném poměru  $\text{Sc}^{3+}$  ke koncentraci interferentu na obr. 41 vyplývá, že fluorescence komplexu ruší přítomnost velkého počtu interferentů. S výjimkou hořčíku, lantanu a yttria, které zvyšují fluorescence komplexu, Mg o 14 %, La o 9,37 % a Y taktéž o 14 %. Fluorescence La a Y se dá vysvětlit tím, že se jedná o prvky stejné skupiny periodické soustavy s analogickou elektronovou strukturou. Fluorescence je však nižší než u skandia a klesá v pořadí  $\text{Sc} > \text{La} > \text{Y}$ . V tomtéž pořadí naopak roste atomový poloměr prvku a tím se snižuje jeho tendence tvořit komplexní sloučeniny, což se projevuje snižující se intenzitou fluorescence.

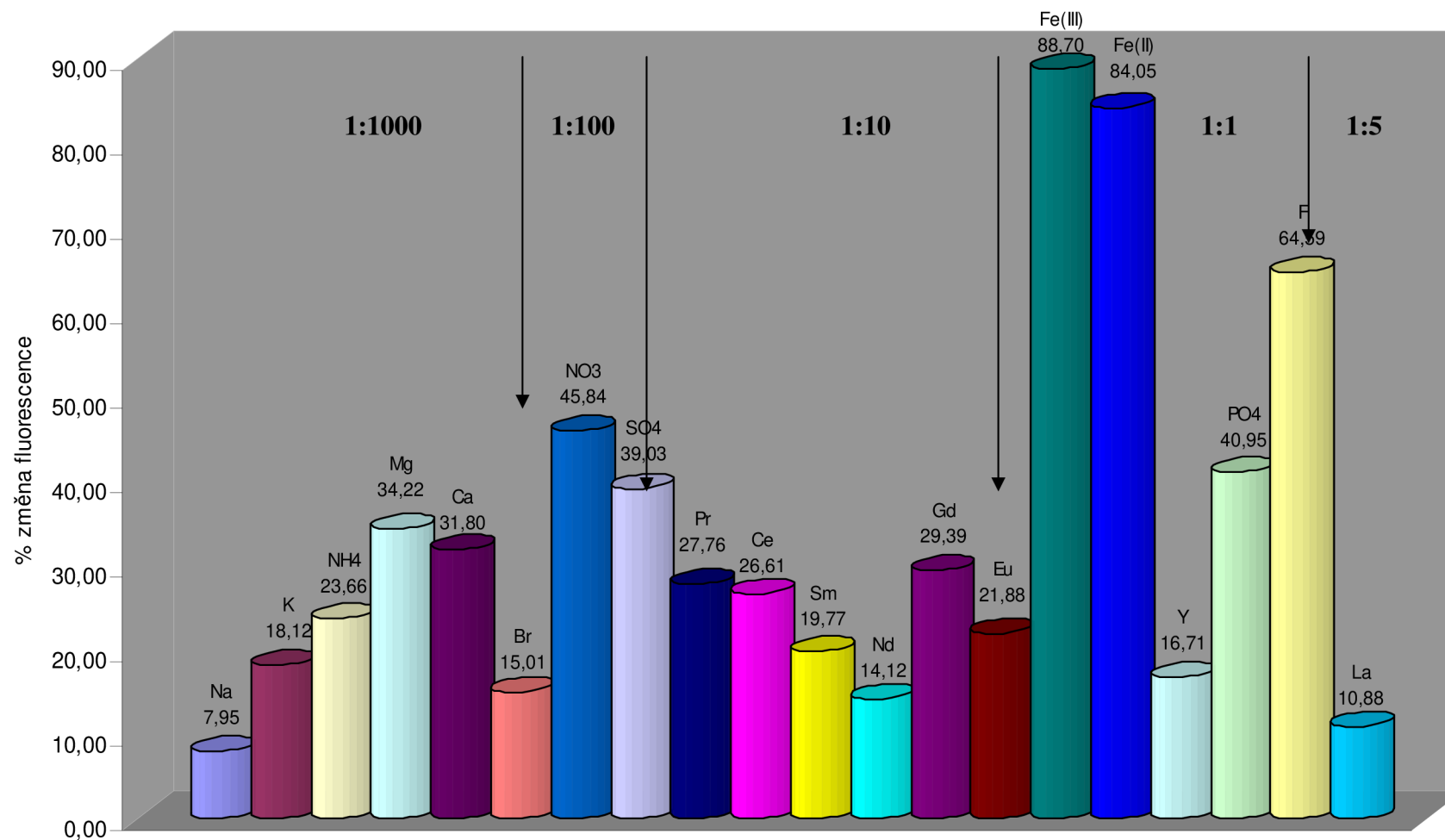
U lehkých lanthanoidů Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, ve všech případech došlo k poklesu intenzity fluorescence v molárním poměru 1:10 v průměru o 10 %.

Vliv  $\text{Fe}^{3+}$  je významný už v molárním poměru ( $\text{Sc}^{3+}$ :  $\text{Fe}^{3+}$ ) 1:5, snižuje fluorescence komplexu o 88,38 %, proto byla aplikována redukce trojmocného železa na  $\text{Fe}^{2+}$  kyselinou askorbovou. Po redukci ruší dvojmocné železo fluorescence komplexu jen o 39,07 %.

Dále bylo podrobně zkoumáno i rušení v přítomnosti optimálního množství  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu. V přítomnosti zephyraminu se rušící vliv na fluorescence komplexu výrazně zvýšil v negativním smyslu, viz obr. 42.

Trojmocné železo bylo zredukováno kyselinou askorbovou na  $\text{Fe}^{2+}$ , avšak v tomto případě se neprojevil významný pokles negativního rušícího vlivu, rušení se snížilo pouze o zhruba 4 %, přičemž v předchozím případě v nepřítomnosti zephyraminu se zhášení snížilo o 49 %.

Vliv  $\text{Al}^{3+}$ , který v komplexu s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou výrazně fluoreskuje a ruší stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  nelze odstranit ani maskováním malou koncentrací  $\text{NaBF}_4$  (při různé koncentraci kyseliny borité), protože se snižuje také fluorescence komplexu  $\text{Sc}^{3+}$ . Jelikož fluorescence komplexu skandia s činidlem je snížena o 25 % již v molárním poměru  $\text{Sc}:\text{F} = 1:1$ , přičemž fluorescence komplexu hliníku s činidlem je snižována až v poměru 1:100, a to o 22 %. Použitelná koncentrace fluoridu tedy byla pouze v molárním poměru  $\text{Sc}:\text{F} = 1:1$ . V tomto poměru však dochází k anomálnímu nárůstu fluorescence komplexu hliníku patrně tvorbou ternárního komplexu Al-L-F. Tento způsob maskování  $\text{Al}^{3+}$  je při stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  nepoužitelný.

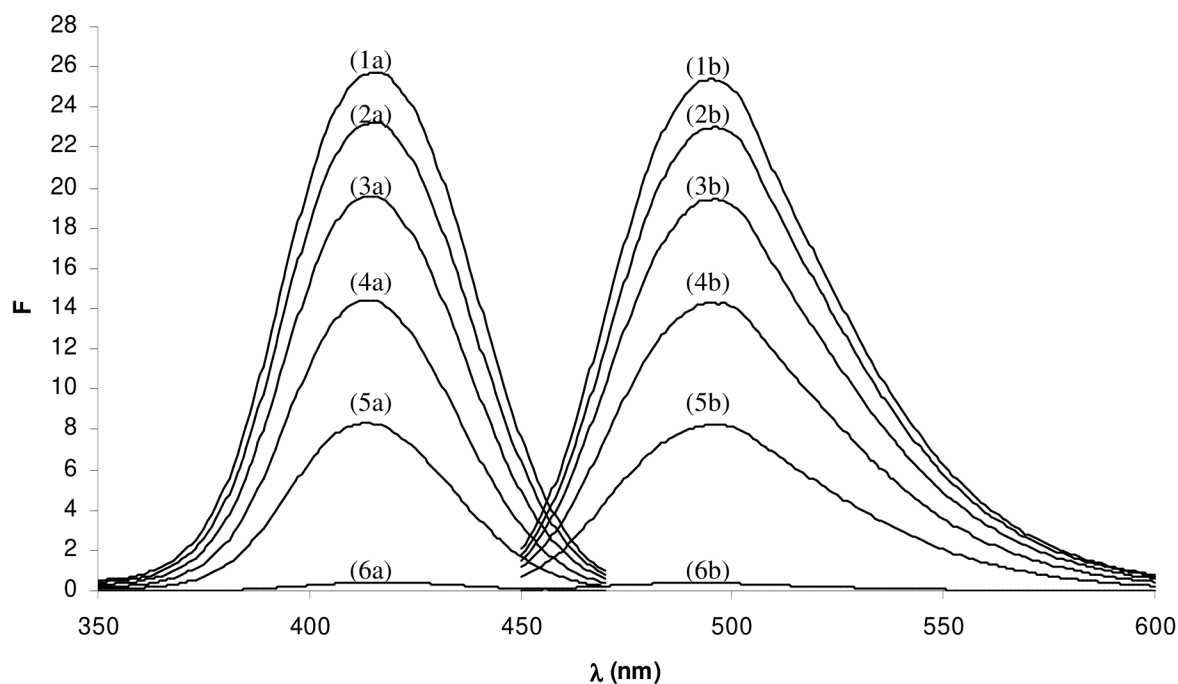


Obr. 42: Interference daných iontů na fluorescenci komplexu  $Sc^{3+}$  a kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové. Koncentrace  $Sc^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové za optimálních podmínek a v přítomnosti  $0,0012 \text{ M}$  zephyraminu. Číselná hodnota nad sloupcem označuje pokles intenzity fluorescence komplexu.

## 5.2. Základní porovnání reakce $\text{Sc}^{3+}$ s 8-Hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou a reakce $\text{Sc}^{3+}$ s morinem (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon)

### 5.2.1. Excitačně fluorescenční spektra

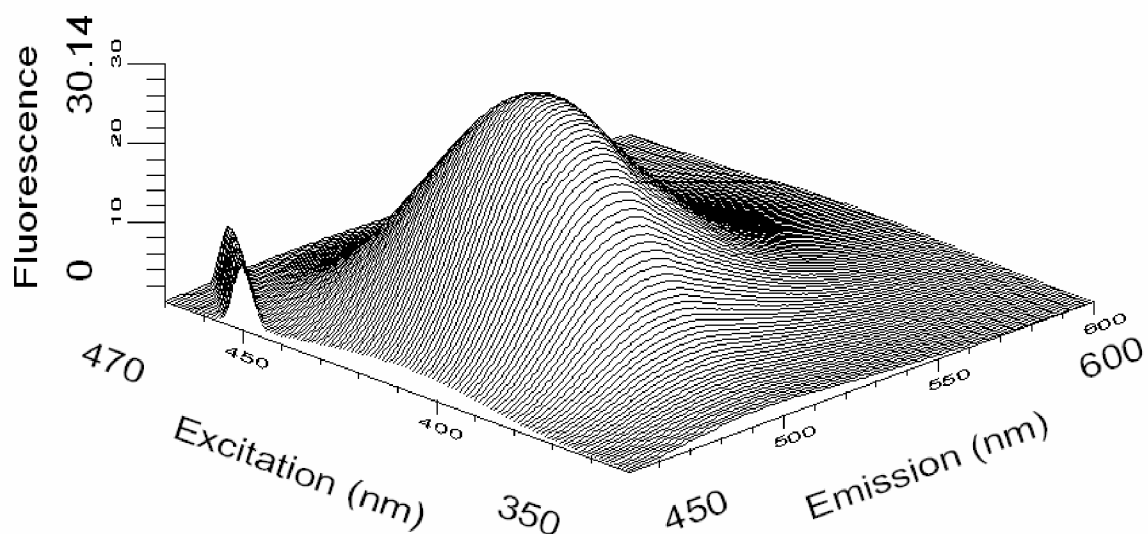
Při reakci  $\text{Sc}^{3+}$  s morinem vzniká zeleně fluoreskující komplex při pH 2,5 – 3 ve vodném prostředí i v přítomnosti ethanolu. Excitační spektrum má maximum při vlnové délce 410 nm a fluorescenční spektrum vykazuje maximální hodnotu při vlnové délce 493 nm. Poloha maxim není ovlivněna koncentrací činidla, ethanolu ani časem.



Obr. 43: Závislost excitačních a emisních spekter na měnící se koncentraci skandia. Zobrazena jsou excitační (a) a emisní (b) spektra komplexu skandia v přítomnosti  $2,22 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 505 \text{ V}$  při pH 2,5.

1 –  $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 2 –  $0,8 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 3 –  $0,6 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 4 –  $0,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 5 –  $0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 6 –  $0 \mu\text{g.ml}^{-1}$

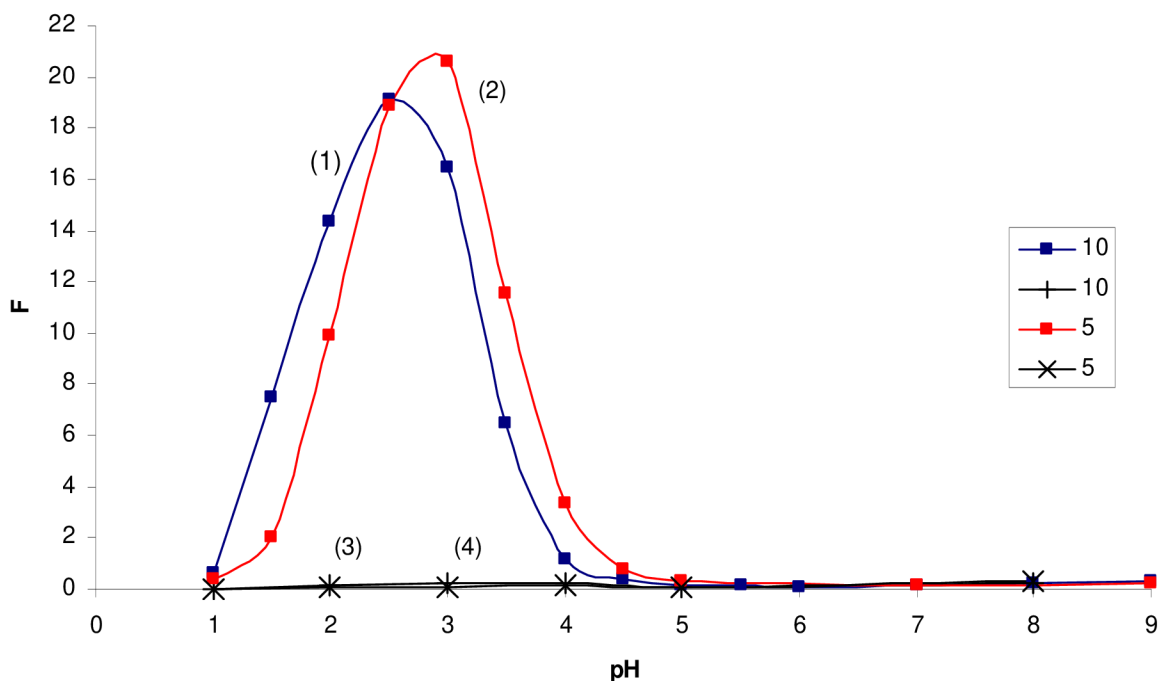
K vyhodnocení dalších měření byly použity pouze hodnoty maxima fluorescence při 493 nm. Na spektrofluorimetru byla také vždy nastavena excitační a emisní vlnová délka 410 nm a 493 nm.



Obr. 44: 3D excitačně emisní spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 545 \text{ V}$  a při pH 2,5.

### 5.2.2. Vliv pH roztoku

Pro zjištění optimálního pH reakce skandia s morinem byla poměřena fluorescence roztoků o koncentraci skandia  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu při různém pH. pH roztoků bylo upravováno přidavkem zředěného roztoku hydroxidu sodného a zředěného roztoku kyseliny chlorovodíkové.

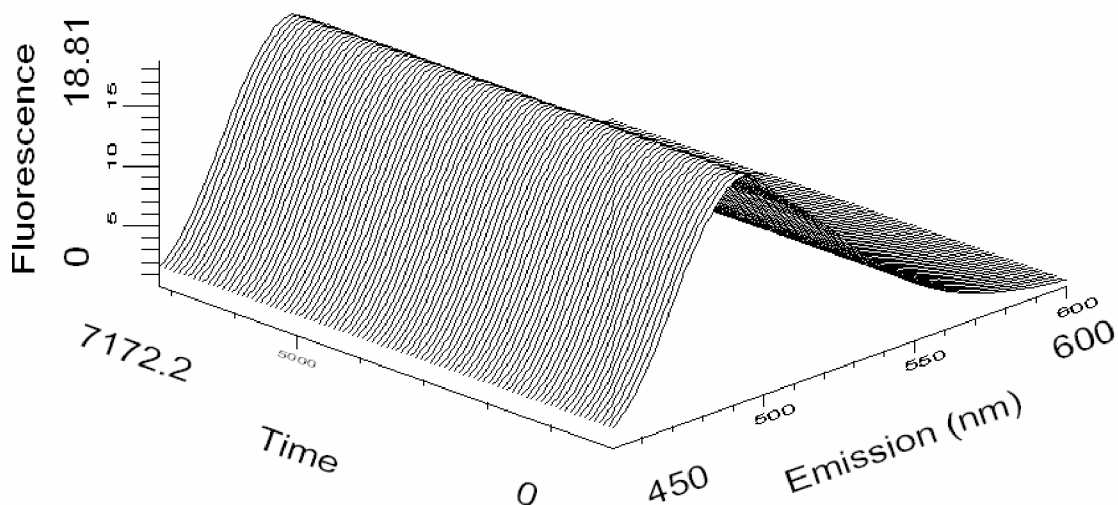


Obr. 45: Závislost maxima fluorescence komplexu na pH. (1)  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 525 \text{ V}$ , (2)  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 530 \text{ V}$ . (3) a (4) pozadí pro pH křivky je prakticky totožné pro molární 10násobek tak i 5násobek činidla při daných napětích.

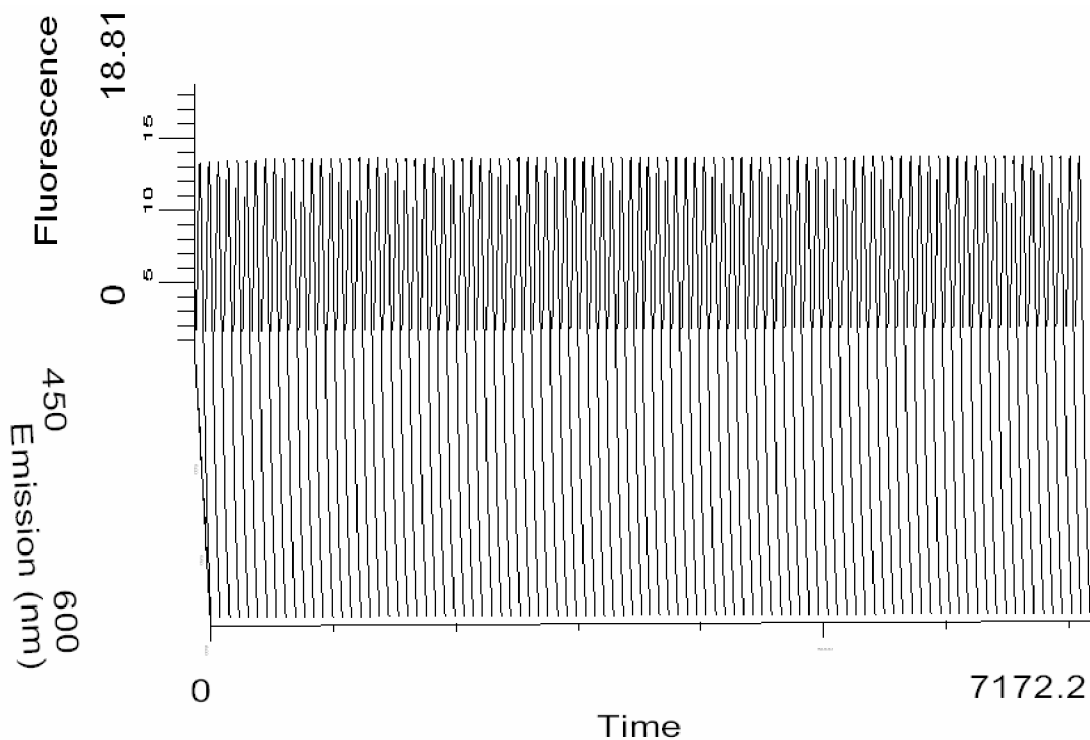
Nejvyšší fluorescence komplexu skandia s morinem nastává při  $\text{pH} = 2,5$  pro 10násobné koncentraci činidla, což bylo potvrzeno v literatuře. Pro 5násobnou koncentraci činidla dochází k největší intenzitě fluorescence při  $\text{pH} = 3$ . Vzhledem k tomu, že optimální nadbytek činidla byla 10násobná koncentrace činidla vzhledem ke kovu, bylo zvoleno optimální  $\text{pH} 2,5$ . Toto  $\text{pH}$  bylo použito při všech dalších měřeních.

### 5.2.3. Závislost fluorescence komplexu $\text{Sc}^{3+}$ a morinu na čase

Byl připraven roztok o koncentraci skandia  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a morinu o koncentraci  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  při  $\text{pH} 2,5$ . Fluorescence komplexu byla proměřena v 3D grafu. Fluorescence byla měřena hned po namíchání roztoku, poté byla proměřována po dobu přibližně dvou hodin. Intenzita fluorescence roztoku byla porovnána s tím samým roztokem po dvouhodinovém ozařování a tím samým roztokem, který stál dvě hodiny ve tmě.



Obr. 46: 3D časové spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 525 \text{ V}$  a při  $\text{pH } 2,5$ .



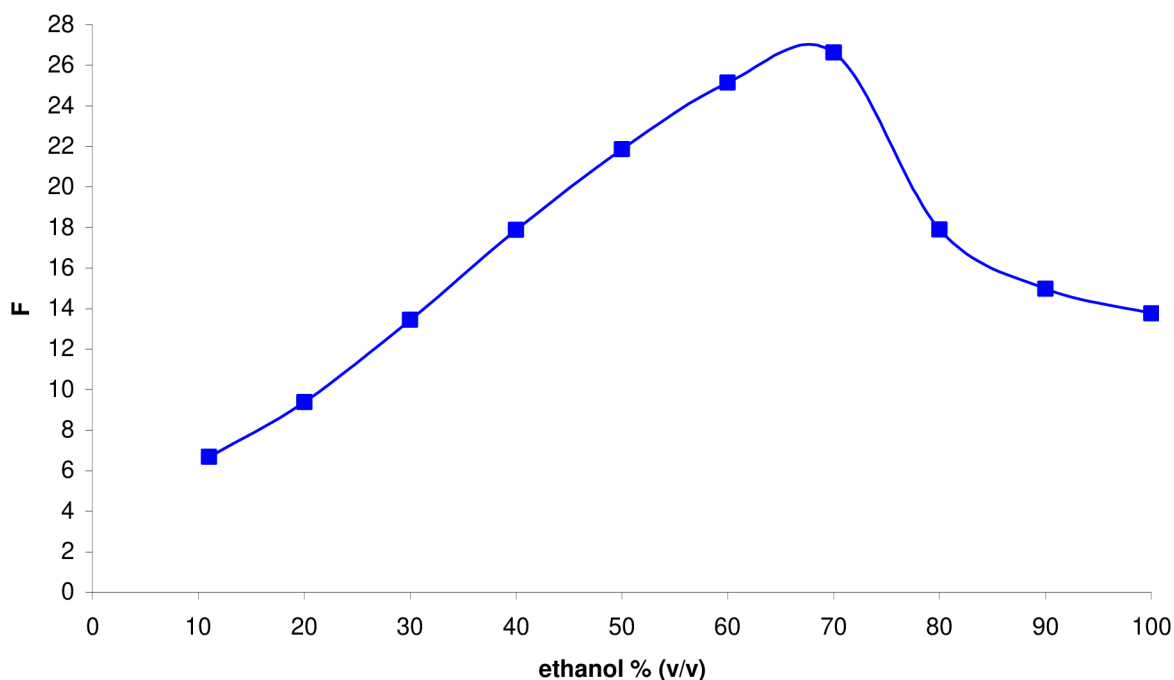
Obr. 47: 3D časové spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 525 \text{ V}$  a při  $\text{pH } 2,5$ . Tentýž obrázek jako výše, pouze z jiné perspektivy.

Fluorescence komplexu je konstantní hned po namíchání roztoku minimálně po dobu dvou hodin. Jestliže je vzorek neustále ozařován nedochází k žádné změně fluorescence. Taktéž ani u roztoku, který byl po dobu dvou hodin uchovávan ve tmě. V následujících měřeních byla

fluorescence měřena až po dvou hodinách, z toho důvodu, aby mohla být namíchána celá sada roztoků.

#### 5.2.4. Vliv ethanolu

Byl sledován vliv koncentrace ethanolu v rozmezí 11 až 100 % (v/v) na fluorescenci komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  při koncentraci  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu.



Obr. 48: Vliv koncentrace ethanolu na intenzitu fluorescence komplexu  $\text{Sc}^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu v přítomnosti měnící se koncentrace ethanolu 11 až 100% (v/v) při pH 2,5 a  $E = 480 \text{ V}$ .

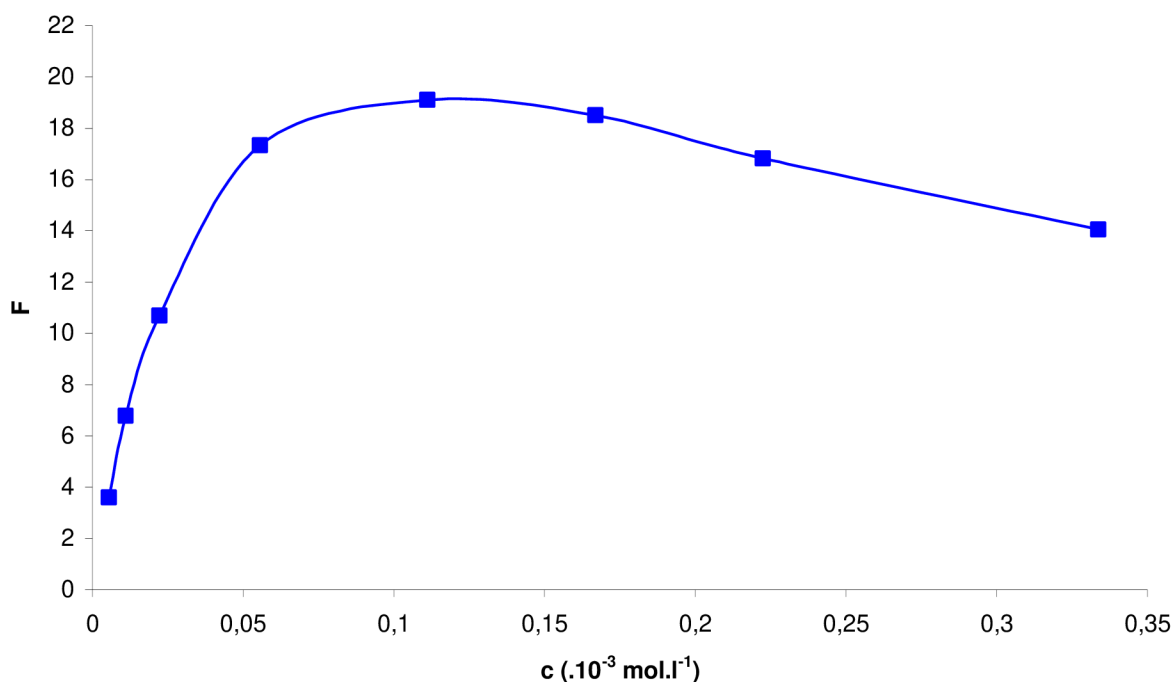
Bylo zjištěno, že fluorescence komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  s morinem při koncentraci  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a koncentraci  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu při pH = 2,5 lineárně roste s koncentrací ethanolu až do 68 % (v/v). Při této koncentraci je fluorescence přibližně čtyřikrát vyšší než v 11 % (v/v) ethanolu, která byla používána při dalších měřeních. Při dalším zvyšování koncentrace ethanolu již dochází k výraznému poklesu intenzity fluorescence.

#### 5.2.5. Vliv koncentrace činidla

Pro zjištění optimálního nadbytku činidla pro tvorbu komplexu  $\text{Sc}^{3+}$  s morinem byla proměřena fluorescence  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a morinu o koncentraci v rozmezí 0,5 až 30 násobného molárního nadbytku činidla a konstantního obsahu 33 % ethanolu v roztoku. Vzhledem k tomu, že ethanol zvyšuje fluorescenci, byla koncentrace ethanolu konstantní a byla zvolena na 33 %, protože při 30násobném molárním nadbytku činidla je v roztoku 33 % ethanolu.

Tab. 9: Poměr molárních koncentrací činidla ke  $Sc^{3+}$  a odpovídající koncentrace činidla

<b>poměr</b>	<b>c činidla (<math>mol.l^{-1}</math>)</b>
1 : 0,5	$5,56 \cdot 10^{-6}$
1 : 1	$1,11 \cdot 10^{-5}$
1 : 2	$2,22 \cdot 10^{-5}$
1 : 5	$5,56 \cdot 10^{-5}$
1 : 10	$1,11 \cdot 10^{-4}$
1 : 15	$1,67 \cdot 10^{-4}$
1 : 20	$2,22 \cdot 10^{-4}$
1 : 30	$3,34 \cdot 10^{-4}$



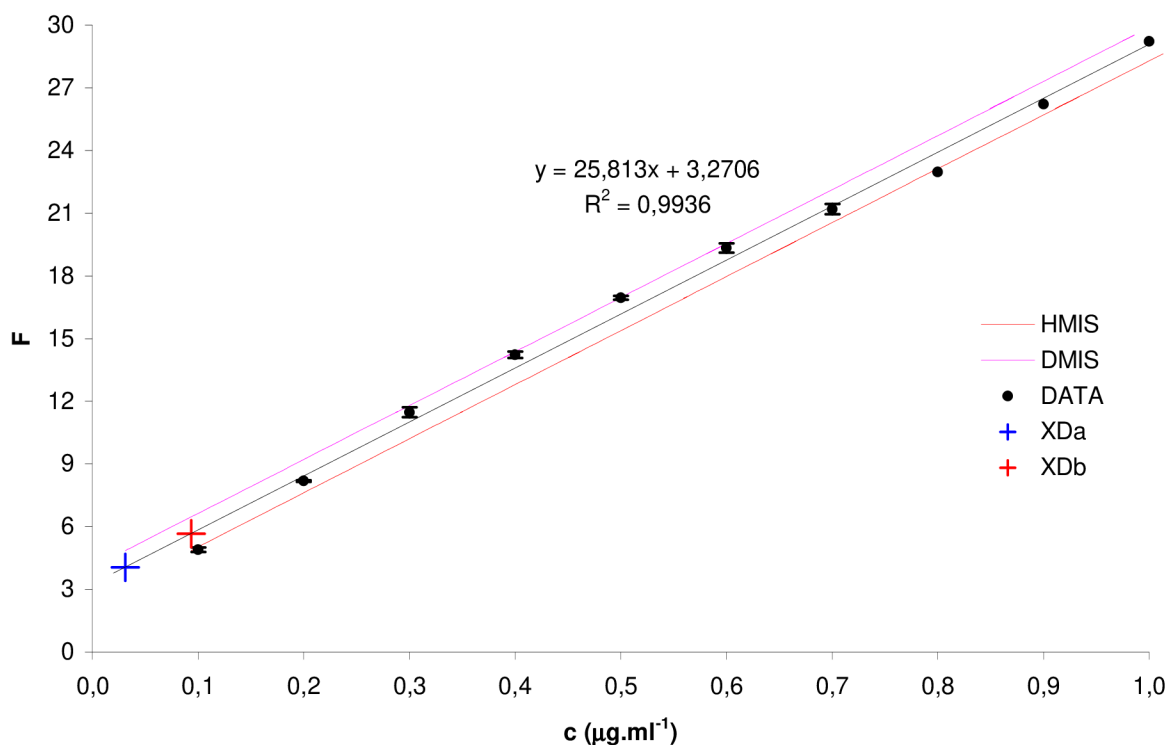
Obr. 49: Vliv koncentrace činidla na fluorescenci chelátu  $Sc^{3+}$  a  $5,56 \cdot 10^{-6} mol.l^{-1}$  až  $3,34 \cdot 10^{-4} mol.l^{-1}$  morinu při pH 2,5 a  $E = 490 V$ .

Při konstantní koncentraci ethanolu 33 % je fluorescence komplexu nejvyšší při 10 molárním násobku činidla. Optimální koncentrace morinu je tedy  $1,11 \cdot 10^{-4} mol.l^{-1}$ .

### 5.2.6. Kalibrační závislost

Kalibrační funkce byla striktně lineární v rozsahu  $0,1 - 1 \mu g.ml^{-1} Sc^{3+}$  v přítomnosti 22 % (je to nejnižší nutná koncentrace ethanolu v roztoku, který je přítomný v roztoku činidla) ethanolu a koncentraci činidla  $2,22 \cdot 10^{-4} mol.l^{-1}$ .

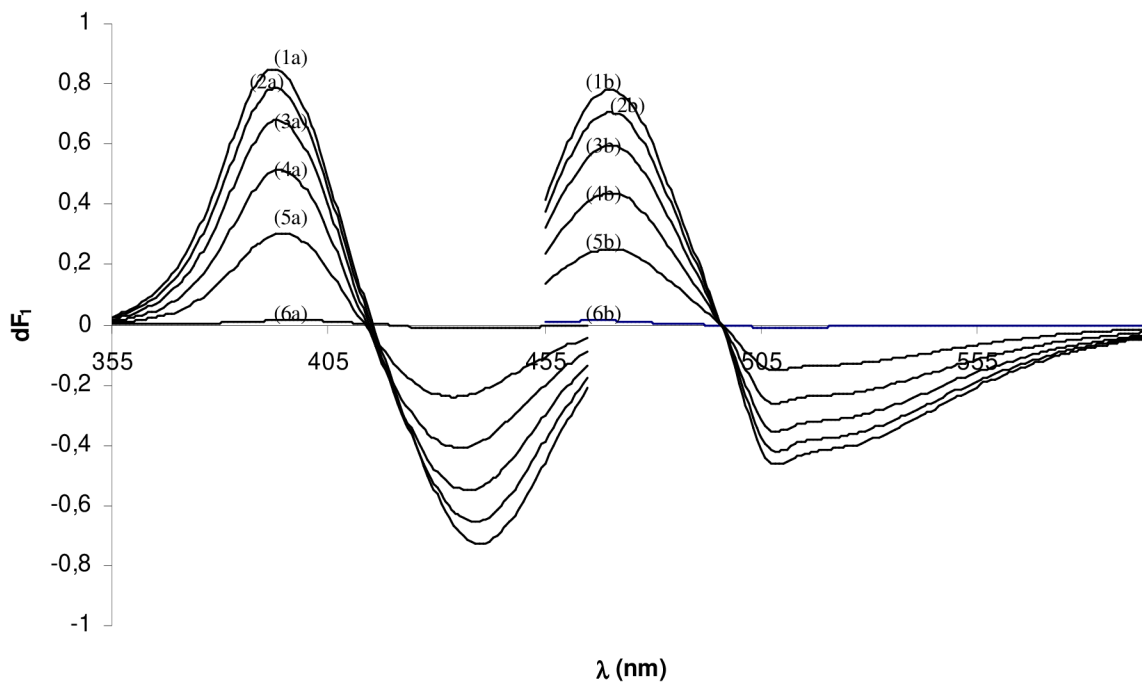




Obr. 50: Kalibrační závislost  $0,1 - 1 \mu g \cdot ml^{-1} Sc^{3+}$  s intervaly spolehlivosti. Koncentrace morinu  $2,22 \cdot 10^{-4} mol \cdot l^{-1}$ ,  $E = 505 V$  při  $pH 2,5$

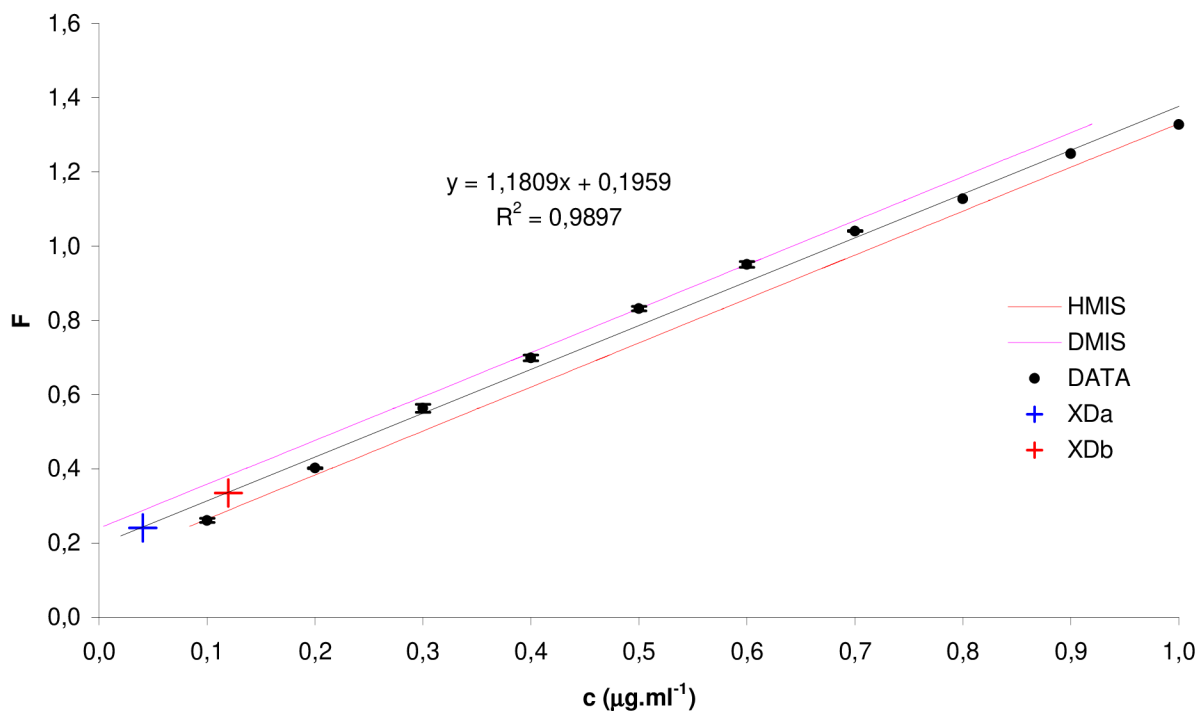
### 5.2.7. První derivace excitačně fluorescenčních spekter komplexu

Byla naměřena a vyhodnocena i spektra první derivace excitačních i emisních spekter, tato data byla naměřena za stejných optimálních podmínek jako normální spektra příslušné kalibrační funkce, přičemž  $\lambda_{max(em)} = 509 \text{ nm}$  a  $\lambda_{max(ex)} = 470 \text{ nm}$ . Derivační spektra byla vyhodnocena taktéž metodou peak to peak.



Obr. 51: První derivace excitačních (a) a emisních (b) spekter komplexu při měnící se koncentraci skandia v přítomnosti  $2,22 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  morinu,  $E = 505 \text{ V}$  při  $\text{pH } 2,5$ .

1 –  $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 2 –  $0,8 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 3 –  $0,6 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 4 –  $0,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 5 –  $0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 6 –  $0 \mu\text{g.ml}^{-1}$



Obr. 52: Kalibrační závislost ze spekter prvních derivací původní kalibrační závislosti komplexu získaná metodou peak to peak.

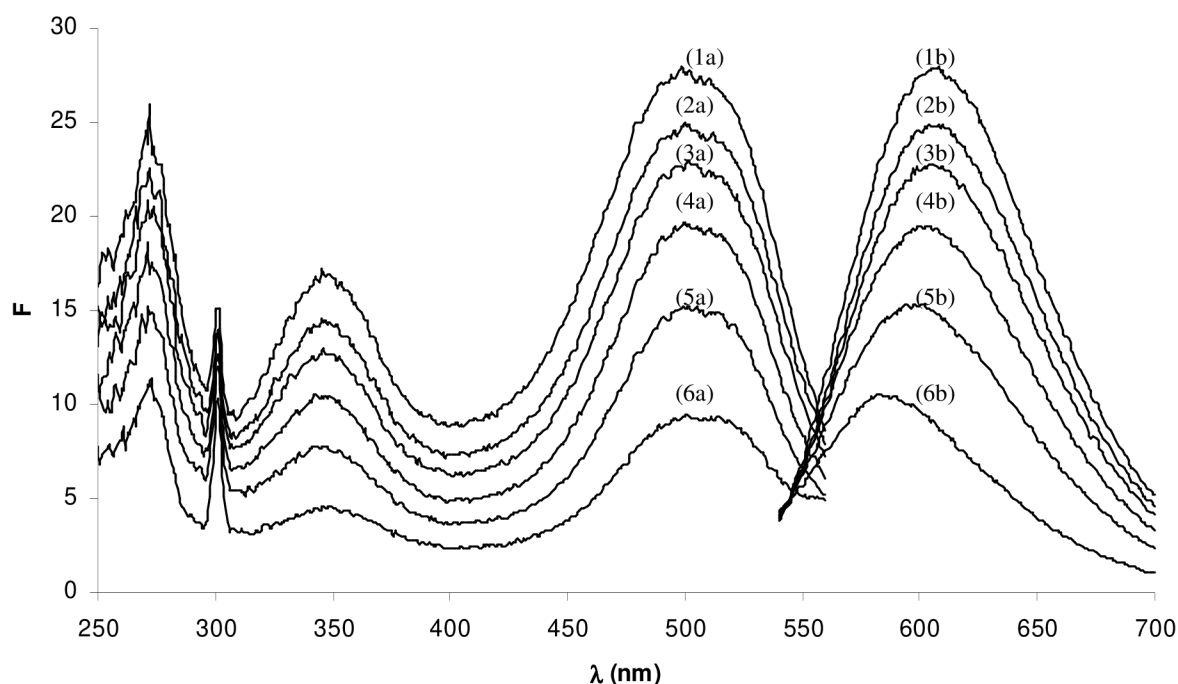
Tab. 10: Regresní rovnice pro kalibrační funkci a její první derivace je uvedena v tabulce i s vypočtenými detekčními limity.

<b>kalibrační závislost</b>	<b>regresní rovnice</b>	<b>detekční limit podle IUPAC (<math>\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}</math>)</b>	<b>detekční limity podle Grahama (<math>\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}</math>)</b>
základní	$y = 25,813x + 3,2706$	$X_b = 0,01$	$X_D^\alpha = 0,03$ $X_D^\beta = 0,09$
první derivace	$y = 1,1809x + 0,1959$	$X_b = 0,06$	$X_D^\alpha = 0,04$ $X_D^\beta = 0,12$

### 5.3. Základní porovnání reakce $\text{Sc}^{3+}$ s 8-Hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou a reakce $\text{Sc}^{3+}$ s lumogallionem (5-chloro-3-[(E)-(2,4-dihydroxyfenyl)azo]-hydroxybenzensulfonová kyselina)

#### 5.3.1. Excitačně fluorescenční spektra

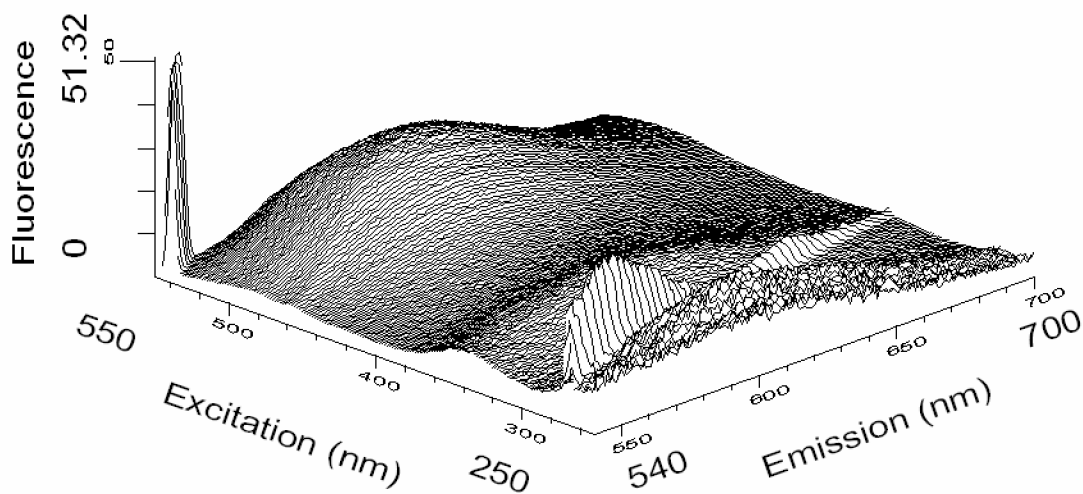
Při reakci  $\text{Sc}^{3+}$  s lumogallionem vzniká oranžově fluoreskující komplex při pH 5 – 5,5 ve vodném prostředí. Excitační spektrum má maximum ve viditelné oblasti při vlnové délce 497 nm a fluorescenční spektrum vykazuje maximální hodnotu při vlnové délce 604 nm. Poloha maxim není ovlivněna koncentrací činidla ani časem. Samotné činidlo však také fluoreskuje. Jeho emisní maximum je při vlnové délce 585 nm.



Obr. 53: Závislost fluorescence na měnící se koncentraci skandia. Zobrazena jsou excitační (a) a emisní (b) spektra komplexu skandia v přítomnosti  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu,  $E = 845 \text{ V}$  při pH 5.

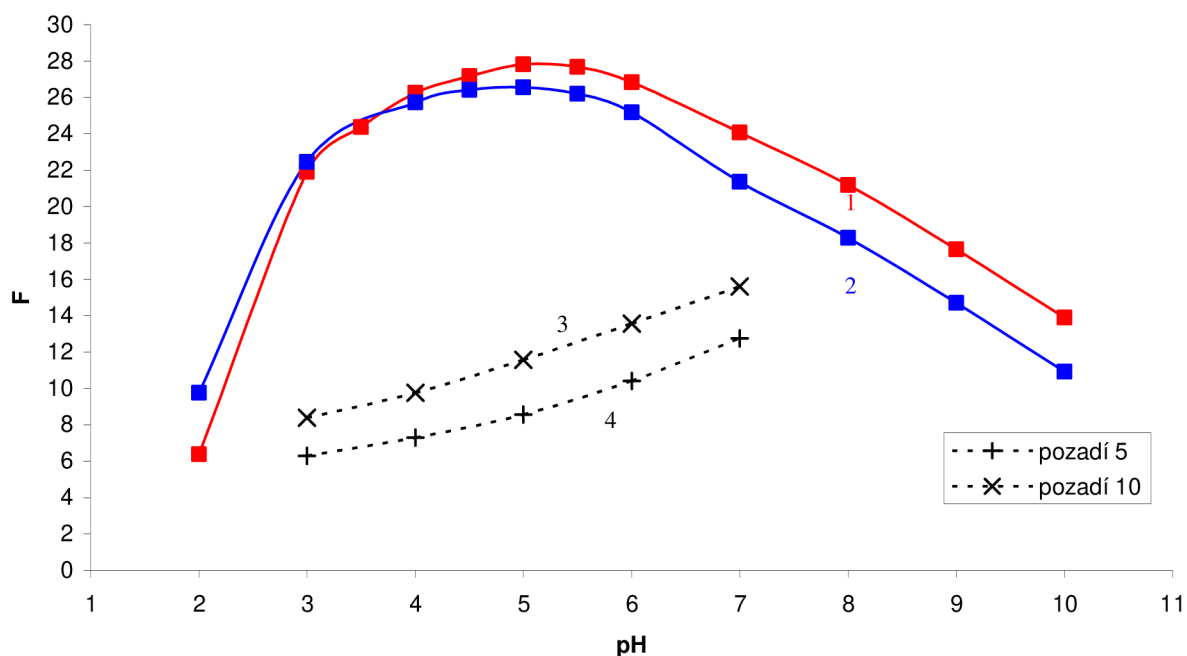
1 –  $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 2 –  $0,8 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 3 –  $0,6 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 4 –  $0,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 5 –  $0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , 6 –  $0 \mu\text{g.ml}^{-1}$

K vyhodnocení dalších měření byly použity pouze hodnoty maxima fluorescence při vlnové délce 604 nm. Na spektrofluorimetru byla také vždy nastavena excitační a emisní vlnová délka 497 nm a 604 nm. Za těchto podmínek  $E \geq 845 \text{ V}$  fluoreskuje i samotné činidlo.



Obr. 54: 3D excitačně emisní spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu při napětí 870 V a při pH 5.

### 5.3.2. Vliv pH roztoku



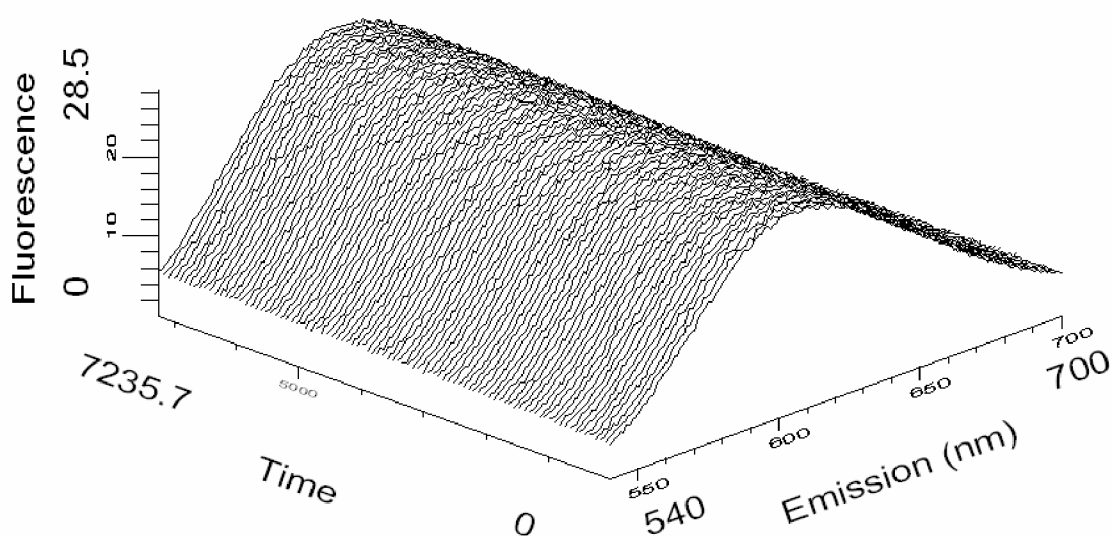
Obr. 55: Závislost maxima fluorescence komplexu na pH. (1)  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu,  $E = 970 \text{ V}$ , (2)  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu,  $E = 970 \text{ V}$ . (3) a (4) odpovídají pozadím pro pH křivky jak pro molární 10násobnou tak i 5násobnou koncentraci činidla při daném napětí.

V obr. není od naměřených pH křivek pozadí křivek odečteno.

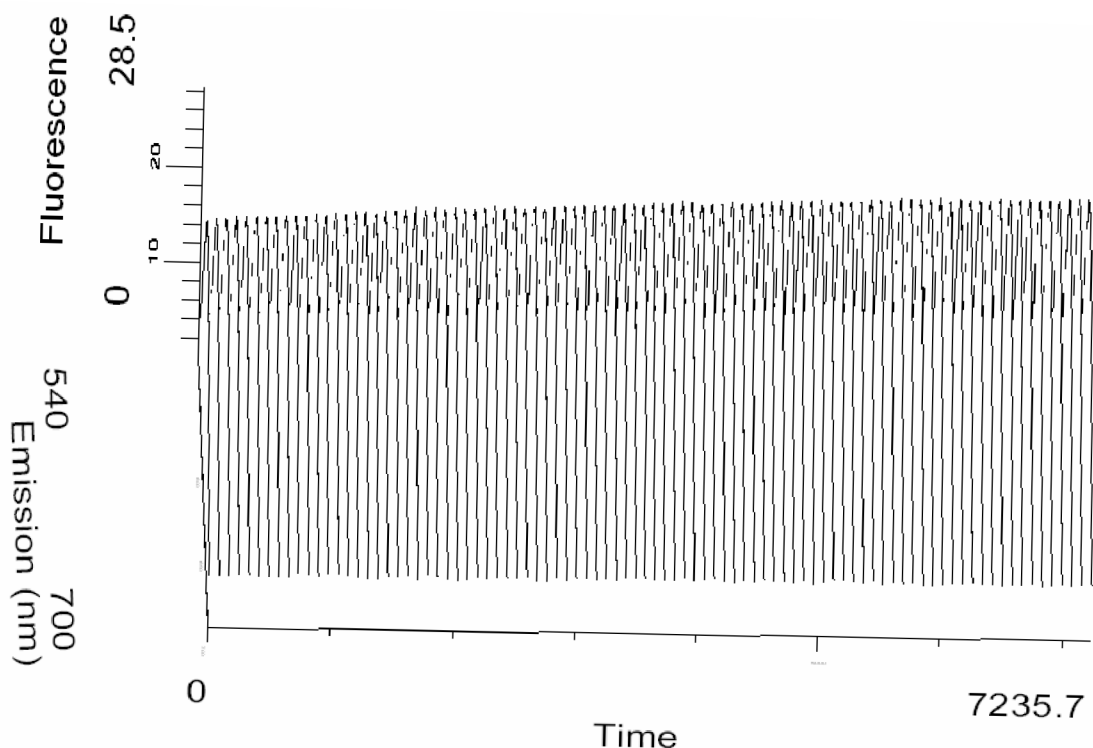
Fluorescence komplexu skandia  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) s  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  a s  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionem je maximální při  $\text{pH} = 5$ , jak pro 10násobnou molární koncentraci činidla, tak i pro 5násobnou molární koncentraci činidla. Všechna ostatní měření tedy probíhala při  $\text{pH} = 5$ .

### 5.3.2. Závislost fluorescence komplexu $\text{Sc}^{3+}$ a lumogallionu na čase

Byl připraven roztok o koncentraci skandia  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a lumogallionu o koncentraci  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ . Fluorescence komplexu byla proměřena v 3D grafu po dobu dvou hodin. Byla také porovnána fluorescence roztoku po dvouhodinovém ozařování s roztokem, který byl ponechán dvě hodiny v temnu.



Obr. 56: 3D časové spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu,  $E = 950 \text{ V}$  a při  $\text{pH} 5$ .



Obr. 57: 3D časové spektrum komplexu  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a lumogallionu,  $E = 950 \text{ V}$  a při pH 5. Stejný obrázek jako obr. 54 pouze použita jiná perspektiva.

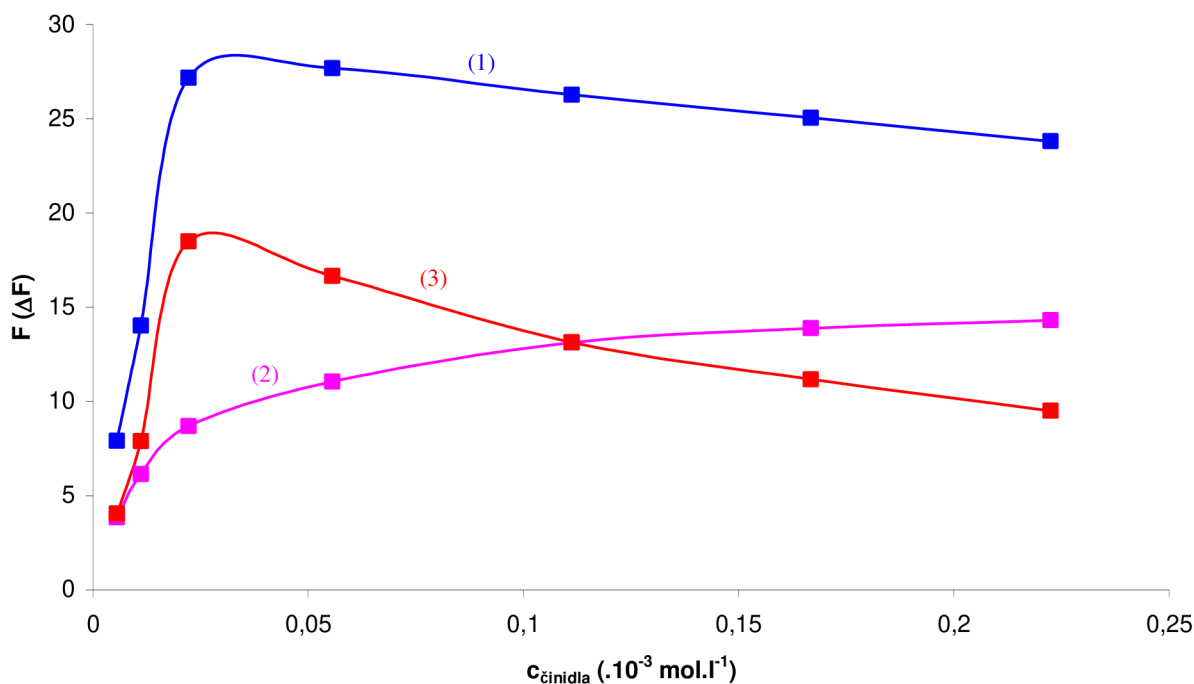
Fluorescence komplexu s časem mírně vzrůstá. Jestliže je vzorek neustále ozařován po dobu dvou hodin dochází k nárůstu fluorescence o 15 %. U téhož roztoku uchovaného po dobu dvou hodin ve tmě dochází k nárůstu fluorescence dokonce o 18 %. Přesto byla fluorescence všech roztoků měřena až po dvou hodinách.

### 5.3.3. Vliv koncentrace činidla

Pro zjištění optimálního nadbytku činidla pro tvorbu daného komplexu byla proměřena fluorescence  $1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ )  $\text{Sc}^{3+}$  a lumogallionu v rozmezí 0,5 až 20 násobném molárním nadbytku.

Tab. 11: Poměr molárních koncentrací činidla a  $\text{Sc}^{3+}$  a odpovídající koncentrace činidla

poměr	$c_{\text{činidla}} (\text{mol.l}^{-1})$
1 : 0,5	$5,56 \cdot 10^{-6}$
1 : 1	$1,11 \cdot 10^{-5}$
1 : 2	$2,22 \cdot 10^{-5}$
1 : 5	$5,56 \cdot 10^{-5}$
1 : 10	$1,11 \cdot 10^{-4}$
1 : 15	$1,67 \cdot 10^{-4}$
1 : 20	$2,22 \cdot 10^{-4}$



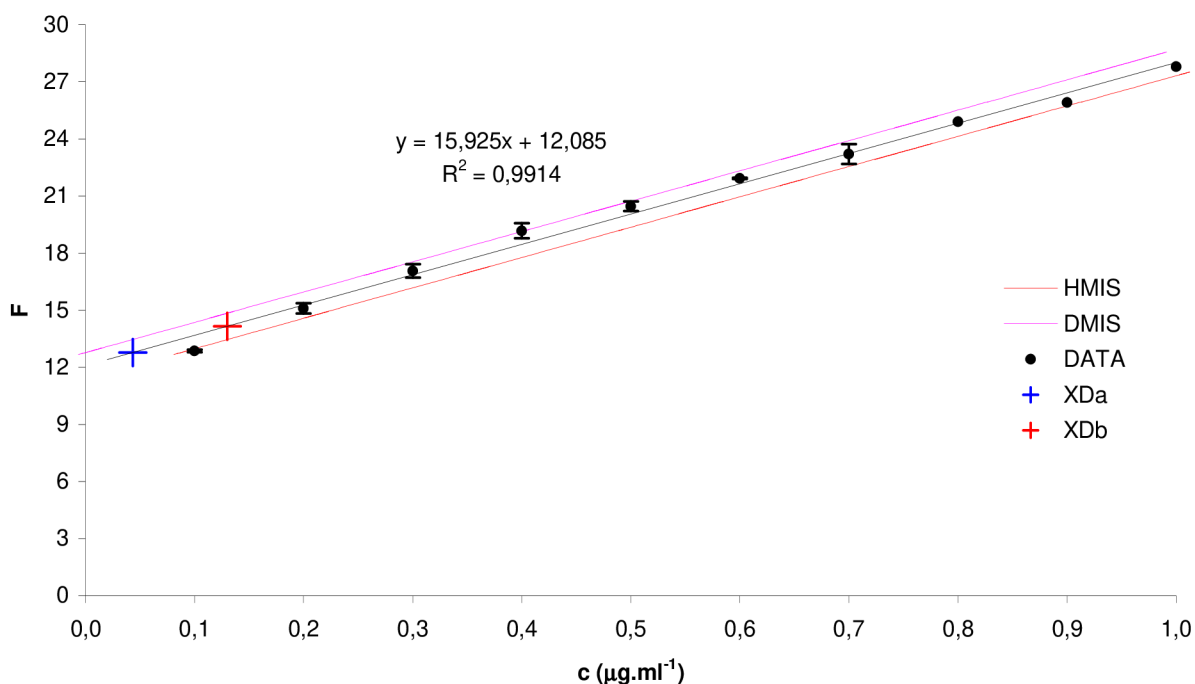
Obr. 58: Vliv koncentrace činidla na fluorescenci (1) komplexu  $Sc^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $5,56 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  až  $2,22 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu (2) fluorescence samotného lumogallionu v rozmezí  $5,56 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  až  $2,22 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  (3)  $\Delta F$  komplexu  $Sc^{3+}$   $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  ( $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a  $5,56 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  až  $2,22 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu; při pH 5 a  $E = 950 \text{ V}$ .

Nejvyšší fluorescenci má komplex v přítomnosti 2 až 5 násobného molárního nadbytku činidla pro koncentraci  $Sc^{3+}$   $0,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ . Během měření byly pro každou koncentraci činidla změřeny i intenzity fluorescence samotného činidla, do grafu byla vynesena jak fluorescence samotného činidla tak i rozdíl  $\Delta F$ . Ačkoliv se po odečtení fluorescence samotného činidla jeví jako optimální molární nadbytek dvounásobná koncentrace činidla. Byl ponechán pro další měření 5molární nadbytek činidla ( $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  lumogallionu).

#### 5.3.4. Kalibrační závislost

Kalibrační závislost bylo naměřena pro rozsah koncentrací  $Sc^{3+}$  od  $0,1 - 1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , změřená závislost byla rovněž lineární. Koncentrace činidla  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$  (5molární nadbytek vzhledem ke koncentraci skandia).

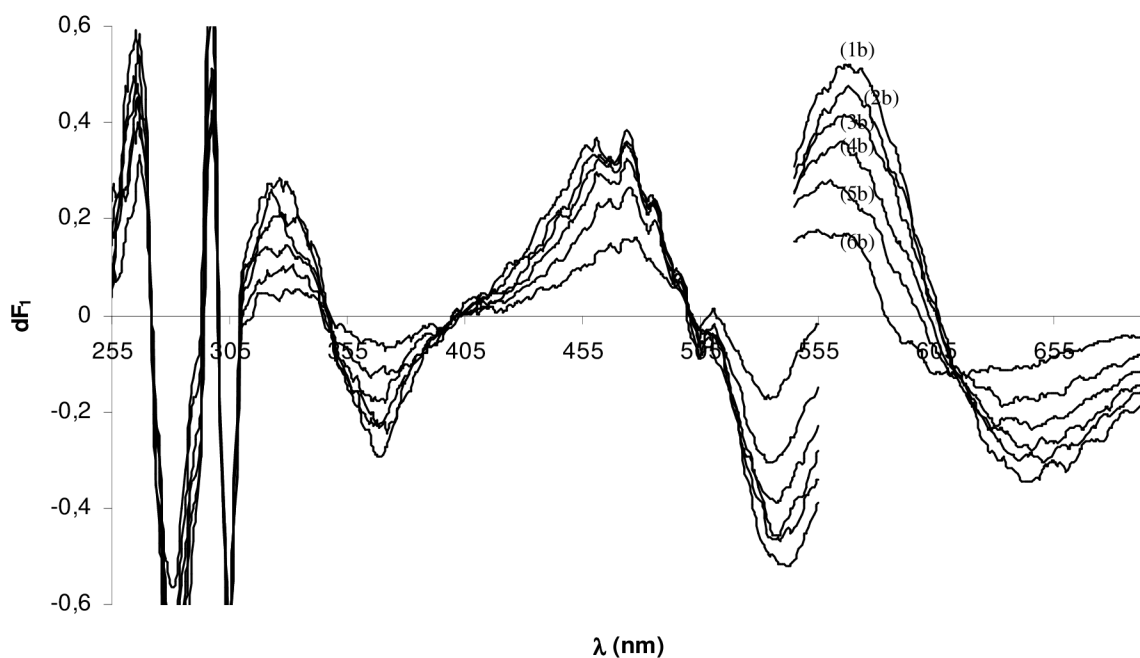




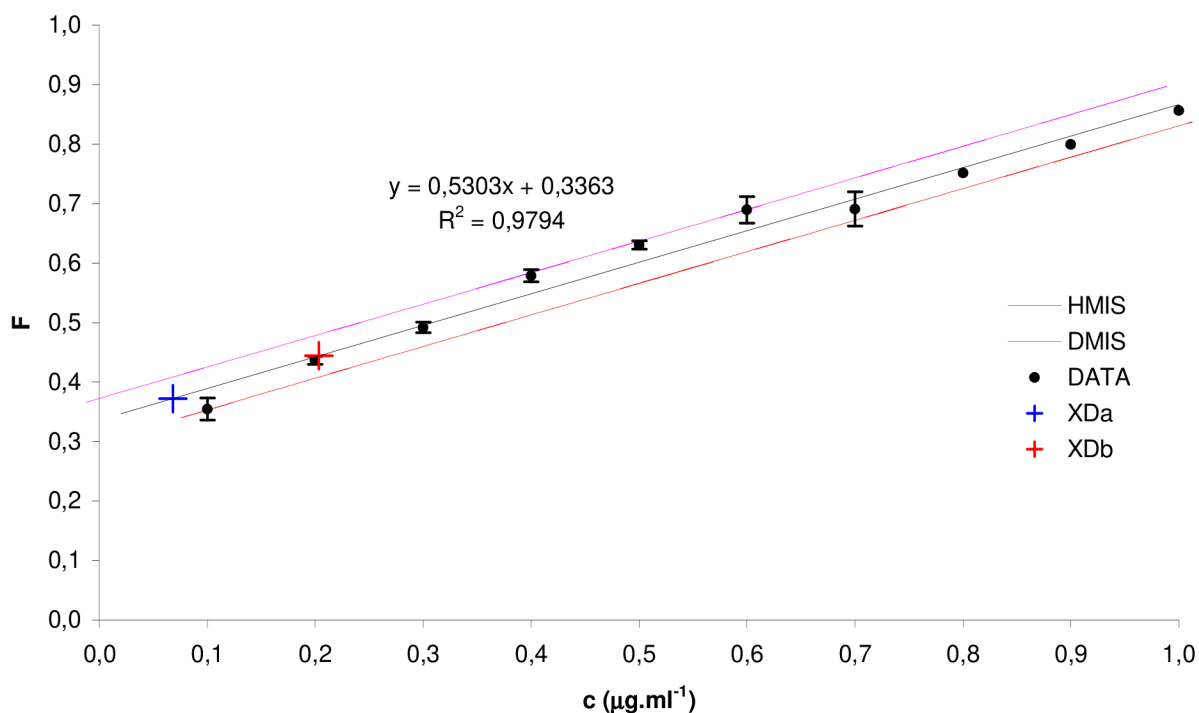
Obr. 59: Kalibrační závislost s intervaly spolehlivosti pro  $0,1 - 1 \mu\text{g.ml}^{-1} \text{Sc}^{3+}$  a lumogallionu  $1,11 \cdot 10^{-4} \text{mol.l}^{-1}$  při  $\text{pH} = 5$  a  $E = 845 \text{ V}$ .

### 5.3.5. První derivace excitačně fluorescenčních spekter komplexu

Spektra první derivace excitačních i emisních spekter byla naměřena za stejných optimálních podmínek za jakých byla měřena normální spektra. Přičemž  $\lambda_{\text{max(em)}} = 645 \text{ nm}$  a  $\lambda_{\text{max(ex)}} = 565 \text{ nm}$ .



Obr. 60: První derivace excitačních a emisních (b) spekter komplexu s měnící se koncentrací skandia v přítomnosti  $5,56 \cdot 10^{-5} \text{mol.l}^{-1}$  lumogallionu při  $E = 845 \text{ V}$  při  $\text{pH} 5$ .  
 $1 - 1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ,  $2 - 0,8 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ,  $3 - 0,6 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ,  $4 - 0,4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ,  $5 - 0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ,  $6 - 0 \mu\text{g.ml}^{-1}$



Obr. 61: Kalibrační závislost ze spekter prvních derivací původní kalibrační závislosti komplexu získaná metodou peak to peak.

Tab. 12: Kalibrační závislost a první derivace této závislosti

kalibrační závislost	regresní rovnice	detekční limit podle IUPAC ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	detekční limity podle Grahama ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )
základní	$y = 15,925x + 12,085$	$X_b = 0,157$	$X_D^\alpha = 0,04$ $X_D^\beta = 0,13$
první derivace	$y = 0,5303x + 0,3363$	$X_b = 0,154$	$X_D^\alpha = 0,07$ $X_D^\beta = 0,20$

V případě lumogallionu se detekční limit vypočítaný podle IUPACu téměř shoduje u normální kalibrační funkce a její první derivace. Detekční limity podle Grahama se u derivace opět zvýšily. Derivace byla vyhodnocena opět metodou peak to peak.

## 5.4. Aplikace stanovení $\text{Sc}^{3+}$ s použitím 8-hydroxychinolin-5-sulfonové kyseliny na různé typy vod

### 5.4.1. Optimalizovaný postup

Do kádinky 25 ml se ke vzorku vody napipetuje požadovaný objem standardního přídávku. Přidá se 1,6 ml  $1,78 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  kyseliny 8-hydroxychinolin-5-sulfonové, po promíchání se objem roztoku upraví přibližně na 20 ml destilovanou vodou. Následuje upravení pH na hodnotu 4,5 pomocí zředěných roztoků hydroxidu sodného a kyseliny chlorovodíkové. Upravený roztok se kvantitativně převede do odměrné baňky a doplní na objem 25 ml destilovanou vodou. Po dvou hodinách je změřena fluorescence při  $\lambda_{\text{ex}} = 362 \text{ nm}$  a  $\lambda_{\text{em}} = 503 \text{ nm}$ , při laboratorní teplotě  $20^\circ\text{C}$ .

Přirozený obsah  $\text{Sc}^{3+}$  v jednotlivých vodách je pod detekčním limitem při použití fluorescence, proto bylo použito několik standardních přídávků.

Naměřené hodnoty fluorescence byly přepočteny na teoretickou hodnotu kalibrační křivky v destilované vodě s použitím vztahu:

$$F = \frac{b_0}{b_n} \cdot F' \quad (10)$$

kde  $b_0$  a  $b_n$  jsou směrnice pro destilovanou vodu a analyzovanou vodu a  $F'$  jsou naměřené hodnoty fluorescence pro analyzovanou vodu.

Výsledná koncentrace  $\text{Sc}^{3+}$  v roztoku, pak byla vypočtena z teoretické kalibrační závislosti, přičemž u všech kalibračních závislostí bylo před výpočtem odečteno pozadí.

Druhý způsob vyhodnocení je výpočet koeficientu, který se v případě destilované vody rovná 1, čím více se bude hodnota koeficientu lišit, tím více se stanovení v reálném vzorku vody liší od stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  v destilované vodě v důsledku vlivu matrice a dochází k chybě stanovení.

Výpočet koeficientu je podle vztahu:

$$k = \frac{F'}{F} \quad (15)$$

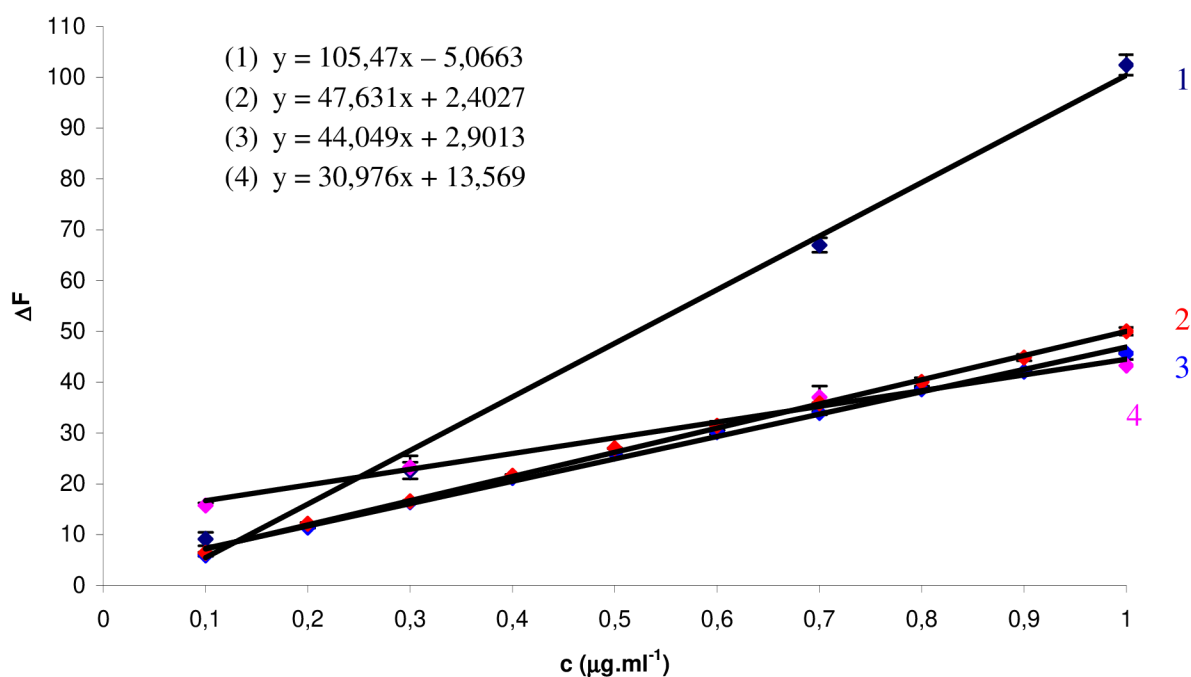
kde  $F'$  je fluorescence roztoku ve vzorku vody a  $F$  je fluorescence roztoku v destilované vodě.

Funkce byly lineární v rozsahu  $0,1 - 1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ . Byly naměřeny čtyřbodové kalibrační křivky. Každá koncentrace byla změřena třikrát a vyhodnocení bylo provedeno z kalibrační křivky po přidání standardního přídávku pro daný druh analyzované vody.

V jednotlivých vodách byly stanoveny makroelementy metodou ICP-AES

Tab. 13: Koncentrace běžných makroelementů určené pomocí ICP-AES.

$\text{mg.l}^{-1}$	Potok Ještědka	Minerální voda Rajec	Voda z Tatranského Plesa
$\text{Na}^+$	0,4010	-	1,277
$\text{K}^+$	0,8833	0,024	-
$\text{Ca}^{2+}$	47,53	145,5	4,459
$\text{Mg}^{2+}$	4,197	16,48	0,2244
$\text{Fe}^{3+}$	0,0797	-	-
$\text{Al}^{3+}$	0,3612	0,400	-



Obr. 62: Kalibrační závislosti pro jednotlivé vody při stejném  $E = 700$  V. (1) Minerální voda Rájec, (2) teoretická kalibrační závislost v destilované vodě, (3) Voda z Tatranského Plesa, (4) Potok Ještědka.

Tab. 14: Reálná hodnota  $Sc^{3+}$  ve vodách při daném standardním přídávku, vypočítaná pomocí výše uvedeného vzorce a z teoretické kalibrační závislosti v destilované vodě<sup>a</sup>:

$Sc$ ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	Potok Ještědka	%	Minerální voda Rajec	%	Voda z Tatranského Plesa	%
1	$1,347 \pm 0,015$	$135 \pm 1,5$	$0,921 \pm 0,019$	$92 \pm 2$	$0,987 \pm 0,003$	$99 \pm 0,3$
0,7	$1,145 \pm 0,058$	$164 \pm 8$	$0,585 \pm 0,014$	$84 \pm 2$	$0,720 \pm 0,008$	$103 \pm 1$
0,3	$0,908 \pm 0,067$	$303 \pm 22$	$0,164 \pm 0,015$	$55 \pm 5$	$0,322 \pm 0,002$	$107 \pm 0,6$
0,1	$0,394 \pm 0,010$	$394 \pm 10$	$0,036 \pm 0,012$	$36 \pm 12$	$0,083 \pm 0,003$	$83 \pm 3$

a vyhodnoceno podle Deana-Dixona ze tří hodnot pro každý přídavek

Tab. 15: Vypočtené hodnoty koeficientů pro jednotlivé standardní přídávky  $Sc^{3+}$  v různých druzích vod:

$Sc$ ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	Destilovaná voda	Potok Ještědka	Minerální voda Rajec	Voda z Tatranského Plesa
1	1	0,96	2,05	0,91
0,7	1	1,17	1,87	0,95
0,3	1	2,02	1,37	0,99
0,1	1	2,38	1,42	0,91

## 6. ZÁVĚR

Bylo podrobně studováno fluorimetrické stanovení s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou (8-HQS). Pro porovnání bylo provedeno také základní zhodnocení reakce  $\text{Sc}^{3+}$  s dvěma vybranými činidly morinem (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon) a lumogallionem (5-chloro-3-[(E)-(2,4-dihydroxyfenyl)azo]-hydroxybenzensulfonová kyselina).

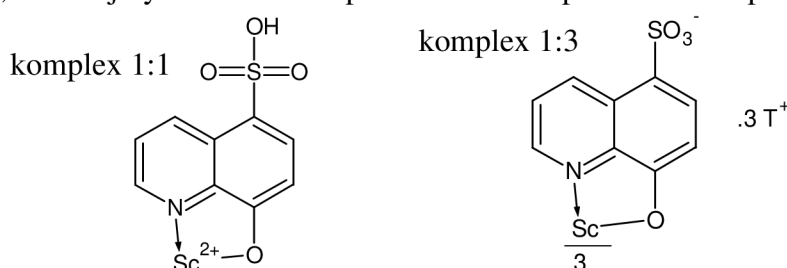
Kyselina 8-hydroxychinolin-5-sulfonová vytváří rozpustné komplexy většího počtu kovů:  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ce}^{3+}$  a  $\text{Al}^{3+}$  [37,38], které v optimálních podmínkách fluoreskují, přičemž samotné činidlo nevykazuje žádnou fluorescenci v širokém rozmezí pH 1-12.

Optimální pH pro komplex  $\text{Sc}^{3+}$  s 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou kyselinou je 4,5 pro 5násobný molární nadbytek činidla ( $1,11 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ). Vzniká zeleně fluoreskující komplex s excitačním a emisním maximem 362 nm a 503 nm. Tento komplex vykazuje konstantní fluorescenci v průběhu minimálně dvou hodin.

Kalibrační závislosti komplexu mají za různých podmínek striktně lineární průběh v rozsahu  $0,05 - 1 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ . Kalibrační funkce byly vyhodnoceny podle Dean-Dixona [46], Grahama [26] a IUPACu [30] včetně detekčního limitu. Byla vyhodnocena i první derivace kalibračních funkcí metodou peak to peak. Bohužel vyhodnocení křivek prvních derivací nepřináší podstatnější výhody pro fluorimetrické stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  se studovanými činidly.

Bylo zjištěno, že kationtové tenzidy výrazným způsobem zvyšují intenzitu fluorescence komplexu, s výjimkou tenzidů na bázi pyridinu. Maximální vliv takových tenzidů byl pozorován už v submicelárních koncentracích. Nejvýraznější efekt byl pozorován pro zephyramin, u kterého došlo k významnému zvýšení směrnice kalibrační závislosti a to 7,75krát vůči závislosti bez tenzidu. U komplexu v přítomnosti zephyraminu byl pozorován malý bathochromní posun u excitačního maxima o 25 nm na 387 nm, u emisního maxima se žádný posun neprojevil. U aniontových tenzidů dochází také k úplnému zhášení fluorescence komplexu, a to už po přidání minimálního množství tenzidu. U neiontových tenzidů nedochází téměř k žádné změně fluorescence, jejich vliv je nevýznamný.

Metodou kontinuálních variací bylo zjištěno, že v přítomnosti kyseliny 8-hydroxychinolin-sulfonové vzniká komplex ve stechiometrickém poměru  $\text{Sc:L} = 1:1$ . Po přidání  $0,0012 \text{ mol.l}^{-1}$  zephyraminu, vzniká jiný neutrální komplex s molárním poměrem komponent  $\text{Sc:L} = 1:3$ .



Pro úpravu pH byly také použity čtyři různé tlumivé systémy, které však výrazně snižovaly intenzitu fluorescence komplexu. Pro hexamethylentetramin v koncentraci  $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$  byl negativní vliv na fluorescenci nejnižší. Proto byla také pro tento tlumič sestrojena kalibrační závislost, která má lineární průběh, ovšem citlivost systému klesla o 30%. Také byl tlumič použit i v přítomnosti zephyraminu, sestrojená kalibrační závislost opět ukázala pokles citlivosti metody o 30%. Proto bylo nadále pH upravováno pomocí zředěných roztoků NaOH a HCl.

Fluorimetrické stanovení  $\text{Sc}^{3+}$  s 8-HQS ruší větší počet kationtů a aniontů, jejich interference byla podrobně sledována. Jako největšími negativními interferenty se projevíly  $\text{Fe}^{3+}$  (v molárním poměru 1:5, negativní vliv  $\text{Fe}^{3+}$  lze podstatně snížit redukcí na  $\text{Fe}^{2+}$  kyselinou askorbovou),  $\text{F}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  (v poměru 1:1). Naopak  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$  fluorescence komplexu zvyšovaly, a to v molárních poměrech uvedených v obr. 40. Zvláště výrazné zvýšení fluorescence působí již ekvimolární koncentrace  $\text{Al}^{3+}$ , kterou nelze selektivně maskovat. V přítomnosti lehkých lanthanoidů (Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd) došlo k poklesu fluorescence v molárním poměru 1:10 v průměru o 10 %. Rušící vliv byl prověřen i v systému s přítomností zephyraminu. V tomto případě dochází k výraznějšímu zhášení fluorescence než v systému bez přítomnosti tenzidu, jak je patrné z obr. 41. Zde se již žádné zvýšení fluorescence u žádného prvku neprojevílo.

Pro porovnání reakce  $\text{Sc}^{3+}$  s 8-HQS bylo provedeno pouze základní studium reakce  $\text{Sc}^{3+}$  s morinem (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavon) a  $\text{Sc}^{3+}$  s lumogallionem (5-chloro-3-[(E)-(2,4-dihydroxyfenyl)azo]-hydroxybensulfonová kyselina). V přítomnosti morinu vzniká zeleně fluoreskující komplex při pH 2,5 s excitačním maximem 410 nm a s emisním maximem 493 nm. Fluorescence komplexu se nemění minimálně po dobu dvou hodin. Optimální je 10násobný molární nadbytek činidla. Závislost fluorescence na ethanolu lineárně stoupá do koncentrace 68% (v/v), při vyšším obsahu ethanolu dochází k výraznému poklesu fluorescence komplexu. Kalibrační závislost komplexu je rovněž lineární v rozsahu 0,1 – 1  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

V přítomnosti lumogallionu vzniká oranžově fluoreskující chelát při optimálním pH 5, s excitačním maximem 497 nm a s emisním maximem 604 nm. Intenzita fluorescence s časem mírně stoupá. Optimální je 5násobný molární nadbytek činidla vůči kovu. Kalibrační závislost je opět lineární v rozsahu 0,1 – 1  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Lumogallion je nevhodným činidlem pro  $\text{Sc}^{3+}$ , i když vykazuje lineární průběh kalibrační funkce pro stejný rozsah koncentrace  $\text{Sc}^{3+}$ . Vykazuje totiž sám poměrně výrazné fluorescenční pozadí při  $\lambda_{\text{em}} = 585$  nm. Je to způsobeno vysokým napětím  $E \geq 845$  V, které bylo nutné použít pro malou fluorescenci vlastního komplexu.

Tab. 16: Meze detekce vypočtené ze základních kalibračních funkcí pro studovaná činidla

	<b>8-hydroxychinolin-5-sulfonová kyselina</b>	<b>morin</b>	<b>lumogallion</b>
napětí	700 V	505 V	845 V
regresní rovnice	$y = 48,499x + 2,4661$	$y = 25,813x + 3,2706$	$y = 15,925x + 12,085$
pH	4,5	2,5	5
$X_D^\alpha$	0,02	0,03	0,04
$X_D^\beta$	0,07	0,09	0,13
$X_b$	0,005	0,01	0,16

Tab. 17: Meze detekce vypočtené z prvních derivací základních kalibračních funkcí pro stanovovaná činidla, po vyhodnocení derivačních spekter metodou peak to peak:

	<b>8-hydroxychinolin-5-sulfonová kyselina</b>	<b>morin</b>	<b>lumogallion</b>
napětí	700 V	505 V	845 V
regresní rovnice	$y = 1,3884x + 0,0448$	$y = 1,1809x + 0,1959$	$y = 0,5303x + 0,3363$
pH	4,5	2,5	5
$X_D^\alpha$	0,02	0,04	0,07
$X_D^\beta$	0,06	0,12	0,20
$X_b$	0,02	0,06	0,15

Jak je patrné z výše uvedených tabulek, nejlepší meze detekce vykazuje kyselina 8-hydroxychinolin-5-sulfonová, která má nejnižší detekční limity, jak podle postupu podle Grahama tak podle IUPACu. Ze studovaných činidel je kyselina 8-hydroxychinolin-5-sulfonová výrazně nejlepším činidlem pro fluorimetrické stanovení skandia.

Optimalizovaná metoda s kyselinou 8-hydroxychinolin-5-sulfonovou byla aplikována na reálné vzorky vod. Přirozený obsah  $Sc^{3+}$  v jednotlivých vodách je pod detekčním limitem při použití fluorescence, proto byly vyhodnoceny přímo standardní přídatky.

Bylo zjištěno, že ve vodě z Tatranského Plesa a v minerální vodě Rajec není přítomno žádné skandium. Byla potvrzena přítomnost skandia v Ještědce v průměru  $0,424 \pm 0,04 \mu g \cdot ml^{-1}$ , přičemž výsledek může být do značné míry zkreslen přítomností ostatních prvků, které jsou ve vodě obsaženy. Pro porovnání byla provedena analýza ve vodě běžných prvků v makrokoncentracích metodou ICP-AES. Relativně značné odchylky při vyhodnocování koncentrace  $Sc^{3+}$  pocházejí od anomálií na kalibračních závislostech v důsledku zvýšených koncentrací  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$  a iontů alkalických kovů, přičemž pro  $Mg^{2+}$  a  $Al^{3+}$  vzniká rovněž fluoreskující komplex s 8-HQS, případně dochází k výraznému zhášení fluorescence při nadbytku iontů alkalických kovů a především  $Fe^{3+}$ .

Pro zvýšený vliv přítomných makroelementů  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  alkalických kovů, ale také  $Fe^{3+}$  a  $Al^{3+}$  nelze zpravidla spolehlivě fluorimetricky stanovit  $Sc^{3+}$  ve vodách bez předchozího oddělení  $Sc^{3+}$  [18,20,51] nebo shora uvedených makroelementů.

## 7. LITERATURA

[1] KATYAL, Mohan, PRAKASH, Shri. Analytical reactions of hydroxyflavones. *Talanta*. 1977, vol. 24, s. 367-375.

[2] NAZARENKO, V. A., ANTONOVIČ, V. P. A study of the chemistry of reactions of polyvalent element ions with organic reagents : The interaction of scandium with polyhydroxyflavones. *Zh. Analit. Khim.*. 1967, č. 22, s. 1812-1817.

[3] NAZARENKO, V.A. , ANTONOVIČ, V. P. Extraction-photometric nad extraction-fluorimetric determination of scandium as a morin-antipyrine complex. *Zh. Analit. Khim.*. 1969, no. 24, s. 358-361.

[4] KATYAL, Mohan. Flavones as analytical reagents - Review. *Talanta*. 1968, no. 15, s. 95-106.

[5] SCANDIUM - U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, January 2007 [online]. [cit 2008-05-02].

Dostupné z <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/scandium/scandmcs07.pdf>

[6] ZEL'TSER, L.E., MOROZOVA, L.A., TALIPOV, Sh. T. Fluorimetric determination of aluminium, scandium, zirconium, and hafnium in natural and waste water with polyhydroxyflavones.. *Zh. Analit. Khim.*. 1980, no. 35, s. 97-103.

[7] GLADILOVICH, D. B., GRIGOR'EV, N. N., STOLYAROV, K. P. Fluorimetric determination of scandium by 2-Hydroxy-3-naphthoic acid. *Zh. Analit. Khim.*. 1980, no. 35, s. 1283-1287.

[8] KUZYAKOVA, N. Yu., GOLOVINA, A. P. Extraction-fluorimetric determination of scandium as ion associate involving 5,7-dinitro-8-hydroxyquinoline and rhodamine B. *Zh. Analit. Khim.*. 1983, no. 38, s. 1023-1026.

[9] PATROVSKÝ, Věnceslav. Použití morinu v chemické analýze I. : kvalitativní důkaz některých prvků morinem. *Chem. listy*. 1952, s. 676-679.

[10] MORISIGE, Kiyotoshi. Metal complexes of aromatic schiff base compounds : part II. the fluorescence of beryllium and scandium complexes and their use in fluorimetry. *Analytica Chimica Acta*. 1974, s. 245-254.

[11] POZO, M.E.Urena, et al. Sensitive and selective Fluorimetric determination of scandium with salicylaldehyde carbohydrazone. *Analyst*. 1991, vol. 116, s. 757-760.

[12] WU, Xia, et al. A study on the fluorescence system of Sc-BPMPHD-CTMAB and its analytical application. *Chemical Research in Chinese Universities*. 2000, vol. 16, no. 1, s. 93-95.

[13] TANG, B., et al. Highly sensitive spectrofluorimetric determination of trace amounts of scandium with salicylaldehyde salicyloylhydrazone. *Analyst*. 1998, vol. 123, is. 2, s. 283-286.

[14] TANG, B., et al. Synthesis of salicylaldehyde-5-bromo-salicyloylhydrazone and its fluorescence reaction with scandium. *Chemical Journal of Chinese Universities*. 1997, vol. 18, is. 6, s. 883-885.

[15] WATANABE, K, KAMAGATA, T, ITAGAKI, M. Solvent extraction-fluorimetric determinations of scandium and yttrium with 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde semicarbazone. *Bunseki kagaku*. 1995, vol. 44, is. 8, s. 609-615.

[16] BAYES, C. F., MESSNER, R. E. *The hydrolysis of cations*. New York : Wiley and Sons, 1976. 500 s.



- [17] SOMMER, Lumír, et al. *Základy analytické chemie II*. 1. vyd. Brno : VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [18] MARCZENKO, Z. *Separation and spectrophotometric determination of elements*. [s.l.] : Ellis Horwood series in analytical chemistry, 1986. 600 s.
- [19] TICHÝ, Miloň. *Toxikologie pro chemiky : Toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*. Praha : [s.n.], 1998. 250 s.
- [20] PATROVSKÝ, Věnceslav. *Analytická chemie vzácných prvků*. 1. vyd. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1956. 168 s.
- [21] SOMMER, Lumír, et al. *Teorie a praxe vybraných optických analytických metod*. 1. vyd. Brno : Státní pedagogické nakladatelství, 1978. 286 s.
- [22] SOMMER, Lumír. *Analytická spektrometrie I.* 1. vyd. Brno : Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 173 s.
- [23] HINZE, W. L., et al. Micellar enhanced analytical fluorimetry. *Trends. Anal. Chem.*, vol. 3, 1984, no. 8, s. 193-199.
- [24] VOSMANSKÁ, M, HOLZBECHER, Z. Tenzidy a cyklodextriny ve fluorometrii. *Chem. listy*. 1987, sv. 81 s. 1170-1181.
- [25] HINZE, W. L. *Use of surfactant and micellar systems in analytical chemistry, solution chemistry of surfactants*. New York : Plenum Press, 1979. 320 s.
- [26] GRAHAM, R. C. *Data analysis for the chemical sciences*. New York : VCH Publishers, 1993. 430 s.
- [27] ČSN ISO 8466: Kalibrace a hodnocení analytických metod a určení jejich charakteristik. *Český normalizační institut*. 1993, č. 01 75 7031, s. 20.
- [28] SOMMER, Lumír, HNILIČKOVÁ, Marie. Sur la méthode des variations continues et son application aux complexes. *Bulletin de la Société chimique de France*. 1959, t. 36, no. 6, s. 5.
- [29] SOMMER, L, KUBÁŇ, V, HAVEL, J. Spectrophotometric studies of the complexation in solution. *Univerzita J. E. Purkyně*. 1970, no. 6, s. 10.
- [30] IUPAC : Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Analytica Chimica Acta*. 2000, vol. 52, no. 2242, s. 50.
- [31] ChromSpec spol. s r.o. – Přístrojová technika pro laboratoře [online]. [cit. 2008-03-25].  
Dostupné z <http://www.chromspec.cz/produkty/detail.php?name=amincobowman>
- [32] HERKULES, D. M. *Fluorescence and phosphorescence analysis*. New York : Interscience, 1966. 258 s.
- [33] REMY, Heinrich. *Anorganická chemie : II. díl*. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1962. 1000 s.
- [34] GREENWOOD, N. N., EARNSHAW, A. *Chemie prvků*. Praha : Informatorium, 1993. 350 s.
- [35] RICHENS, David T. *The Chemistry of Aqua Ions : Synthesis, structure and reactivity*. Chichester : John Wiley and Sons, 1997. 592 s.
- [36] VALEUR, B. *Molecular Fluorescence : Principles and Applications*. Wiley-VCH : Verlag GmbH, 2002. 399 s.
- [37] BISHOP, J. A. Complex Formation and Fluorescence : 1. Complexes of 8-Hydroxyquinoline-5-Sulfonic Acid. *Analytica Chimica Acta*. 1963, no. 29, s. 172-177.
- [38] BISHOP, J. A. Complex Formation and Fluorescence : 2. Use of 8-Hydroxyquinoline-5-Sulfonic Acid as an Indicator. *Analytica Chimica Acta*. 1963, no. 29, s. 178-183.

- [39] BISHOP, J. A. Complex Formation and Fluorescence : 4. 8-Quinolinol-5-Sulfonic Acid as a Titrant Bivalent Cations. *Analytica Chimica Acta*. 1966, no. 35, s. 224-230.
- [40] SOROKA, Krystyna , et al. Fluorescence Properties of Metal Complexes of 8-Hydroxyquinoline-5-Sulfonic Acid and Chromatographic Applications. *Analytical Chemistry*. 1987, no. 59, s. 629-636.
- [41] PHILLIPS, Denise A., et al. Enhancement and Quenching of Fluorescence of Metal Chelates of 8-Hydroxyquinoline-5-Sulfonic Acid. *Mikrochimica Acta*. 1986, no. 1, s. 207-220.
- [42] ALONSO, J. I. G., GARCIA, M. E. D., MEDEL, A. S. The Surfactant-Sensitized Analytical Reaction of Niobium with 8-Hydroxyquinoline-5-Sulphonic Acid. *Talanta*. 1984, no. 31, s. 361-366.
- [43] Science section: Spectro-Photo-Fluorometer [online]. [cit 2008-02-06].  
Dostupné z <http://history.nih.gov/exhibits/bowman/ScienSPF.htm>
- [44] PILIPENKO, A. T., VOLKOVA, A. I., PSHINKO, G. N. Mechanism of the Effect of Surfactants on Fluorescent Reactions. *Journal of Analytical Chemistry of the Ussr*. 1981, no. 36, s. 1501-1508.
- [45] ALVAREZ, M. J. G., GARCIA, M. E. D., SANZMEDEL, A. Exploitation of Synthetic Surfactant Vesicles for Enhanced Fluorescence of Metal-Chelates. *Analytica Chimica Acta*. 1990, no. 234, s. 181-186.
- [46] DEAN, R. B., DIXON, W. J. Simplified Statistics for Small Numbers of Observations. *Analytical Chemistry*. 1951, no. 23, s. 636-638.
- [47] MATRKA, Miroslav, RUSEK, Vlastimil. *Průmyslová toxikologie : Úvod do obecné a speciální toxikologie*. Pardubice : Univerzita Pardubice, 1994. 350 s.
- [48] PARKER, C. A., REES, W. T. Fluorescence Spectrometry. *A Review* 87. 1962, no. 24, s. 83-111.
- [49] HOLZBECHER, Z. Pokroky v instrumentaci a metodice fluorimetrie. *Chemické listy*. 1986, č. 80, s. 1018-1033.
- [50] HOLZBECHER, Z. *Luminiscenční analýza*. Praha : ČSAV, 1957. 359 s.
- [51] An Accurate Determination of Rare Earths and Scandium in South African Carbonatites Using Separation by Ion Exchange Chromatography. *Analytical Chemistry*. 1966, no. 38, s. 127-128.

## **8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK**

8-HQS – Kyselina 8-hydroxychinolin-5-sulfonová  
MES – Kyselina 2-(N-Morpholino)ethansulfonová  
BDMHAC – benzyldimethylhexadecylammonium chlorid  
HTMAC – hexadecyltrimethylammonium chlorid  
DPC – decylpyridinium chlorid  
TPB – tetradecylpyridinium bromid  
HPC – hexadecylpyridinium chlorid  
CMC – kritická micelární koncentrace  
SDS – dodecylsulfát sodný  
HTMA – hexamethylentetramin