

METODY PRO ZKOUŠENÍ FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH A VÝBUŠNÝCH VLASTNOSTÍ

I. METODY PRO STANOVENÍ BODU TÁNÍ / BODU TUHnutí – metody uvedené v bodu A.1 přílohy směrnice Komise 92/69/EHS ze dne 31. července 1992, kterou se po sedmnácté přizpůsobuje technickému pokroku směrnice Rady 67/548/EHS o sblížení správních a právních předpisů týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných látek (dále jen „směrnice 92/69/EHS“)

I.1 METODA

Většina dále popsaných metod je založena na Pokynech OECD pro zkoušení (1). Jejich základní principy jsou uvedeny v literatuře (2) a (3).

I.1.1 ÚVOD

Popsané metody a přístroje jsou určeny ke stanovení bodu tání látek bez omezení z hlediska stupně jejich čistoty.

Výběr metody závisí na povaze látky, která má být zkoumána. Omezením bude tedy skutečnost, zda lze danou látku rozmělnit na prášek snadno, obtížně nebo zda ji nelze rozmělnit.

U některých látek je vhodnější stanovení bodu tuhnutí nebo krystalizace a normalizované metody pro tato stanovení jsou v této metodě rovněž uvedeny.

Nelze-li vzhledem ke zvláštním vlastnostem látky dobře stanovit žádný z uvedených parametrů, může být vhodné stanovit bod tekutosti.

I.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Bod tání je definován jako teplota, při níž dochází za atmosférického tlaku k přechodu z tuhého do kapalného skupenství a která za ideálních podmínek odpovídá bodu tuhnutí.

Vzhledem k tomu, že u mnoha látek dochází k fázovému přechodu v rozmezí teplot, je toto rozmezí často nazýváno rozmezím bodu tání.

Přepočítání jednotek (K na °C):

$$t = T - 273,15$$

t - Celsiova teplota, stupně Celsia (°C)

T - termodynamická teplota, kelvin (K)

I.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Při vyšetřování nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provedení metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

Některé kalibrační látky jsou uvedeny v literatuře (4).

I.1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍCH METOD

Stanovuje se teplota (teplotní rozmezí) fázového přechodu z tuhého do kapalného skupenství nebo z kapalného do tuhého skupenství. V praxi se při zahřívání/ochlazování vzorku zkušební látky za atmosférického tlaku stanoví teploty počátku tání/tuhnutí a konce tání/tuhnutí. Je popsáno pět typů metod, jmenovitě kapilární metoda, metody používající zahřívací bloky, stanovení bodu tuhnutí, metody termické analýzy a stanovení bodu tekutosti (vyvinuto pro minerální oleje).

V některých případech může být vhodné měřit bod tuhnutí místo bodu tání.

I.1.4.1 Kapilární metoda

I.1.4.1.1 *Zařízení pro stanovení bodu tání s kapalinovou lázní*

Malé množství jemně rozmělněné látky se vpraví do kapiláry a zhutní se. Kapilára se zahřívá spolu s teploměrem, přičemž se rychlost nárůstu teploty během tání nastaví na méně než $1 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$. Stanoví se teploty počátku a konce tání.

I.1.4.1.2 *Zařízení pro stanovení bodu tání s kovovým blokem*

Provádí se podobně jako v bodě 1.4.1.1 s tím rozdílem, že kapilára a teploměr jsou umístěny v kovovém vyhřívaném bloku a pozorují se otvory v bloku.

I.1.4.1.3 *Detekce fotočlánkem*

Vzorek v kapiláře se automaticky zahřívá v kovovém válci. Otvorem ve válci prochází látkou světelný paprsek na přesně kalibrovaný fotočlánek. Při tání mění většina látek optické vlastnosti a z neprůhledných se mění na průhledné. V tomto okamžiku vzroste intenzita světla dopadajícího na fotočlánek a do zařízení odečítajícího teplotu platinového odporového teploměru umístěného v topné komůrce je vyslán signál k zastavení zaznamenávání. Tato metoda není vhodná pro některé silně zbarvené látky.

I.1.4.2 **Zahřívací bloky**

I.1.4.2.1 *Koflerův zahřívací stolek*

Koflerův zahřívací stolek je tvořen dvěma kovovými částmi s různou teplotní vodivostí, je vyhříván elektricky a je konstruován tak, že teplotní gradient je po jeho délce téměř lineární. Teplota stolku se může měnit od 283 do 573 K; stolek je vybaven speciálním zařízením pro odečítání teploty, tvořeným jezdcem s ukazatelem a stupnicí navrženou pro daný stolek. Pro stanovení bodu tání se látka nanese v tenké vrstvě přímo na povrch stolku. Během několika sekund se vytvoří ostrá dělicí linie mezi kapalnou a tuhou fází. Teplota v místě dělicí linie se odečte po nastavení ukazatele na tuto dělicí linii.

I.1.4.2.2 *Tavicí mikroskop*

Pro stanovení bodu tání velmi malých množství látek se používají různé typy mikroskopů s ohřívacím stolcem. Většina ohřívacích stolců využívá k měření teploty citlivé termočlánky, používají se však i rtuťové teploměry. Typický přístroj pro stanovení bodu tání pomocí mikroskopu s ohřívacím stolcem má ohřívací komoru s kovovou deskou, na kterou se umístí vzorek na podložním sklíčku. Ve středu kovové desky je otvor, kterým může procházet světelný paprsek odražený osvětlovacím zrcátkem mikroskopu. Při měřeních se ohřívací komora přikryje skleněnou destičkou, aby se omezila cirkulace vzduchu v místě, kde se nachází vzorek.

Ohřev vzorku se kontroluje regulačním odporem. Pro velmi přesná měření opticky anisotropních látek lze používat polarizované světlo.

I.1.4.2.3 *Menisková metoda*

Tato metoda se používá především pro polyamidy.

Vizuálně se stanoví teplota, při které se zřetelně posune meniskus silikonového oleje uzavřeného mezi ohřívacím blokem a skleněnou krycí destičkou umístěnou na vzorku zkoušeného polyamidu.

I.1.4.3 **Metoda stanovení bodu tuhnutí**

Vzorek se vloží do speciální zkumavky, která se umístí do přístroje pro stanovení bodu tuhnutí. Během ochlazování se vzorek nepřetržitě pomalu míchá a ve vhodných intervalech se odečítá teplota. Jakmile je teplota po několik odečtů konstantní (po odpovídající korekci teploměru), je zaznamenána jako bod tuhnutí.

Podchlazení je nutno zabránit udržováním rovnováhy mezi tuhou a kapalnou fází.

I.1.4.4 Termická analýza

I.1.4.4.1 Diferenční termická analýza (DTA)

Při této technice se zaznamenává teplotní rozdíl mezi danou látkou a referenční látkou, jež jsou podrobeny stejnému řízenému teplotnímu programu. Jestliže u vzorku dojde k fázovému přechodu, který je spojen se změnou enthalpie, je tato změna zaznamenána jako endotermická (tání) nebo exotermická (tuhnutí) odchylka od základní linie záznamu teploty.

I.1.4.4.2 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Při této technice se daná látka a referenční látka podrobí stejnému řízenému teplotnímu programu a zaznamenává se rozdíl energie absorbované danou látkou a referenční látkou jako funkce teploty. Tato energie je energií potřebnou k zachování nulového teplotního rozdílu mezi danou látkou a referenční látkou. Jestliže u vzorku dojde k fázovému přechodu, který je spojen se změnou enthalpie, je tato změna zaznamenána jako endotermická (tání) nebo exotermická (tuhnutí) odchylka od základní linie záznamu tepelného toku.

I.1.4.5 Bod tekutosti

Metoda byla vyvinuta pro minerální oleje a je vhodná pro měření olejovitých látek s nízkým bodem tání.

Po počátečním zahřátí se vzorek určitou rychlostí ochlazuje a v intervalech po 3 K se stanovuje jeho tekutost. Nejnižší teplota, při níž je ještě pozorován pohyb látky, se zaznamená jako bod tekutosti.

I.1.5 KRITÉRIA JAKOSTI

Použitelnost a přesnost různých metod stanovení bodu / rozmezí bodu tání jsou uvedeny v následující tabulce.

TABULKA: POUŽITELNOST METOD

A. Kapilární metody

Metoda měření	Látky, které lze rozmělnit na prášek	Látky, které nelze snadno rozmělnit na prášek	Rozsah teplot	Odhadnutá přesnost ¹⁾	Existující norma
Zařízení pro stanovení bodu tání s kapalinovou lázní	ano	pouze pro několik látek	273 až 573 K	±0,3 K	JIS K 0064
Zařízení pro stanovení bodu tání s kovovým	ano	pouze pro několik	293 až > 573 K	±0,5 K	ISO 1218 (E)

blokem		látek			
Detekce fotočlánkem	ano	pro některé látky s použitím přídavných zařízení	253 až 573 K	±0,5 K	

1) Závisí na typu zařízení a stupni čistoty látky

B. Zahřívací bloky a stanovení bodu tuhnutí

Metoda měření	Látky, které lze rozmělnit na prášek	Látky, které nelze snadno rozmělnit na prášek	Rozsah teplot	Odhadnutá přesnost ¹⁾	Existující norma
Koflerův zahřívací stolek	ano	ne	283 až > 573 K	±1,0 K	ANSI/ASTM D 3451-76
Tavicí mikroskop	ano	pouze pro několik látek	273 až > 573 K	±0,5 K	DIN 53736
Menisková metoda	ne	především pro polyamidy	293 až > 573 K	±0,5 K	ISO 1218 (E)
Metoda stanovení bodu tuhnutí	ano	ano	223 až 573 K	±0,5 K	např. BS 4695

1) Závisí na typu zařízení a stupni čistoty látky

C. Termická analýza

Metoda měření	Látky, které lze rozmělnit na prášek	Látky, které nelze snadno rozmělnit na prášek	Rozsah teplot	Odhadnutá přesnost ¹⁾	Existující norma
Diferenční termická analýza	ano	ano	173 až 1 273 K	do 600 K ±0,5 K do 1 273 K ±2,0 K	ASTM E 537-76

Diferenční skenovací kalorimetrie	ano	ano	173 až 1 273 K	do 600 K ±0,5 K do 1 273 K ±2,0 K	ASTM E 537-76
---	-----	-----	-------------------	--	------------------

¹⁾ Závisí na typu zařízení a stupni čistoty látky

D. Bod tekutosti

Metoda měření	Látky, které lze rozmělnit na prášek	Látky, které nelze snadno rozmělnit na prášek	Rozsah teplot	Odhadnutá přesnost ¹⁾	Existující norma
Teplota tekutosti	pro minerální oleje a olejovité látky	pro minerální oleje a olejovité látky	223 až 323 K	±3,0 K	ASTM D 97-66

¹⁾ Závisí na typu zařízení a stupni čistoty látky

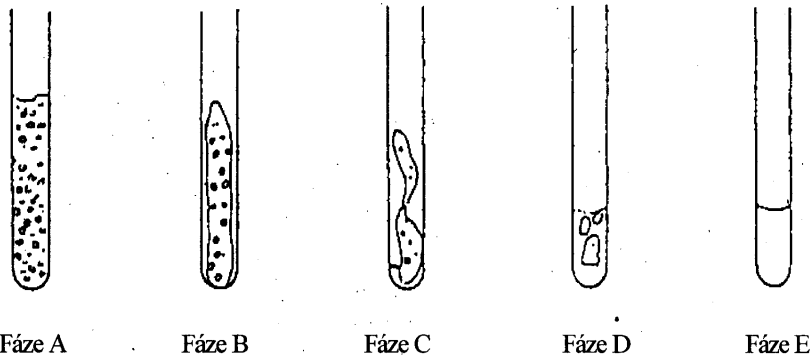
I.1.6 POPIS METOD

Postupy téměř všech těchto zkušebních metod jsou popsány ve vnitrostátních a mezinárodních normách (viz doplněk 1).

I.1.6.1 Kapilární metody

Při pomalém vzestupu teploty lze u jemně práškových látek obvykle rozlišit stupně tání znázorněné na obrázku 1.

Obrázek 1



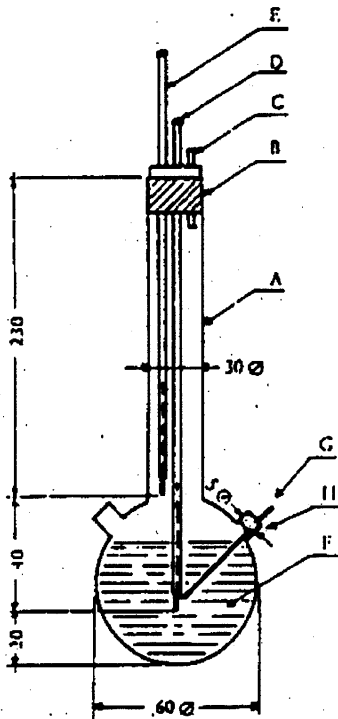
- Fáze A (Počátek tání): na vnitřní straně trubičky se rovnoměrně drží jemné kapičky.
- Fáze B V důsledku smrštění vzorku se mezi vnitřní stěnou a vzorkem tvoří mezera.
- Fáze C Smrštěný vzorek se začíná hroutit dolů a stává se tekutým.
- Fáze D Na povrchu se tvoří úplný meniskus, ale značná část vzorku je dosud tuhá.
- Fáze E (Konečná fáze tání): Vzorek již neobsahuje žádné tuhé částice.

Během stanovení bodu tání se zaznamenávají teploty počátku tání a konečné fáze.

I.1.6.1.1 *Zařízení pro stanovení bodu tání s kapalinovou lázní*

Na obrázku 2 je znázorněna normalizovaná skleněná aparatura pro stanovení bodu tání (JIS K 0064); všechny rozměry jsou uvedeny v milimetrech.

Obrázek 2



- A: Měřicí baňka
B: Zátka
C: Trubicě pro vyrovnání tlaku
D: Teploměr
E: Pomocný teploměr
F: Kapalinová lázeň
G: Skleněná kapilára,
délka 80-100 mm,
vnitřní průměr 1,0 mm \pm 0,2 mm,
síla stěny 0,2 až 0,3 mm
H: Boční hrdlo

Kapalinová lázeň:

Je třeba zvolit vhodnou kapalinu. Volba kapaliny závisí na bodu tání, který má být stanoven např. kapalným parafínem pro stanovení bodu tání nižšího než 473 K, silikonový olej pro stanovení bodu tání nižšího než 573 K.

Pro stanovení bodu tání vyššího než 523 K lze použít směs tří hmotnostních dílů kyseliny sírové a dvou hmotnostních dílů síranu draselného. S tímto typem směsi je třeba pracovat s náležitou opatrností.

Teploměr:

Měly by se používat pouze teploměry, které splňují požadavky norem ASTM E 1-71, DIN 12770, JIS K 8001 nebo rovnocenných norem.

Postup:

Suchá látka se jemně rozetře v třecí misce a vpraví se do kapiláry zatavené na jednom konci, a to tak, aby po ztuhnutí byla kapilára naplněna do výšky přibližně 3 mm. Má-li se dosáhnout stejnoměrného ztuhnutí, nechá se kapilára dopadnout z výšky přibližně 700 mm skleněnou trubicí na hodinové sklíčko.

Naplněná kapilára se vloží do lázně tak, aby se střední část rtuťové baňky teploměru dotýkala kapiláry v místě, kde se nachází vzorek. Kapilára se obvykle vkládá do lázně při teplotě asi o 10 K nižší, než je bod tání.

Lázeň se zahřívá tak, aby vzestup teploty činil přibližně $3 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$. Lázeň se míchá. Asi 10 K pod očekávaným bodem tání se růst teploty upraví na nejvýše $1 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$.

Výpočet:

Bod tání se vypočte takto:

$$T = T_D + 0,00016 (T_D - T_E) n$$

kde:

$T =$ korigovaný bod tání v K

$T_D =$ odečet teploty na teploměru D v K

$T_E =$ odečet teploty na teploměru E v K

$n =$ počet stupňů, o něž rtuťový sloupec teploměru D vyčnívá z kapaliny.

I.1.6.1.2 *Zařízení pro stanovení bodu tání s kovovým blokem*

Přístroj:

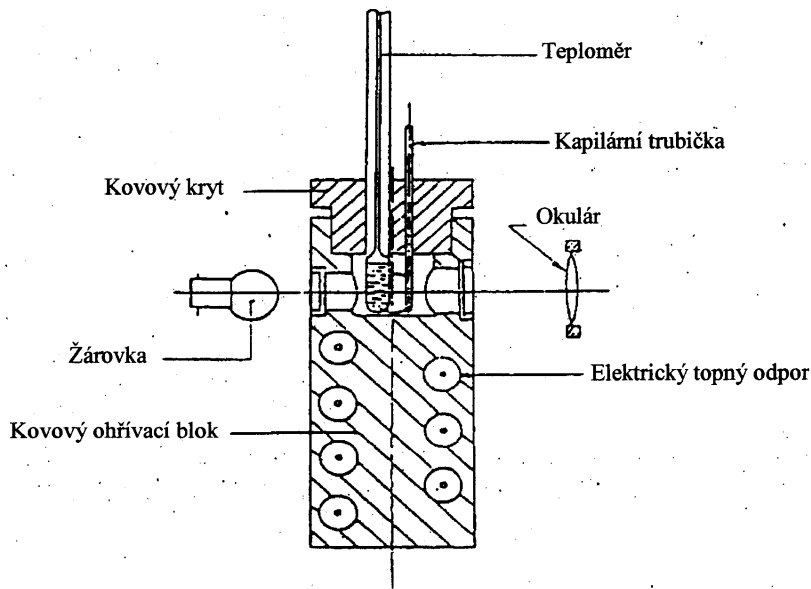
Je tvořen

- válcovým kovovým blokem, jehož horní část je dutá a tvoří komoru (viz obrázek 3),
- kovovou krycí deskou se dvěma nebo více otvory, kterými je možno do kovového bloku zavést trubičky,
- ohřívacím systémem kovového bloku, například elektrickým topným odporem uzavřeným v kovovém bloku,
- regulačním odporem pro regulaci příkonu, je-li použit elektrický ohřev,
- čtyřmi okénky ze žáruvzdorného skla v bočních stěnách ohřívací komory, orientovanými vůči sobě pod pravým úhlem. Před jedním z těchto okének je umístěn okulár pro pozorování kapilární trubičky. Ostatní tři okénka slouží k osvětlení vnitřního prostoru žárovkami,
- kapilární trubičkou ze žáruvzdorného skla zatavenou na jednom konci (viz 1.6.1.1).

Teploměr:

Viz normy uvedené v 1.6.1.1. Je rovněž možné použít termoelektrické měřicí přístroje srovnatelné přesnosti.

Obrázek 3



I.1.6.1.3 *Detekce fotočlánkem*

Přístroj a postup:

Přístroj sestává z kovové komory s automatickým ohřivacím zařízením. Tři kapilární trubičky se naplní podle bodu 1.6.1.1 a umístí se do ohřivací komory.

Pro kalibraci přístroje je k dispozici několik lineárních režimů růstu teploty, přičemž vhodný lineární růst teploty se elektricky nastaví předem zvolenou konstantou. Zaznamenávací zařízení ukazují teplotu v ohřivací komoře a teplotu látky v kapilárách.

I.1.6.2 **Zahřívací bloky**

I.1.6.2.1 *Koflerův zahřívací stolek*

Viz doplněk.

I.1.6.2.2 *Tavicí mikroskop*

Viz doplněk.

I.1.6.2.3 *Menisková metoda (pro polyamidy)*

Viz doplněk.

V oblasti bodu tání by měla být rychlost ohřevu menší než $1 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$.

I.1.6.3 **Metody stanovení bodu tuhnutí**

Viz doplněk.

I.1.6.4 **Termická analýza**

I.1.6.4.1 *Diferenční termická analýza*

Viz doplněk.

I.1.6.4.2 *Diferenční skenovací kalorimetrie*

Viz doplněk.

I.1.6.5 **Stanovení bodu tekutosti**

Viz doplněk.

I.2 **DATA**

V některých případech je nutno provést korekci teploměru.

I.3 **ZPRÁVY**

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- použitá metoda,
- přesná specifikace látky (identita a nečistoty) a popř. informace o provedeném předběžném čištění,
- odhad přesnosti.

Jako bod tání se uvede střední hodnota alespoň dvou měření, jejichž výsledky leží v rozmezí odhadnuté přesnosti (viz tabulky).

Leží-li rozdíl teplot počáteční a konečné fáze tání v mezích přesnosti metody, uvede se jako bod tání konečná teplota, v opačném případě se uvedou obě teploty.

Jestliže se látka před dosažením bodu tání rozkládá nebo sublimuje, uvede se teplota, při které dochází k pozorovanému jevu.

Musí být uvedeny všechny informace a poznámky, které jsou důležité pro interpretaci výsledků, zejména pokud jde o nečistoty a fyzikální stav látky.

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 102, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) IUPAC, B. Le Neindre, B. Vodar, (eds.). Experimental thermodynamics. Butterworths, London, 1975, II, 803-834.
- (3) R. Weissberger (ed.): Technique of organic Chemistry, Physical Methods of Organic Chemistry. 3rd ed., Interscience Publ., New York, 1959, I, Part I, Chapter VII.
- (4) IUPAC, Physicochemical measurements: Catalogue of reference materials from national laboratories, Pure and applied chemistry. 1976, 48, 505-515.

DODATEK

Další technické podrobnosti je možné zjistit například v následujících normách:

1. Kapilární metody

1.1 Přístroje pro stanovení bodu tání s kapalinovou lázní

ASTM E 32-69	Standard test method for relative initial and final melting points and the melting range of organic chemicals
BS 4634	Method for the determination of melting point and/or melting range
DIN 53181	Bestimmung des Schmelzintervalles von Harzen nach Kapillarverfahren
JIS K 00-64	Testing methods for melting point of chemical products

1.2 Přístroje pro stanovení bodu tání s kovovým blokem

DIN 53736	Visuelle Bestimmung der Schmelztemperatur von teilkristallinen Kunststoffen
ISO 1218 (E)	Plastics – polyamides – determination of „melting point“

2. **Zahřívací bloky**

2.1 Koflerův zahřívací stolek

ANSI/ASTM D 3451-76 Standard recommended practices for testing polymeric powder coatings

2.2 Tavicí mikroskop

DIN 53736 Visuelle Bestimmung der Schmelztemperatur von teilkristallinen Kunststoffen

2.3 Menisková metoda (polyamidy)

ISO 1218 (E) Plastics – polyamides – determination of „melting point“

ANSI/ASTM D 2133-66 Standard specification for acetal resin injection moulding and extrusion materials

NF T 51-050 Résines de polyamides. Détermination du „point de fusion“. Méthode du ménisque

3. **Metody stanovení bodu tuhnutí**

BS 4633 Method for the determination of crystallizing point

BS 4695 Method for Determination of Melting Point of Petroleum Wax (Cooling Curve)

DIN 51421 Bestimmung des Gefrierpunktes von Flugkraftstoffen, Ottokraftstoffen und Motorenbenzolen

ISO 2207 Cires de pétrole: détermination de la température de figeage

DIN 53175 Bestimmung des Erstarrungspunktes von Fettsäuren

NF T 60-114 Point de fusion des paraffines

NF T 20-051 Méthode de détermination du point de cristallisation (point de congélation)

ISO 1392 Method for the determination of the freezing point

4. **Termická analýza**

4.1 **Diferenční termická analýza**

ASTM E 537-76 Standard method for assessing the thermal stability of chemicals by methods of differential thermal analysis

ASTM E 473-85 Standard definitions of terms relating to thermal analysis

ASTM E 472-86 Standard practice for reporting thermoanalytical data

DIN 51005 Thermische Analyse, Begriffe

4.2 **Diferenční skenovací kalorimetrie**

ASTM E 537-76 Standard method for assessing the thermal stability of chemicals by methods of differential thermal analysis

ASTM E 473-85 Standard definitions of terms relating to thermal analysis

ASTM E 472-86 Standard practice for reporting thermoanalytical data

DIN 51005 Thermische Analyse, Begriffe

5 **Stanovení bodu tekutosti**

NBN 52014 Echantillonnage et analyse des produits du pétrole: Point de trouble et point d'écoulement limité – Monstereming en ontleding van aardolieproducten: Troebelingspunt en vloeipunt

ASTM D 97-66 Standard test method for pour point of petroleum oils

ISO 3016 Petroleum oils – Determination of pour point.

II. METODY PRO STANOVENÍ BODU VARU – metody uvedené v bodu A.2 přílohy směrnice 92/69/EHS

II.1 METODA

Většina dále popsaných metod je založena na Pokynech OECD pro zkoušení (1). Jejich základní principy jsou uvedeny v literatuře (2) a (3).

II.1.1 ÚVOD

Popsané metody a zařízení lze použít pro kapaliny a látky s nízkým bodem tání, pokud nepodléhají chemickým reakcím pod bodem varu (např. autooxidaci, přesmyku, rozkladu atd.). Metody lze použít jak pro čisté kapalné látky, tak pro kapalné látky obsahující nečistoty.

Přednost mají metody využívající detekci fotočlánkem a metody termické analýzy, protože umožňují stanovení jak bodu tání, tak bodu varu. Tato měření mohou být navíc prováděna automaticky.

„Dynamická metoda“ má tu výhodu, že ji lze použít i ke stanovení tlaku par a přitom není třeba korigovat bod varu na normální tlak (101,325 kPa), neboť ten lze během měření nastavit manostatem.

Poznámky:

Vliv nečistot na stanovení bodu varu závisí ve velké míře na jejich povaze. Jestliže vzorek obsahuje těkavé nečistoty, které mohou ovlivnit výsledky, může být látka přečištěna.

II.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Standardní bod varu je definován jako teplota, při které je tlak par dané kapaliny roven 101,325 kPa.

Jestliže se měření bodu varu neprovádí za normálního tlaku, lze závislost tlaku par na teplotě popsat Clausiovou-Clapeyronovou rovnicí:

$$\log p = \frac{\Delta H_v}{2,3 RT} + \text{konst.}$$

kde

p = tlak par látky v Pa

ΔH_v = výparné teplo v $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$

R = univerzální molární plynová konstanta = $8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$

T = termodynamická teplota v K

Bod varu se uvádí s ohledem na okolní tlak při měření.

Přepočty:

Tlak (jednotka: kPa)

$$100 \text{ kPa} = 1 \text{ bar} = 0,1 \text{ MPa}$$

(jednotka „bar“ je nadále přípustná, její používání se však nedoporučuje)

$$133 \text{ Pa} = 1 \text{ mm Hg} = 1 \text{ torr}$$

(jednotky „mm Hg“ a „torr“ nejsou povoleny)

$$1 \text{ atm} = \text{standardní atmosféra} = 101\,325 \text{ Pa}$$

(jednotka „atm“ není povolena).

Teplota (jednotka: K)

$$t = T - 273,15$$

t - Celsiova teplota, stupeň Celsia ($^{\circ}\text{C}$)

T - termodynamická teplota, kelvin (K)

II.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Při vyšetřování nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provedení metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

Některé kalibrační látky jsou uvedeny v doplňku.

II.1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍCH METOD

Pět metod stanovení bodu varu (teplotního rozmezí bodu varu) je založeno přímo na měření teploty varu, další dvě využívají termální analýzy.

II.1.4.1 Stanovení ebulliometrem

Ebulliometry byly původně vyvinuty pro stanovení molekulové hmotnosti na základě zvýšení teploty varu, jsou však vhodné také pro přesná měření bodu varu. Velmi jednoduchý přístroj je popsán v normě ASTM D 1120-72 (viz doplněk). V tomto přístroji se kapalina zahřívá za rovnovážných podmínek při atmosférickém tlaku, dokud nezačne vřít.

II.1.4.2 Dynamická metoda

Metoda zahrnuje měření teploty kondenzace páry vhodným teploměrem umístěným za varu ve zpětném toku (refluxu). U této metody lze měnit tlak.

II.1.4.3 Destilační metoda pro stanovení bodu varu

Metoda zahrnuje destilaci kapaliny a měření teploty kondenzace páry, přičemž se stanovuje také množství destilátu.

II.1.4.4 Postup podle Siwoloboffa

Vzorek se zahřívá ve zkumavce, která je ponořena do tepelné lázně. Do zkumavky se vzorkem je zasunuta zatavená kapilára, v jejíž spodní části se nachází vzduchová bublinka.

II.1.4.5 Detekce fotočlánkem

Při použití principu unikajících bublinek podle Siwoloboffa se provádí automatické fotoelektrické měření.

II.1.4.6 Diferenční termická analýza

Při této technice se zaznamenává teplotní rozdíl mezi danou látkou a referenčním materiálem jako funkce teploty, přičemž látka a referenční materiál se podrobí témuž řízenému teplotnímu programu. Jestliže u studované látky dojde k fázovému přechodu, který je spojen se změnou enthalpie, je tato změna indikována jako endotermická odchylka (var) od základní linie záznamu teploty.

II.1.4.7 Diferenční skenovací kalorimetrie

Při této technice se látka a referenční materiál podrobí stejnému řízenému teplotnímu programu a zaznamenává se rozdíl energie absorbované látkou a referenčním materiálem jako funkce teploty. Tato energie je energií potřebnou k zachování nulového teplotního rozdílu mezi látkou a referenčním materiálem. Jestliže u vzorku dojde k fázovému přechodu, který je spojen se změnou enthalpie, je tato změna indikována jako endotermická odchylka (var) od základní linie záznamu tepelného toku.

II.1.5 KRITÉRIA JAKOSTI

Použitelnost a přesnost různých metod používaných pro stanovení bodu / teplotního rozmezí bodu varu jsou uvedeny v následující tabulce 1.

TABULKA 1: SROVNÁNÍ METOD

Metoda měření	Odhadnutá přesnost	Existující norma
Stanovení ebulliometrem	$\pm 1,4$ K (do 373 K) ^{1) 2)} $\pm 2,5$ K (do 600 K) ^{1) 2)}	ASTM D 1120-72 ¹⁾
Dynamická metoda	$\pm 0,5$ K (do 600 K) ²⁾	
Destilační metoda (stanovení rozn. varu)	$\pm 0,5$ K (do 600 K)	ISO / R 918, DIN 53171, BS 4591/71
Postup podle Siwoloboffa	± 2 K (do 600 K) ²⁾	

Detekce fotočlánkem	$\pm 0,3$ K (při 373 K) ²⁾	
Diferenční termická analýza	$\pm 0,5$ K (do 600 K) $\pm 2,0$ K (do 1 273 K)	ASTM E 537-76
Diferenční skenovací kalorimetrie	$\pm 0,5$ K (do 600 K) $\pm 2,0$ K (do 1 273 K)	ASTM E 537-76

¹⁾ Tato přesnost platí pouze pro jednoduchý přístroj, popsany např. v normě ASTM D 1120-72; může být zlepšena užitím dokonalejšího ebulliometru.

²⁾ Platí pouze pro čisté látky. Užití za jiných okolností by mělo být zdůvodněno.

II.1.6 POPIS METOD

Postupy některých zkušebních metod jsou popsány v mezinárodních a vnitrostátních normách (viz doplněk).

II.1.6.1 Ebulliometr

Viz doplněk.

II.1.6.2 Dynamická metoda

Viz metoda A.4 pro stanovení tlaku par.

Zaznamenaná se teplota varu naměřená při tlaku 101,325 kPa.

II.1.6.3 Destilační metoda (stanovení rozmezí bodu varu)

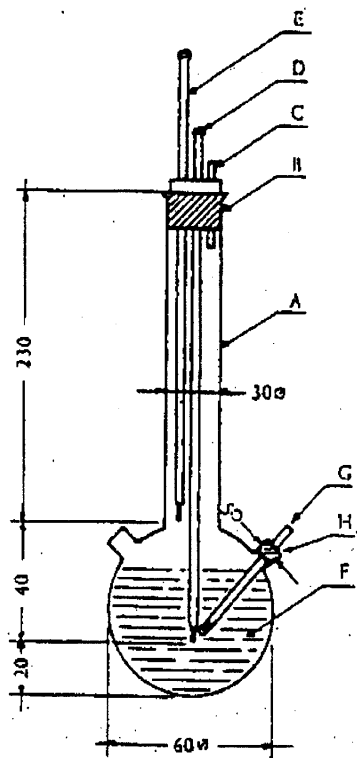
Viz doplněk.

II.1.6.4 Postup podle Siwoloboffa

Vzorek se zahřívá ve zkumavce o průměru přibližně 5 mm v přístroji pro stanovení bodu tání (obrázek 1).

Na obrázku 1 je znázorněn normalizovaný přístroj pro stanovení bodu varu (JIS K 0064) (přístroj je skleněný, všechny rozměry jsou uvedeny v milimetrech).

Obrázek 1



- A: Měřicí baňka
- B: Zátka
- C: Trubice pro vyrovnání tlaku
- D: Teploměr
- E: Pomocný teploměr
- F: Kapalinová lázeň
- G: Zkumavka o vnějším průměru max. 5 mm, v níž je vložena kapilára o délce asi 100 mm s vnitřním průměrem 1 mm a silou stěny přibližně 0,2 až 0,3 mm
- H: Boční hrdlo.

Do zkumavky se vloží kapilára (varná kapilára) zatavená asi 1 cm nad spodním koncem. Zatavená část kapiláry musí ležet pod hladinou kapaliny. Zkumavka obsahující kapiláru se upevní buď pryžovou páskou k teploměru nebo pomocí bočního držáku (viz obrázek 2).

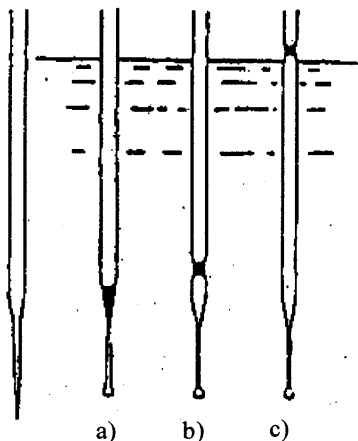
Obrázek 2

Princip podle Siwoloffa



Obrázek 3

Modifikovaný princip



Kapalina pro lázeň se volí podle bodu varu. Pro teploty do 573 K lze použít silikonový olej. Parafinový olej lze použít pouze do 473 K. Kapalina v lázni se zahřívá tak, aby vzestup teploty byl zpočátku asi $3 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$. Lázeň se míchá. Asi 10 K před očekávaným bodem tání se zahřívání snižuje tak, aby nárůst teploty byl nejvýše $1 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$. Krátce před dosažením bodu varu začnou z varné kapiláry rychle unikat bublinky.

Bodu varu je dosaženo, když při ochlazování náhle ustane unikání bublinek a kapalina začne v kapiláře stoupat. Příslušný údaj na teploměru je bodem varu látky.

Modifikovanou metodou (obrázek 3) se bod varu stanovuje v kapiláře pro stanovení bodu tání. Ta se vytáhne do tenké špičky dlouhé asi 2 cm (a) a do ní se nasaje malé množství vzorku. Otevřený konec tenké části kapiláry se zataví tak, aby na konci byla malá vzduchová bublinka. Při zahřívání v aparatuře pro stanovení bodu tání (b) se vzduchová bublinka rozpíná. Bod varu odpovídá teplotě, při které sloupeček látky dosáhne hladiny kapalinové lázně (c).

II.1.6.5 Detekce fotočlánekem

Vzorek se zahřívá v kapiláře ve vyhřívaném kovovém bloku.

Otvory v bloku se vede světelný paprsek tak, aby procházel látkou na přesně kalibrovaný fotočlánek.

Při zvyšování teploty vzorku stoupají z kapiláry jednotlivé vzduchové bublinky. Při dosažení bodu varu počet bublinek značně vzroste. To vede ke změně intenzity světla zaznamenané fotočlánekem a vyvolá signál

v měřicím přístroji, kterým se zastaví zaznamenávání teploty měřené platinovým odporovým teploměrem umístěným v bloku.

Tato metoda je zvláště vhodná, protože umožňuje stanovení teplot nižších než laboratorní teplota až do 253,15 K (-20 °C) bez jakékoli úpravy přístroje. Pouze je třeba umístit přístroj v chladicí lázni.

II.1.6.6 Termická analýza

II.1.6.6.1 *Diferenční termická analýza*

Viz doplněk.

II.1.6.6.2 *Diferenční skenovací kalorimetrie*

Viz doplněk.

II.2 DATA

Při malých odchylkách od normálního tlaku (nejvýše ±5 kPa) se hodnoty teploty varu přepočítávají na normalizovanou teplotu T_n pomocí Sidneyovy-Youngovy rovnice:

$$T_n = T + (f_T \times \Delta p)$$

kde:

$\Delta p =$ (101,325 - p) [pozor na znaménko]

$p =$ naměřený tlak v kPa

$f_T =$ velikost změny teploty varu v závislosti na změně tlaku v $K \cdot kPa^{-1}$

$T =$ naměřená teploty varu v K

$T_n =$ teplota varu korigovaná na normální tlak v K

Teplotní korekční faktory f_T a rovnice pro jejich aproximaci jsou uvedeny pro řadu látek ve zmíněných mezinárodních a vnitrostátních normách.

Například metoda podle DIN 53171 uvádí přibližné korekce pro rozpouštědla obsažená v nátěrových hmotách:

TABULKA 2: TEPLOTNÍ KOREKČNÍ FAKTORY f_T

Teplota T (K)	Korekční faktor f_T (K kPa ⁻¹)
323,15	0,26
348,15	0,28
373,15	0,31
398,15	0,33
423,15	0,35
448,15	0,37
473,15	0,39
498,15	0,41
523,15	0,44
548,15	0,45
573,15	0,47

II.3 ZPRÁVY

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- použitá metoda,
- přesná specifikace látky (identita a nečistoty) a popř. informace o provedeném předběžném čištění,
- odhad přesnosti.

Jako bod varu se uvede střední hodnota alespoň dvou měření, jejichž výsledky leží v rozmezí odhadnuté přesnosti (viz tabulka 1).

Uvedou se naměřené teploty varu a jejich střední hodnota a dále hodnota tlaku v kPa, při kterém byla měření provedena. Tlak by se měl pokud možno blížit normálnímu tlaku.

Musí být uvedeny všechny informace a poznámky, které jsou důležité pro interpretaci výsledků, zejména pokud jde o nečistoty a fyzikální stav látky.

II.4 LITERATURA

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 103, Decision of the Council C (81) 30 final.
- (2) IUPAC, B. Le Neindre, B. Vodar, (eds.). Experimental thermodynamics. Butterworths, London 1975, volume II.

III. METODY PRO STANOVENÍ RELATIVNÍ HUSTOTY – metody uvedené v bodu A.3 přílohy směrnice 92/69/EHS

III.1. METODA

Popsané metody jsou založeny na Pokynech OECD pro zkoušení (1). Základní principy jsou uvedeny v literatuře (2).

III.1.1 ÚVOD

Popsané metody stanovení relativní hustoty jsou použitelné pro tuhé a kapalné látky bez jakýchkoli omezení, pokud jde o jejich čistotu. Jednotlivé metody, které lze použít, jsou uvedeny v tabulce 1.

III.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Relativní hustota D_4^{20} tuhých látek nebo kapalin je poměr mezi hmotností určitého objemu zkoumané látky stanovenou při 20 °C a hmotností stejného objemu vody stanovenou při 4 °C. Relativní hustota nemá rozměr.

Hustota látky ρ je podíl hmotnosti látky m a jejího objemu V .

Jednotkou hustoty ρ v soustavě SI je $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$.

III.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY (1, 3)

Při vyšetřování nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provedení metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

III.1.4 PODSTATA METOD

Používají se čtyři skupiny metod.

III.1.4.1 Vztlakové metody

III.1.4.1.1 *Hustoměry (pro kapaliny)*

Dostatečně přesné a rychlé stanovení hustoty lze provést plovoucími hustoměry, které umožní stanovit hustotu kapaliny odečtením hloubky jejich ponoření na kalibrované stupnici.

III.1.4.1.2 *Hydrostatické váhy (pro kapaliny a tuhé látky)*

Ke stanovení hustoty zkušebního vzorku lze využít rozdíl mezi jeho hmotností stanovenou na vzduchu a ve vhodné kapalině (např. vodě).

U tuhých látek je naměřená hustota reprezentativní jen pro daný použitý vzorek. Při stanovení hustoty kapalin se zváží těleso známého objemu nejdříve na vzduchu a poté v kapalině.

III.1.4.1.3 *Metoda ponořené kuličky (pro kapaliny) (4)*

Touto metodou se stanoví hustota kapaliny z rozdílu mezi výsledky vážení kapaliny před ponořením kuličky známého objemu do zkušební kapaliny a po něm.

III.1.4.2 **Pyknometrické metody**

Pro tuhé látky a kapaliny lze použít pyknometry různých tvarů o známém objemu. Hustota se vypočte z rozdílu výsledků vážení plného a prázdného pyknometru a z jeho známého objemu.

III.1.4.3 **Vzduchový srovnávací pyknometr (pro tuhé látky)**

Hustotu tuhé látky v libovolné formě je možné měřit při pokojové teplotě plynovým srovnávacím pyknometrem. Objem látky se měří ve vzduchu nebo v inertním plynu v kalibrovaném válci nastavitelného objemu. Pro výpočet hustoty se po skončení měření objemu provede vážení.

III.1.4.4 **Oscilační densimetr (5, 6, 7)**

Hustotu kapaliny lze měřit oscilačním densimetrem. Mechanický oscilátor konstruovaný ve tvaru U-trubice se rozkmitá na rezonanční kmitočet, který závisí na jeho hmotnosti. Po vložení vzorku se rezonanční kmitočet oscilátoru změní. Aparaturu je nutné kalibrovat dvěma kapalinami o známé hustotě. Kapaliny by měly být voleny nejlépe tak, aby pokrývaly rozmezí, ve kterém leží hustota měřeného vzorku.

III.1.5 **KRITÉRIA JAKOSTI**

Použitelnost různých metod pro stanovení relativní hustoty je uvedena v tabulce.

III.1.6 **POPIS METOD**

Normy uvedené jako příklady, ve kterých je možno vyhledat technické podrobnosti, jsou uvedeny v doplňku.

Zkoušky musí být provedeny při 20 °C a provedou se nejméně dvě měření.

III.2 **DATA**

Viz normy.

III.3 ZPRÁVY

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- použitá metoda,
- přesná specifikace látky (identita a nečistoty) a popř. informace o provedeném předběžném čištění.

Relativní hustota D_4^{20} se uvede podle definice v bodě 1.2 společně se skupenstvím měřené látky.

Musí být uvedeny všechny informace a poznámky, které jsou důležité pro interpretaci výsledků, zejména pokud jde o nečistoty a skupenství látky.

TABULKA: POUŽITELNOST METOD

Metoda měření	Hustota		Nejvyšší možná hodnota dynamické viskozity	Existující norma
	pevné látky	kapaliny		
1.4.1.1 Hustoměr		ano	5 Pa·s	ISO 387, ISO 649-2, NF T 20-050
1.4.1.2 Hydrostatické váhy a) tuhé látky b) kapaliny	ano	ano	5 Pa·s	ISO 1183 (A), ISO 901 a 758
1.4.1.3 Metoda ponořené kuličky		ano	20 Pa·s	DIN 53217
1.4.2 Pyknometr a) tuhé látky b) kapaliny	ano	ano	500 Pa·s	ISO 3507, ISO 1183 (B), NF T 20-053, ISO 758
1.4.3 Vzduchový srovnávací pyknometr	ano			DIN 55990 Teil 3, DIN 53243
1.4.4 Oscilační densimetr		ano	5 Pa·s	

III.4 LITERATURA

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 109, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) R. Weissberger (*ed.*), *Technique of Organic Chemistry, Physical Methods of Organic Chemistry*. 3rd ed., Chapter IV, Interscience Publ., New York, 1959, I, Part 1.

- (3) IUPAC. Recommended reference materials for realization of physico-chemical properties, Pure and applied chemistry. 1976, 48, 508.
- (4) Wagenbreth, H. Die Tauchkugel zur Bestimmung der Dichte von Flüssigkeiten. Technisches Messen tm, 1979, 11, 427-430.
- (5) Leopold, H. Die digitale Messung von Flüssigkeiten. *Elektronik*, 1970, 19, 297-302.
- (6) Baumgarten, D. Füllmengenkontrolle bei vorgepackten Erzeugnissen – Verfahren zur Dichtebestimmung bei flüssigen Produkten und ihre praktische Anwendung. *Die Pharmazeutische Industrie*, 1975, 37, 717-726.
- (7) Riemann, J. Der Einsatz der digitalen Dichtemessung im Brauereilaboratorium. *Brauwissenschaft*, 1976, 9, 253-255.

DODATEK

Technické podobnosti lze vyhledat například v následujících normách.

1. VZTLAKOVÉ METODY

1.1 Hustoměr

DIN 12790, ISO 387	Hydrometer; general instructions
DIN 12791	Part I: Density hydrometers; construction, adjustment and use Part II: Density hydrometers; standardized sizes, designation Part III: Use and test
ISO 649-2	Laboratory glassware: Density hydrometers for general purpose
NF T 20-050	Chemical products for industrial use – Determination of density of liquids – Areometric method
DIN 12793	Laboratory glassware: range find hydrometers

1.2 Hydrostatické váhy

Pro tuhé látky

ISO 1183	Method A: Methods for determining the density and relative density of plastics including cellular plastics
----------	--

NF T 20-049 Chemical products for industrial use –
Determination of the density of solids
other than powders and cellular products
– Hydrostatic balance method

ASTM-D-792 Specific gravity and density of plastics by
displacement

DIN 53479 Testing of plastics and elastomers;
determination of density

Pro kapaliny

ISO 901 ISO 758

DIN 51757 Testing of mineral oils and related
materials; determination of density

ASTM D 941-55, ASTM D 1296-67 a ASTM D 1481-62

ASTM D 1298 Density, specific gravity or API gravity
of crude petroleum and liquid petroleum
products by hydrometer method

BS 4714 Density, specific gravity or API gravity
of crude petroleum and liquid petroleum
products by hydrometer method

1.3 Metoda ponořené kuličky

DIN 53217 Testing of paints, varnishes and similar
coating materials; determination of
density; immersed body method

2. **PYKNOMETRICKÉ METODY**

2.1 Pro kapaliny

ISO 3507 Pycnometers

ISO 758 Liquid chemical products; determination
of density at 20 °C

DIN 12797 Gay-Lussac pycnometer (for non-volatile
liquids which are not too viscous)

DIN 12798 Lipkin pycnometer (for liquids with a
kinematic viscosity of less than
 $100 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ at 15 °C)

DIN 12800 Sprengel pycnometer (for liquids as DIN
12798)

DIN 12801	Reischauer pycnometer (for liquids with a kinematic viscosity of less than $100 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ at 20 °C, applicable in particular also to hydrocarbons and aqueous solutions as well as to liquids with higher vapour pressure, approximately 1 bar at 90 °C)
DIN 12806	Hubbard pycnometer (for viscous liquids of all types which do not have too high a vapour pressure, in particular also to paints, varnishes and bitumen)
DIN 12807	Bingham pycnometer (for liquids, as in DIN 12801)
DIN 12808	Jaulmes pycnometer (in particular for ethanol – water mixture)
DIN 12809	Pycnometer with ground-in thermometer and capillary side tube (for liquids which are not too viscous)
DIN 53217	Testing of paints, varnishes and similar products; determination of density by pycnometer
DIN 51757	Point 7: Testing of mineral oils and related materials; determination of density
ASTM D 297	Section 15: Rubber Products – Chemical Analysis
ASTM D 2111	Method C: Halogenated organic compounds
BS 4699	Method for determination of specific gravity and density of petroleum products (graduated bicapillary pycnometer method)
BS 5903	Method for determination of relative density and density of petroleum products by the capillary – stoppered pycnometer method
NF T 20-053	Chemical products for industrial use – Determination of density of solids in powder and liquids – Pycnometric method

2.2 Pro tuhé látky:

ISO 1183 Method B: Methods for determining the density and relative density of plastics excluding cellular plastics

NF T 20-053 Chemical products for industrial use – Determination of density of solids in powder and liquids – Pycnometric method

DIN 19683 Determination of the density of soils

3. **VZDUCHOVÉ SROVNÁVACÍ PYKNOMETRY**

DIN 55990 Part 3: Prüfung von Anstrichstoffen und ähnlichen Beschichtungsstoffen; Pulverlack; Bestimmung der Dichte

DIN 53243 Anstrichstoffe; Chlorhaltige Polymere; Prüfung

IV. METODY PRO STANOVENÍ TLAKU PAR – metody uvedené v bodu A.4 přílohy směrnice 92/69/EHS

IV.1 METODA

Většina dále popsaných metod je založena na Pokynech OECD pro zkoušení (1). Jejich základní principy jsou uvedeny v literatuře (2) a (3).

IV.1.1 ÚVOD

Pro provádění zkoušky je užitečné mít předběžné informace o struktuře, bodu tání a bodu varu zkušební látky.

Neexistuje žádný postup vhodný pro celý rozsah tlaku par. Proto je pro měření tlaku par v rozmezí od $< 10^{-4}$ Pa do 10^5 Pa doporučeno několik metod.

Nečistoty mají obvykle na tlak par vliv, a to v rozsahu, který do značné míry závisí na druhu nečistoty.

Jsou-li ve vzorku přítomny těkavé nečistoty, které by mohly ovlivnit výsledek, může být látka přečištěna. Může být vhodné uvést tlak par technického materiálu.

U některých zde popsaných metod se užívají přístroje s kovovými díly. Tato skutečnost by měla být vzata v úvahu při zkoušení korozivních látek.

IV.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Tlak par látky je definován jako tlak nasycené páry nad tuhou nebo kapalnou látkou. Při termodynamické rovnováze je tlak par čisté látky pouze funkcí teploty.

Jednotkou tlaku v soustavě SI je pascal (Pa).

Dále jsou uvedeny některé dříve používané jednotky s odpovídajícími přepočítávacími faktory:

$$1 \text{ torr (= 1 mm Hg)} = 1,333 \cdot 10^2 \text{ Pa}$$

$$1 \text{ fyzikální atmosféra (atm)} = 1,013 \cdot 10^5 \text{ Pa}$$

$$1 \text{ bar} = 10^5 \text{ Pa}$$

Jednotkou termodynamické teploty v soustavě SI je kelvin (K).

Univerzální molární plynová konstanta R má hodnotu $8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

Závislost tlaku par na teplotě je popsána Clausiovou-Clapeyronovou rovnicí:

$$\log p = \frac{\Delta H_v}{2,3 RT} + \text{konst.}$$

kde

p = tlak par látky v Pa,

ΔH_v = výparné teplo v $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$,

R = univerzální molární plynová konstanta v $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$,

T = termodynamická teplota v K.

IV.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Při vyšetřování nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provedení metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

IV.1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍCH METOD

Pro stanovení tlaku par je navrženo sedm metod, které lze používat v různých oblastech hodnot tlaku par. Každou z metod se stanovuje tlak par při různých teplotách. V omezeném rozsahu teplot je logaritmus tlaku par čisté látky nepřímo úměrný teplotě.

IV.1.4.1 Dynamická metoda

Při dynamické metodě se měří teplota varu při daném tlaku.

Doporučený rozsah:

10^3 až 10^5 Pa,

Tato metoda se rovněž doporučuje pro stanovení bodu varu a je vhodná až do teploty 600 K.

IV.1.4.2 Statická metoda

Statickou metodou se měří tlak par, který se ustaví při termodynamické rovnováze v uzavřeném systému při dané teplotě. Tato metoda je vhodná pro jednosložkové i vícesložkové tuhé látky a kapaliny.

Doporučený rozsah:

10 až 10^5 Pa

Při potřebné pečlivosti lze tuto metodu použít také pro oblast od 1 do 10 Pa.

IV.1.4.3 **Isoteniskop**

Tato normalizovaná metoda je rovněž statickou metodou, obecně však není vhodná pro vícesložkové systémy. Bližší informace lze získat v metodě ASTM D-2879-86.

Doporučený rozsah:

100 až 10^5 Pa.

IV.1.4.4 **Efusní metoda: Váhy pro měření tlaku par**

Ve vakuu se stanoví množství látky, které opustí měřicí celu za časovou jednotku otvorem známé velikosti tak, že může být zanedbán návrat látky do měřicí cely (např. měřením impulsů generovaných prouděním par na citlivých vahách nebo stanovením ztráty hmotnosti).

Doporučený rozsah:

10^{-3} až 1 Pa.

IV.1.4.5 **Efusní metoda: Měření hmotnostního úbytku nebo měření záchytem parní fáze**

Metoda je založena na stanovení hmotnosti par zkušební látky unikající za jednotku času z Knudsenovy komůrky (4) mikrodýzou za podmínek vysokého vakua. Hmotnost difundujících par může být zjištěna buď stanovením úbytku hmotnosti komůrky, nebo kondenzací par při nízké teplotě a stanovením jejich množství chromatografickou analýzou. Tlak se vypočte za použití Herzovy-Knudsenovy rovnice.

Doporučený rozsah:

10^{-3} až 1 Pa

IV.1.4.6 **Metoda nasycení plynu**

Nad látkou se vede proud inertního nosného plynu tak, že se nasatí jejími parami. Množství látky, které se přeneso známým množstvím nosného plynu, lze stanovit zachycením ve vhodném lapači nebo průtokovou analytickou technikou. Z něho se vypočte tlak par při dané teplotě.

Doporučený rozsah:

10^{-4} až 1 Pa.

Při potřebné pečlivosti lze tuto metodu použít také pro oblast od 1 do 10 Pa.

IV.1.4.7 Rotující tělísko

V zařízení s rotujícím tělískem je měřicím prvkem malá ocelová kulička zavěšená v magnetickém poli, která vysokou rychlostí rotuje. Tlak plynu se odvozuje ze zpomalení ocelové kuličky, které je závislé na tlaku plynu.

Doporučená oblast měření:

10^{-4} až 0,5 Pa.

IV.1.5 KRITÉRIA JAKOSTI

V následující tabulce je uvedeno srovnání různých metod stanovení tlaku par z hlediska jejich použitelnosti, opakovatelnosti, reprodukovatelnosti, oblasti měření a existujících norem.

KRITÉRIA JAKOSTI

Metoda měření	Látky		Odhad opakovatelnosti ¹⁾	Odhad reprodukovatelnosti ¹⁾	Doporučená oblast	Existující norma
	tuhé	kapalné				
1.4.1 Dynamická metoda	s nízkým bodem tání	ano	do 25 % 1 až 5 %	do 25 % 1 až 5 %	10^3 Pa až 2×10^3 Pa 2×10^3 Pa až 10^5 Pa ²⁾	— —
1.4.2 Statická metoda	ano	ano	5 až 10 %	5 až 10 %	10 Pa až 10^5 Pa ²⁾	NF T 20-048(5)
1.4.3 Isoteniskop	ano	ano	5 až 10 %	5 až 10 %	10^2 Pa až 10^5 Pa	ASTM-D 2879-86
1.4.4 Efusní metoda - váhy pro měření tlaku par	ano	ano	5 až 20 %	do 50 %	10^{-3} Pa až 1 Pa	NF T 20-047(6)
1.4.5 Efusní metoda - měření úbytku par	ano	ano	10 až 30 %	—	10^{-3} Pa až 1 Pa	—
1.4.6 Metoda sycení plynu	ano	ano	10 až 30 %	do 50 %	10^{-4} Pa až 1 Pa ²⁾	—
1.4.7 Metoda rotujícího tělíska	ano	ano	10 až 20 %	—	10^{-4} Pa až 0,5 Pa	—

¹⁾ V závislosti na stupni čistoty látky.

²⁾ Metody mohou být při pečlivém provedení použity také pro rozmezí 1 až 10 Pa.

IV.1.6 POPIS METOD

IV.1.6.1 Dynamická metoda

IV.1.6.1.1 Aparatura

Aparatura je obecně tvořena varnou nádobou s nasazeným chladičem ze skla nebo kovu (obrázek 1), zařízením pro měření teploty, zařízením pro regulaci a měření tlaku. Typická měřicí aparatura znázorněná na obrázku je ze žáruvzdorného skla a skládá se z pěti částí:

Velká, částečně dvojitě opláštěvaná trubice sestává ze zábrusového spoje, z chladiče, z chladicí baňky a ze vpusti.

Skleněný válec s Cottrellovou vývěvou je umístěn ve varné část trubice a má zdrsňený vnitřní povrch ze slinutého skla, aby se zabránilo „utajenému“ varu.

Teplota se měří vhodným teplotním čidlem (např. odporovým teploměrem, plášťovým termočlánkem) zasunutým do aparatury až k místu měření (obrázek 1, číslo 5) přes vhodnou spojku (např. s vnějším zábrusem).

Musí být vytvořeno nezbytné spojení k regulátoru tlaku a k měřicímu zařízení.

Přes kapiláru je s měřicí aparaturou spojena kulatá baňka, která slouží jako vyrovnávací objem.

Varná nádoba je vyhřívána topnou vložkou např. zavedenou zesepoda do skleněné aparatury. Požadovaná intenzita proudu pro ohřev se nastavuje a reguluje prostřednictvím termočlánku.

Potřebný podtlak mezi 10^2 Pa a přibližně 10^5 Pa se dosáhne pomocí vývěvy.

K měření a regulaci tlaku vzduchu nebo dusíku (měřicí rozsah přibližně 10^2 až 10^5 Pa) a k ventilaci se použije vhodný ventil.

Tlak se měří manometrem.

IV.1.6.1.2 Postup měření

Pro stanovení tlaku par vzorku se měří jeho teplota varu při různých specifikovaných tlacích mezi asi 10^3 a 10^5 Pa. Ustálení teploty při konstantním tlaku znamená, že bylo dosaženo teploty varu. Tato metoda není vhodná pro měření látek, které pění.

Látka se umístí do čisté, suché vzorkovnice. Při plnění tuhých látek, které nejsou ve formě prášku, může dojít k problémům, které však lze někdy obejít zahřátím chladicího pláště. Po naplnění se aparatura uzavře

přírubou a látka se odplyní. Poté se nastaví nejnižší požadovaný tlak a zapne se ohřev. Současně se teplotní čidlo připojí k zapisovači.

Rovnováhy je dosaženo, je-li při konstantním tlaku zaznamenána konstantní teplota varu. Je třeba věnovat zvláštní pozornost tomu, aby se zabránilo prudkému uvolňování par během varu. Navíc musí dojít k úplné kondenzaci v chladiči. Při stanovování tlaku par u nízkotajících pevných látek je třeba dbát na to, aby nedošlo k ucpání chladiče.

Po zaznamenání naměřeného rovnovážného teplotního bodu se nastaví vyšší tlak. Takto se pokračuje, dokud se nedosáhne tlaku 10^5 Pa (celkem asi 5 až 10 měření). Pro kontrolu se musí stanovení rovnovážných bodů opakovat při klesajících hodnotách tlaku.

IV.1.6.2 Statické měření

IV.1.6.2.1 Aparatura

Aparatura sestává ze zásobníku vzorku, z ohřívací a chladičí soustavy k regulaci teploty vzorku a měření teploty. Aparatura též zahrnuje zařízení k nastavení a měření tlaku. Základní principy jsou znázorněny na obrázcích 2a a 2b.

Baňka na vzorek (obrázek 2a) je z jedné strany uzavřena vhodným vysokovakuovým ventilem. Z druhé strany je připojena U-trubička obsahující vhodnou manometrickou kapalinu. Jeden konec U-trubičky je napojen k vývěvě, k tlakové lahvi s dusíkem, nebo k odvzdušňovacímu ventilu a k manometru.

Místo U-trubičky se dá použít manometr s ukazatelem tlaku (obrázek 2b).

Za účelem regulace teploty vzorku je baňka se vzorkem spolu s ventilem a U-trubičkou či tlakoměrem umístěna v lázni s konstantní teplotou udržovanou s přesností $\pm 0,2$ K. Teplota se měří na vnější straně baňky se vzorkem nebo v baňce samotné.

K evakuaci aparatury se užije vývěva s protiproudým chlazeným lapačem.

U metody 2a se tlak par látky měří nepřímou metodou za použití indikátoru nuly. Přitom se zohledňuje skutečnost, že se hustota kapaliny při velkých změnách teploty v U-trubičce mění.

V závislosti na rozsahu tlaků a v závislosti na chemickém chování zkušební látky jsou jako indikátory nuly pro U-trubičku vhodné následující látky: silikonové oleje, ftaláty. Zkušební látka se nesmí znatelně rozpouštět ani nesmí reagovat s kapalinou v U-trubičce.

V oblasti normálního tlaku vzduchu do 10^2 Pa lze v manometru používat rtuť, zatímco silikonové oleje a ftaláty je vhodné používat pro tlak od 10 Pa do 10^2 Pa. Ohřívateľné membránové kapacitní manometry lze dokonce používat pro tlak nižší než 10^{-1} Pa. Existují též jiná měřidla tlaku, která lze použít pro tlaky pod 10^2 Pa.

IV.1.6.2.2 Postup měření

Před měřením se všechny části aparatury znázorněné na obrázku 2 důkladně očistí a vysuší.

V případě metody 2a se U-trubice naplní zvolenou kapalinou, která musí být před použitím odplyněna za zvýšené teploty.

Zkušební látka se vloží do aparatury, která se uzavře a sníží se v ní teplota, aby došlo k odplynění. Teplota musí být dostatečně nízká, aby se zajistilo vysátí vzduchu, aniž by došlo u vícesložkových směsných materiálů ke změně jejich složení, V případě potřeby lze rovnováhy rychleji dosáhnout mícháním.

Vzorek může být podchlazen např. kapalným dusíkem (je nutno zabránit kondenzaci vzduchu nebo kapaliny z vývěvy) nebo směsí ethylalkoholu a suchého ledu. Pro měření nízkých teplot se použije lázeň s teplotou regulovanou připojením k chladicímu systému (ultrakryomatu).

Při otevřeném ventilu nádoby se vzorkem se připojí na několik minut odsávání, aby se odstranil vzduch. Ventil se poté uzavře a teplota vzorku se sníží na nejnižší požadovanou úroveň. Je-li to nutné, musí se odplyňovací postup několikrát opakovat.

Při zahřívání vzorku roste tlak par. To mění rovnováhu kapaliny v U-trubici. Aby se změna kompenzovala, připouští se ventilem dusík nebo vzduch do té doby, dokud není indikátor tlaku opět na nule. Tlak potřebný k ustavení nulové hodnoty může být odečten přesným manometrem při laboratorní teplotě. Tento tlak odpovídá tenzi par látky při dané teplotě měření.

Metoda 2b je podobná, ale tlak par se odečítá přímo.

Závislost tlaku par na teplotě se stanoví ve vhodných krátkých intervalech (celkem přibližně 5 až 10 bodů měření) až do požadovaného maxima. Odečty při nízkých teplotách se musí pro kontrolu opakovat.

Neleží-li hodnoty zjištěné z opakovaných odečtů na křivce zjištěné pro zvyšující se teplotu, může to být způsobeno jednou z těchto příčin:

1. Vzorek stále obsahuje vzduch (např. u vysoce viskózních materiálů) nebo obsahuje látky s nízkým bodem varu, které jsou při zahřátí uvolňovány a které lze odstranit odsátím po předchozím podchlazení.
2. Teplota podchlazení není dostatečně nízká. V tomto případě se použije jako chladicí médium tekutý dusík.

Pokud nastane případ 1 nebo 2, musí se měření opakovat.

3. V látce probíhá ve vyšetřovaném teplotním rozsahu chemická reakce (např. rozklad, polymerace).

IV.1.6.3 Isoteniskop

Úplný popis této metody je uveden v literatuře (7). Princip měřicího zařízení je znázorněn na obrázku 3. Podobně jako statická metoda popsaná v bodě 1.6.2 je isoteniskop vhodný k vyšetřování tuhých látek i kapalin.

V případě kapalin slouží látka samotná jako indikační sloupec v pomocném manometru. Do isoteniskopu se odměří množství kapaliny postačující k naplnění baňky a krátkého ramene manometru. Isoteniskop se připojí k vakuovému systému, evakuuje se a poté se naplní dusíkem. Evakuace a výplach systému se opakuje dvakrát, aby se odstranil veškerý zbytkový kyslík. Naplněný isoteniskop se umístí do horizontální polohy, aby se vzorek rozprostřel v baňce a v U-části manometru do tenké vrstvy. Tlak v systému se sníží na 133 Pa a vzorek se opatrně zahřeje právě k varu (odstranění rozpuštěných plynů). Poté se isoteniskop vrátí do původní polohy tak, aby se vzorek vrátil do baňky a krátkého ramene manometru, takže oba díly jsou zcela naplněny kapalinou. Tlak se udržuje jako při odplyňování; špička baňky se zahřívá malým plamenem, dokud uvolněná pára neexpanduje natolik, že přetlačí část vzorku z horní části baňky a ramene manometru do manometrické části isoteniskopu, přičemž se vytvoří prostor bez dusíku, naplněný výhradně parami.

Isoteniskop se poté vloží do lázně se stálou teplotou a tlak dusíku se upraví tak, aby se rovnal tlaku vzorku. Rovnovážený tlak je udáván manometrickou částí isoteniskopu. V rovnováze se rovná tlak dusíku tenzi par látky.

U tuhých látek se v závislosti na oblasti tlaku a teploty používají manometrické kapaliny uvedené v bodě 1.6.2.1. Odplyněná manometrická kapalina se naplní do rozšířené části dlouhého ramene isoteniskopu. Poté se vyšetřovaná látka naplní do baňky a odplyní se při zvýšené teplotě. Isoteniskop se poté nakloní, aby manometrická kapalina natekla do U-trubice. Měření závislosti tlaku par na teplotě se provede jako v bodě 1.6.2.

IV.1.6.4 Efusní metoda: Váhy pro měření tlaku par

IV.1.6.4.1 Aparatura

V literatuře jsou popsána různá provedení aparatury (1). Aparatura popsaná zde slouží ke znázornění použitého obecného principu (obrázek 4). Na obrázku 4 jsou znázorněny hlavní části aparatury složené z vysokovakuové komory z korozivzdorné oceli nebo ze skla, z vývěvy a měřiče vakua a z vestavěného zařízení pro měření tlaku par pomocí vah. V aparatuře jsou vestavěny následující díly:

- odpařovací pícka s přírubou a otočnou průchodkou. Odpařovací pícku tvoří válcová nádoba vyrobená např. z mědi nebo z chemicky odolné slitiny s dobrou tepelnou vodivostí. Rovněž lze použít skleněnou nádobu opatřenou měděným pláštěm. Pícka má průměr přibližně 3 až 5 cm a je 2 až 5 cm vysoká. Je opatřena

jedním až třemi otvory různé velikosti pro průchod par. Pícka je vyhřívána buď podstavenou vyhřívací destičkou nebo topnou spirálou v plášti. Aby nedošlo k rozptylování tepla do základní desky, je spojení vyhřívací destičky se základní realizováno deskou přes materiál s nízkou tepelnou vodivostí (stříbrniklová nebo chromniklová ocel); je-li např. použita pícka s několika průchody, je izolace tvořena stříbrniklovými trubicemi připojenými k rotující ose pícky. Toto uspořádání je výhodné, neboť umožňuje zavedení měděné tyče. Je tím umožněno chlazení z vnějšku chladicí lázní,

- je-li měděné víko pícky opatřeno třemi otvory různého průměru, jejichž poloha je posunuta vůči sobě o 90°, pokrývá měření široký rozsah tlaků par (otvory o průměru 0,30 až 4,50 mm). Široké otvory se použijí při nízkých tlacích par a naopak. Otáčením pícky se žádaný otvor nebo mezipoloha nastaví do směru toku páry (v ose se nachází otvor pícky – clona – miska vah) a proud molekul se propustí nebo odkloní otvorem pícky na misku vah. Pro měření teploty látky se na vhodné místo umístí termočlánek nebo odporový teploměr,
- nad clonou je miska velmi citlivých mikrovah (viz níže). Miska vah má průměr přibližně 30 mm. Vhodným materiálem je pozlacený hliník,
- miska vah je obklopena válcovitým chladicím blokem z mosazi nebo mědi. Otvory v bloku jsou přizpůsobeny typu raménka podle typu vah a otvor ve cloně musí umožnit průchod proudu molekul a současně musí zajišťovat úplné zkapalnění par na misce. Odvod tepla směrem ven je zajištěn např. měděnou tyčí připojenou k chladicímu bloku. Tyč prochází základní deskou a je od ní tepelně izolována např. trubicí z chromniklové oceli. Tyč je ponořena do Dewarovy nádoby s kapalným dusíkem umístěné pod základní deskou a/nebo se zajistí cirkulace kapalného dusíku přímo provrtanou tyčí. Chladicí blok je tak udržován při teplotě $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$. Miska vah je chlazená výhradně vyzařováním, které pro vyšetřovanou oblast tlaku postačuje (zahájení chlazení přibližně 1 h před začátkem měření),
- váha je umístěna nad chladicím blokem. Vhodné váhy jsou např. vysoce citlivé dvojramenné elektronické mikrováhy nebo vysoce citlivý přístroj s pohyblivou cívkou (viz Pokyny OECD pro zkoušení 104, vydání 12. 5. 1981),
- v základní desce jsou také elektrické zásuvky pro připojení termočláneků (nebo odporových teploměrů) a topných spirál,
- vakuum se vytváří v nádobě pomocí středněvakuové nebo vysokovakuové pumpy (požadované vakuum přibližně 1 až $2 \cdot 10^{-3}$ Pa, kterého se dosáhne po dvouhodinovém odsávání). Tlak se sleduje vhodným ionizačním manometrem.

IV.1.6.4.2 Postup měření

Nádoba se naplní zkušební látkou a uzavře se víčkem. Clona a chladicí blok jsou vysunuty proti píce. Aparatura se uzavře a spustí se vývěvy. Před zahájením měření by měl být tlak asi 10^{-4} Pa. Od 10^{-2} Pa je třeba začít s chlazením chladicího bloku.

Po dosažení potřebného vakua se zahájí řada kalibračních měření při nejnižší požadované teplotě. Otevře se odpovídající otvor ve víku, proud páry projde clonou umístěnou nad ním a dopadne na ochlazenou misku vah. Miska vah musí být dostatečně velká, aby zajistila zachycení veškeré páry procházející clonou. Hybnost proudu par působí jako síla proti misce vah a molekuly se srážejí na jejím studeném povrchu.

Hybnost a současná kondenzace vytvářejí signál v zapisovači. Vyhodnocení signálu poskytuje dva druhy informací:

1. V popsaném zařízení je tlak par určen přímo z působení na misku vah (k tomu není třeba znát molekulovou hmotnost (2)). Při vyhodnocení odečtu musí být vzaty v úvahu geometrické faktory, jako jsou otvor v píce a úhel molekulárního proudu.
2. Současně může být měřeno množství kondenzátu, z čehož může být vypočtena rychlost vypařování. Tlak par může být také vypočítán z rychlosti vypařování a z molekulové hmotnosti pomocí Hertzovy rovnice (2).

$$p = G \sqrt{\frac{2\pi RT \times 10^3}{M}}$$

kde

$G =$ rychlost vypařování ($\text{kg} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$),

$M =$ molekulová hmotnost ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$),

$T =$ termodynamická teplota (K),

$R =$ univerzální molární plynová konstanta ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$),

$p =$ tlak páry (Pa).

Poté, co je dosaženo potřebného vakua, začíná série měření při nejnižší možné teplotě.

Pro další měření se teplota zvyšuje v malých intervalech, dokud se nedosáhne její nejvyšší požadované hodnoty. Vzorek se poté znovu ochladí a je možné zaznamenat druhou křivku tlaku par. Jestliže se při druhém opakování nepotvrdí výsledek prvního měření, je možné, že se látka v dané teplotní oblasti měření rozkládá.

IV.1.6.5 Efusní metoda: Měření hmotnostního úbytku

IV.1.6.5.1 Aparatura

Zařízení se skládá z následujících částí:

- blok, ve kterém jsou umístěny efusní komůrky, s možností termostatování a evakuace,
- vysokovakuová vývěva (např. difusní vývěva nebo turbomolekulární vývěva) a podtlakové měřidlo,
- zařízení pro zachycování par se zkapalněným dusíkem nebo suchým ledem.

Elektricky vyhřívaný hliníkový vakuový blok se čtyřmi ocelovými efusními komůrkami je znázorněn jako příklad na obrázku 5. Membrána z koroziivzdorné oceli tloušťky asi 0,3 mm s efusním otvorem o průměru 0,2 až 1 mm je připojena k efusní komůrce víčkem opatřeným závitem.

IV.1.6.5.2 Postup měření

Do každé efusní komůrky se umístí referenční a zkušební látka, kovová membrána s otvorem se zajistí šroubovacím víčkem a každá komůrka se zváží s přesností na 0,1 mg. Měřicí komůrka se umístí do termostatovaného bloku, který se poté evakuuje na tlak nižší, než je jedna desetina očekávaného tlaku par. Ve stanovených časových intervalech v rozmezí od 5 do 30 h se do zařízení vpouští vzduch a úbytek hmotnosti efusní komůrky se stanoví opakovaným vážením.

Aby bylo zajištěno, že výsledky nebudou ovlivněny těkavými nečistotami, váží se komůrka opakovaně ve stanovených časových intervalech a tak se kontroluje, zda je rychlost odpařování konstantní nejméně po dva měřicí intervaly.

Tlak par p je dán vztahem:

$$p = \frac{m}{KA t} \sqrt{\frac{2\pi RT}{M}}$$

kde

p = tlak par (Pa),

m = hmotnost látky opouštějící komůrku za čas t (kg),

t = čas (s),

A = plocha otvoru (m²),

K = korekční faktor,

$R =$ univerzální plynová konstanta ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$),

$T =$ teplota (K),

$M =$ molekulární hmotnost ($\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Korekční faktor K závisí na poměru délky a poloměru kruhového otvoru:

poměr:	0,1	0,2	0,6	1,0	2,0
K :	0,952	0,909	0,771	0,672	0,514

Výše uvedená rovnice může být zapsána ve tvaru

$$p = E \frac{m}{t} \sqrt{\frac{T}{M}}$$

kde $E = \frac{1}{KA} \sqrt{2\pi R}$ je efusní konstanta komůrky.

Tato efusní konstanta může být určena s využitím referenčních látek (2, 9) pomocí následující rovnice:

$$E = \frac{p_{(r)} t}{m} \sqrt{\frac{M_{(r)}}{T}}$$

kde

$p_{(r)} =$ tlak par referenční látky (Pa)

$M_{(r)} =$ molekulární hmotnost referenční látky ($\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$).

IV.1.6.6. Metoda nasycení plynu

IV.1.6.6.1 Aparatura

Typická aparatura používaná pro tuto zkoušku sestává z řady dále popsanych a na obrázku 6a vyobrazených částí (1).

Inertní plyn:

Nosný plyn nesmí se zkušební látkou chemicky reagovat. Obvykle je vhodný dusík, někdy je však nutné použít jiné plyny (10). Použitý plyn musí být suchý (viz obrázek 6a, číslo 4: čidlo pro měření relativní vlhkosti plynu).

Kontrola průtoku:

Pro kontrolu průtoku plynu je nezbytný vhodný regulační systém pro zajištění konstantního a podle potřeby nastavitelného průtoku plynu syticí kolonou.

Zařízení pro zachycování par:

Jejich výběr závisí na vlastnostech zkoumané látky a na zvolené analytické metodě. Páry by se měly zachycovat kvantitativně a ve formě, která umožní následnou analýzu. Pro některé zkušební látky jsou vhodné lapače obsahující kapaliny jako hexan nebo ethylenglykol. Pro jiné látky lze použít tuhé absorbenty.

Jako alternativní metody zachycení páry a následné analýzy mohou být ke stanovení množství hmoty transportované známým množstvím nosného plynu použity průtokové analytické techniky, jako je chromatografie. Navíc může být měřen úbytek hmotnosti vzorku.

Výměník tepla:

Pro měření při různých teplotách může být nezbytné zabudovat do aparatury výměník tepla.

Sytící kolona:

Zkušební látka se v rozpuštěné formě nanese na vhodný inertní nosič. Nosič s nanesenou látkou se vloží do syticí kolony. Kolona by měla být dimenzována a průtok plynu nastaven tak, aby bylo zaručeno úplné nasycení nosného plynu. Syticí kolonu je nutno termostatovat. Má-li se měřit při teplotách nad laboratorní teplotou, musí být části aparatury mezi syticí kolonou a zařízeními pro zachycování par rovněž ohřívány, aby se zamezilo kondenzaci zkušební látky.

Za syticí kolony může být umístěna kapilára (obrázek 6b), aby se snížil tok hmoty způsobený difúzí.

IV.1.6.6.2 *Postup měření*

Příprava syticí kolony:

Roztok zkušební látky ve vysoce těkavém rozpouštědle se přidá k přiměřenému množství nosiče. Mělo by být přidáno dostatečné množství zkušební látky, aby bylo zajištěno nasycení po celou dobu zkoušky. Rozpouštědlo se úplně odpaří na vzduchu nebo v rotačním odpařovači a pečlivě promísený materiál se přidá do syticí kolony. Po zahřátí vzorku se aparaturou vede suchý dusík.

Měření:

Zařízení na zachycování par nebo průtokové detektory se připojí na výstup z kolony a měří se čas. Na počátku a v pravidelných intervalech

během měření se kontroluje průtok počítacem bublinek (nebo kontinuálně průtokoměrem).

Na výstupu ze sytící kolony je nutno měřit tlak. To lze provést

- a) zapojením manometru mezi kolonu a lapače (tento způsob nemusí být zcela uspokojivý, protože se zvyšuje mrtvý objem a zvětšuje se adsorpční plocha); nebo
- b) stanovením tlakových úbytků za použitým zachycovacím zařízením jako funkce objemového průtoku v samostatném experimentu (toto nemusí přinášet uspokojivé výsledky pro lapače s adsorpčními kapalinami).

Doba potřebná pro zachycení množství látky nezbytného pro jednotlivé metody analýzy se určí předběžnými pokusy nebo odhadem. Jako alternativa zachycení látky pro další analýzu může být užita průtoková kvantitativní analytická technika (např. chromatografie). Před výpočtem tlaku par při dané teplotě se provedou předběžné pokusy pro stanovení maximální průtokové rychlosti, při které je nosný plyn dokonale nasycen parami látky. Za tímto účelem se zavádí nosný plyn do sytící kolony nízkým objemovým průtokem voleným tak, že dalším snižováním průtokové rychlosti již vypočtená hodnota tlaku par neroste.

Specifická analytická metoda závisí na druhu studované látky (např. plynová chromatografie nebo gravimetrie).

Stanoví se množství látky, které je unášeno známým objemem nosného plynu.

IV.1.6.6.3 Výpočet tlaku par

Tlak par se počítá z hustoty par, W/V , podle rovnice:

$$p = \frac{W}{V} \times \frac{RT}{M}$$

kde

p = tlak par (Pa),

W = hmotnost odpařené zkušební látky (g),

V = objem nasyceného plynu (m^3),

R = univerzální molární plynová konstanta ($J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$),

T = termodynamická teplota (K),

M = molární hmotnost ($g \cdot mol^{-1}$).

Naměřené objemy musí být korigovány v důsledku rozdílů tlaků a teplot mezi průtokoměrem a sytící kolonou vyhřívanou termostatem. Je-li průtokoměr zařazen za lapači, může být nezbytné provést korekce s ohledem na podíl složek odpařených z lapače (1).

IV.1.6.7 Rotující tělísko (8, 11, 13)

IV.1.6.7.1 Aparatura

Metoda rotujícího tělíska může být provedena za použití měřiče viskozity s rotujícím tělískem, znázorněného na obrázku 8. Schematický náčrt měřicí soustavy je znázorněn na obrázku 7.

Typické měřicí zařízení má měřicí hlavu s rotujícím tělískem, umístěnou v termostatovaném prostoru (regulovaném s přesností na 0,1 °C). Nádobka se vzorkem je umístěna do termostatovaného prostoru (regulovaného s přesností na 0,01 °C). Všechny ostatní části zařízení jsou udržovány při vyšší teplotě, aby nedocházelo ke kondenzaci. K zařízení se vakuovými ventily připojí vysokovakuová vývěva.

Měřicí hlava s rotujícím tělískem se skládá z ocelové kuličky (průměr 4 až 5 mm) umístěné v trubici. Kulička je zavěšena a stabilizována v magnetickém poli obvykle s využitím kombinace permanentních magnetů a regulačních cívek.

Kulička je uváděna do rotačního pohybu rotujícími magnetickými poli produkovanými cívkami. Zvedací cívky měřicí nízkou, ale trvalou zbytkovou magnetizaci kuličky, umožňují měření rotační rychlosti.

IV.1.6.7.2 Postup měření

Jakmile kulička dosáhne stanovenou rotační rychlost $v_{(0)}$ (obvykle asi 400 otáček za sekundu), zastaví se další napájení a zahájí se zpomalování vyvolané brzdícím účinkem plynu.

Pokles rotační rychlosti je měřen jako funkce času. Vzhledem k tomu, že brzdění způsobené magnetickým závěsem je zanedbatelné ve srovnání s brzděním způsobeným plynem, je tlak par dán vztahem:

$$p = \frac{\pi \bar{c} r \rho}{\sigma 10t} \times \ln \frac{v(t)}{v(0)}$$

kde

\bar{c} = průměrná rychlost molekul plynu,

r = poloměr kuličky,

ρ = hustota kuličky,

$\sigma =$ koeficient tečného přenosového impulsu ($\sigma = 1$ pro ideálně kulový povrch kuličky),

$t =$ čas,

$v(t) =$ rotační rychlost po čase t ,

$v(0) =$ počáteční rotační rychlost.

Rovnice může být rovněž napsána ve tvaru:

$$p = \frac{\pi \bar{c} r \rho}{10 \sigma} \times \frac{t_n - t_{n-1}}{t_n \times t_{n-1}}$$

kde t_n, t_{n-1} jsou časy potřebné pro stanovený počet rotací N . Časové intervaly t_n, t_{n-1} následují za sebou a $t_n > t_{n-1}$.

Průměrná rychlost molekul plynu \bar{c} je dána vztahem:

$$\bar{c} = \left(\frac{8RT}{\pi M} \right)^{1/2}$$

kde

$T =$ teplota,

$R =$ univerzální molární plynová konstanta,

$M =$ molární hmotnost.

IV.2 DATA

Stanovení tlaku par kteroukoli z výše popsaných metod by se mělo provést nejméně při dvou teplotách. Aby se ověřil lineární průběh křivky tlaku par v oblasti teplot od 0 °C do 50 °C, doporučuje se měření při třech nebo více teplotách.

IV.3 ZPRÁVY

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

— použitá metoda,

— přesná specifikace látky (identita a nečistoty) a popř. informace o provedeném předběžném čištění,

- nejméně dvě hodnoty tlaku par a teploty, pokud možno v oblasti 0 °C až 50 °C,
- všechny původní údaje,
- křivka závislosti $\log p$ na $1/T$,
- odhadnutá hodnota tlaku par při 20 °C nebo 25 °C.

Zjistí-li se změna stavu (fázový přechod, rozklad), měly by být uvedeny následující skutečnosti:

- druh změny,
- teplota při atmosférickém tlaku, při které ke změně dochází,
- hodnoty tlaku par při 10 °C a 20 °C pod teplotou přechodu a nad teplotou přechodu (s výjimkou přechodů z tuhého do plynného skupenství).

Musí být uvedeny všechny informace a poznámky, které jsou důležité pro interpretaci výsledků, zejména pokud jde o nečistoty a fyzikální stav látky.

IV.4 LITERATURA

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 104, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Ambrose, D. V; B. Le Neindre, B. Vodar, (eds.): Experimental Thermodynamics. Butterworths, London, 1975, II.
- (3) R. Weissberger (ed.): Technique of Organic Chemistry, Physical Methods of Organic Chemistry. 3rd ed. Chapter IX, Interscience Publ., New York, 1959, I, Part I.
- (4) Knudsen, M. *Ann. Phys. Lpz.*, 1909, 29, 1979; 1911, 34, 593.
- (5) NF T 20-048 AFNOR (Sept. 85). Chemical products for industrial use – Determination of vapour pressure of solids and liquids within range from 10^{-1} to 10^5 Pa – Static method.
- (6) NF T 20-047 AFNOR (Sept. 85). Chemical products for industrial use – Determination of vapour pressure of solids and liquids within range from 10^{-3} to 1 Pa – Vapour pressure balance method.
- (7) ASTM D 2879-86, Standard test method for vapour pressure-temperature relationship and initial decomposition temperature of liquids by isoteniscope.

- (8) G. Messer, P. Röhl, G. Grosse, W. Jitschin. *J. Vac. Sci. Technol. (A)*, 1987, 5 (4), 2440.
- (9) Ambrose, D., Lawrenson, I. J., Sprake, C. H. S. *J. Chem. Thermodynamics* 1975, 7, 1173.
- (10) B. F. Rordorf. *Thermochimica Acta*, 1985, 85, 435.
- (11) G. Comsa, J. K. Fremerey, B. Lindenau. *J. Vac. Sci. Technol.*, 1980, 17 (2), 642.
- (12) G. Reich. *J. Vac. Sci. Technol.*, 1982, 20 (4), 1148.
- (13) J. K. Fremerey. *J. Vac. Sci. Technol. (A)*, 1985, 3 (3), 1715.

DODATEK 1

Metoda odhadu

ÚVOD

Vypočtené hodnoty tlaku par lze využít

- k rozhodnutí, která z experimentálních metod je vhodná,
- k provedení odhadu nebo ke stanovení mezní hodnoty v případech, kdy nelze z technických důvodů použít experimentální metodu (včetně případů, kdy je tlak par velmi nízký),
- jako pomoc při vyhledání případů, kdy je neprovedení experimentálního měření odůvodnitelné, neboť tlak par je při laboratorní teplotě pravděpodobně $< 10^{-5}$ Pa.

METODA ODHADU

Tlak par kapalin a tuhých látek může být odhadnut pomocí modifikovaného Watsonova korelačního vztahu (a). Požaduje se pouze jeden experimentální údaj, a to teplota varu za normálního tlaku. Metoda je použitelná pro tlaky od 10^5 do 10^{-5} Pa.

Podrobná informace o metodě je uvedena v příručce *Handbook of Chemical Property Estimation Methods* (b).

POSTUP VÝPOČTU

Podle příručky (b) se tlak par vypočte podle vzorce:

$$\ln P_{vp} \approx \frac{\Delta H_{vb}}{\Delta Z_b R T_b} \left[1 - \frac{\left(3 - 2 \frac{T}{T_b}\right)^m}{\frac{T}{T_b}} - 2m \left(3 - 2 \frac{T}{T_b}\right)^{m-1} \ln \frac{T}{T_b} \right]$$

kde

T = teplota, pro kterou je tlak par vypočítáván

T_b = teplota varu při normálním tlaku

P_{vp} = tlak par při teplotě T

ΔH_{vb} = výparné teplo

ΔZ_b = faktor stlačitelnosti (použije se hodnota 0,97)

m = empirický faktor, jehož hodnota závisí na fyzikálním stavu při teplotě, pro niž je prováděn výpočet

Dále

$$\frac{\Delta H_{vb}}{T_b} = K_F (8,75 + R \ln T_b)$$

kde

K_F je empirický součinitel zohledňující polaritu látky. V příručce b) jsou uvedeny hodnoty faktoru K_F pro několik typů sloučenin.

Velmi často jsou k dispozici údaje o teplotě varu při sníženém tlaku. V takovém případě se podle příručky (b) vypočte tlak par podle následujícího vztahu:

$$\ln P_{vb} \approx \ln P_1 + \frac{\Delta H_{v1}}{\Delta Z_b R T_1} \left[1 - \left(3 - 2 \frac{T}{T_1}\right)^m \frac{T_1}{T} - 2m \left(3 - 2 \frac{T}{T_1}\right)^{m-1} \ln \frac{T}{T_1} \right]$$

kde

T_1 je teplota varu při sníženém tlaku P_1 .

ZPRÁVA

Je-li použita metoda odhadu, musí zpráva obsahovat úplný postup výpočtu.

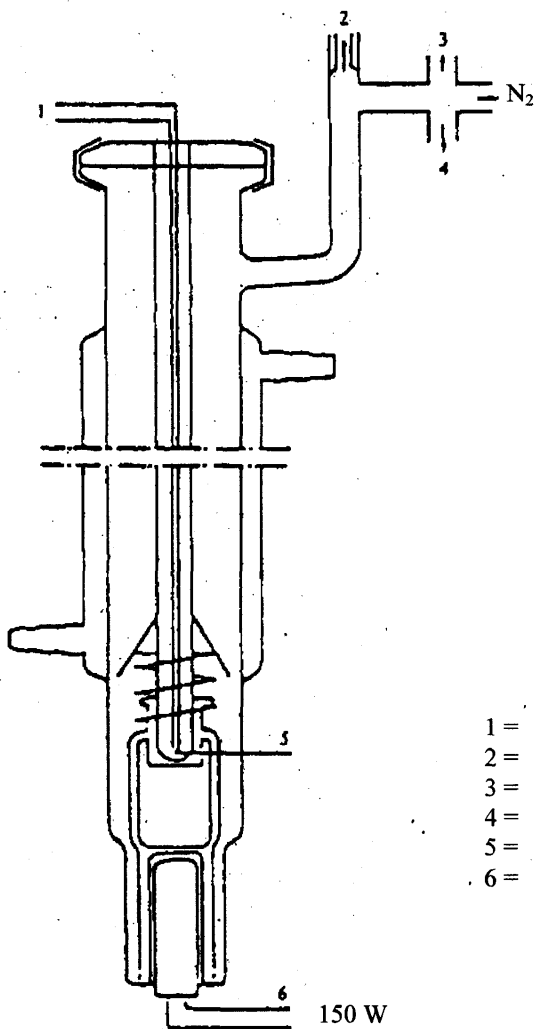
LITERATURA

- a) K. M. Watson, *Ind. Eng. Chem.* 1943, 35, 398.
- b) W. J. Lyman, W. F. Reehl, D. H. Rosenblatt. *Handbook of Chemical Estimation Methods*. McGraw-Hill, 1982.

DODATEK 2

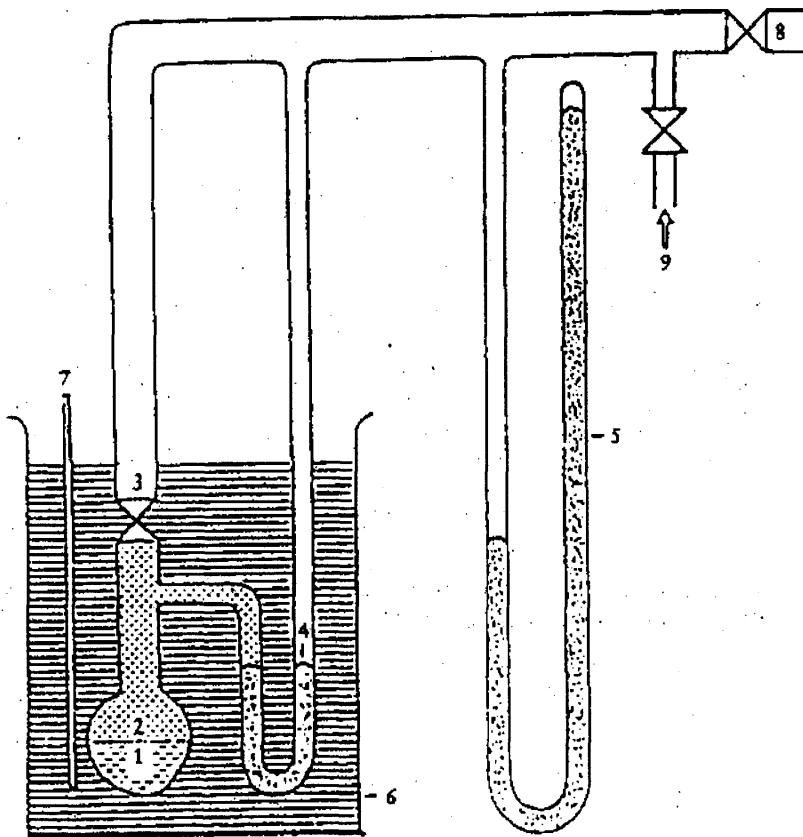
Obrázek 1

Zařízení pro stanovení křivky tlaku par dynamickou metodou



Obrázek 2a

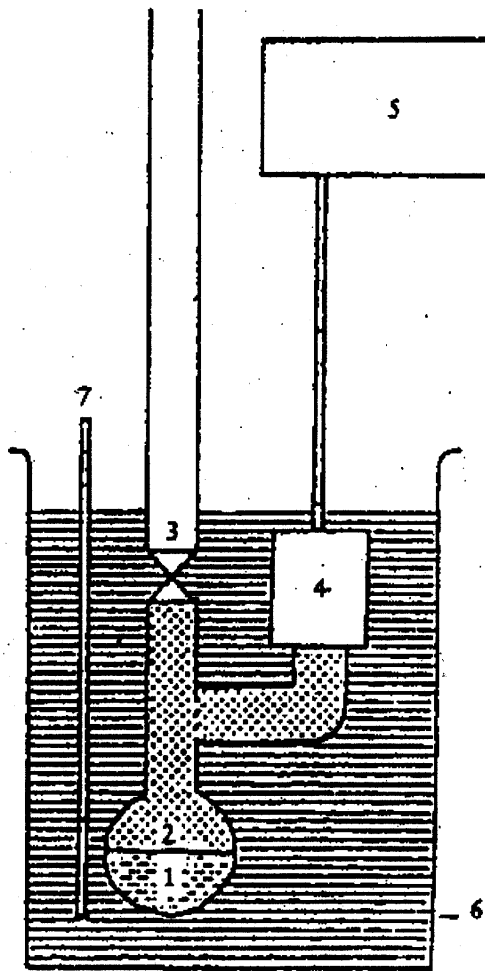
Zařízení pro stanovení křivky tlaku par statickou metodou (s manometrickou U-trubicí)



- | | |
|---------------------------------|---------------------|
| 1. Zkušební látka | 6. Lázeň termostatu |
| 2. Plynná fáze | 7. Měřidlo teploty |
| 3. Vysokovakuový kohout | 8. K vývěvě |
| 4. U-trubice (pomocný manometr) | 9. Odvzdušnění |
| 5. Manometr | |

Obrázek 2b

Zařízení pro stanovení křivky tlaku par statickou metodou (s použitím ukazatele tlaku)

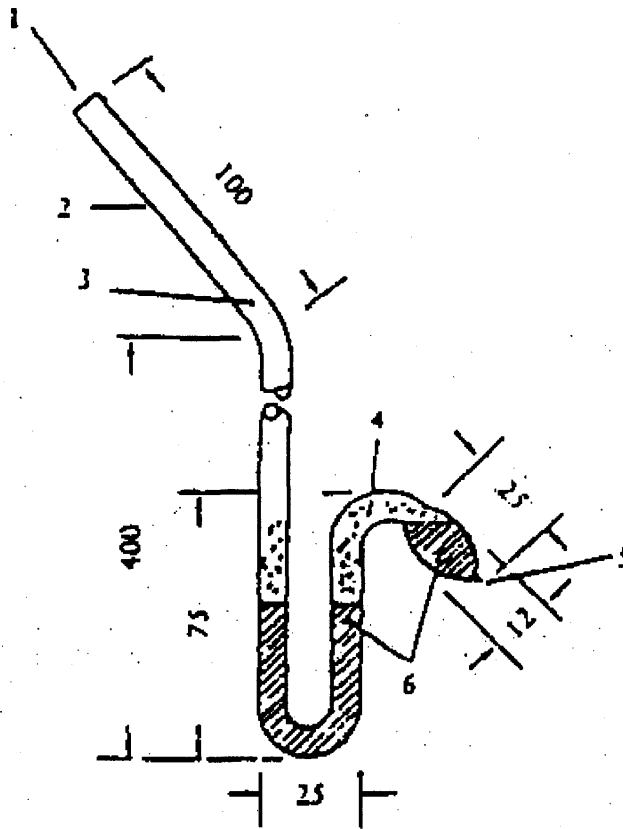


1. Zkušební látka
2. Plynná fáze
3. Vysokovakuový kohout
4. Stupnice tlaku

5. Ukazatel tlaku
6. Lázeň termostatu
7. Měřidlo teploty

Obrázek 3

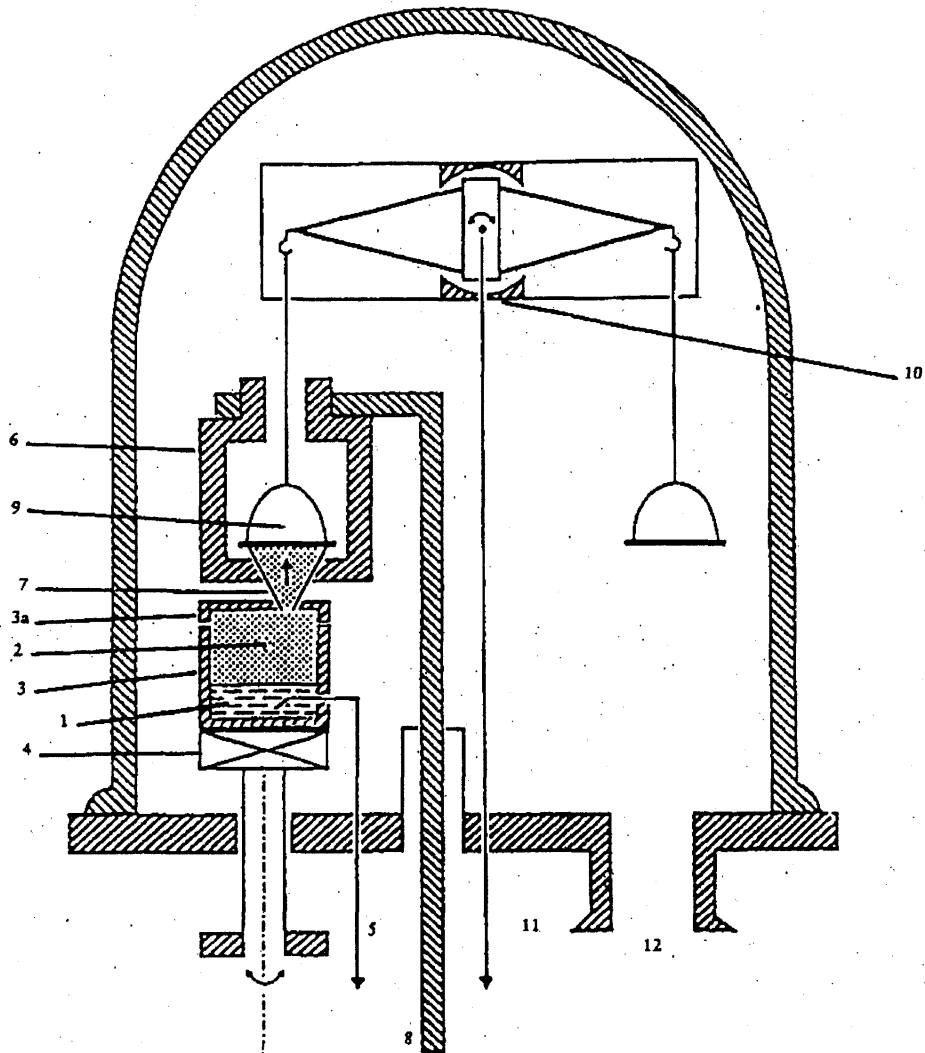
Isoteniskop (viz literatura (7))



1. K systému měření a kontroly tlaku
2. Trubice s vnějším průměrem 8 mm
3. Suchý dusík v tlakovém systému
4. Páry vzorku
5. Špička baňky
6. Kapalný vzorek

Obrázek 4

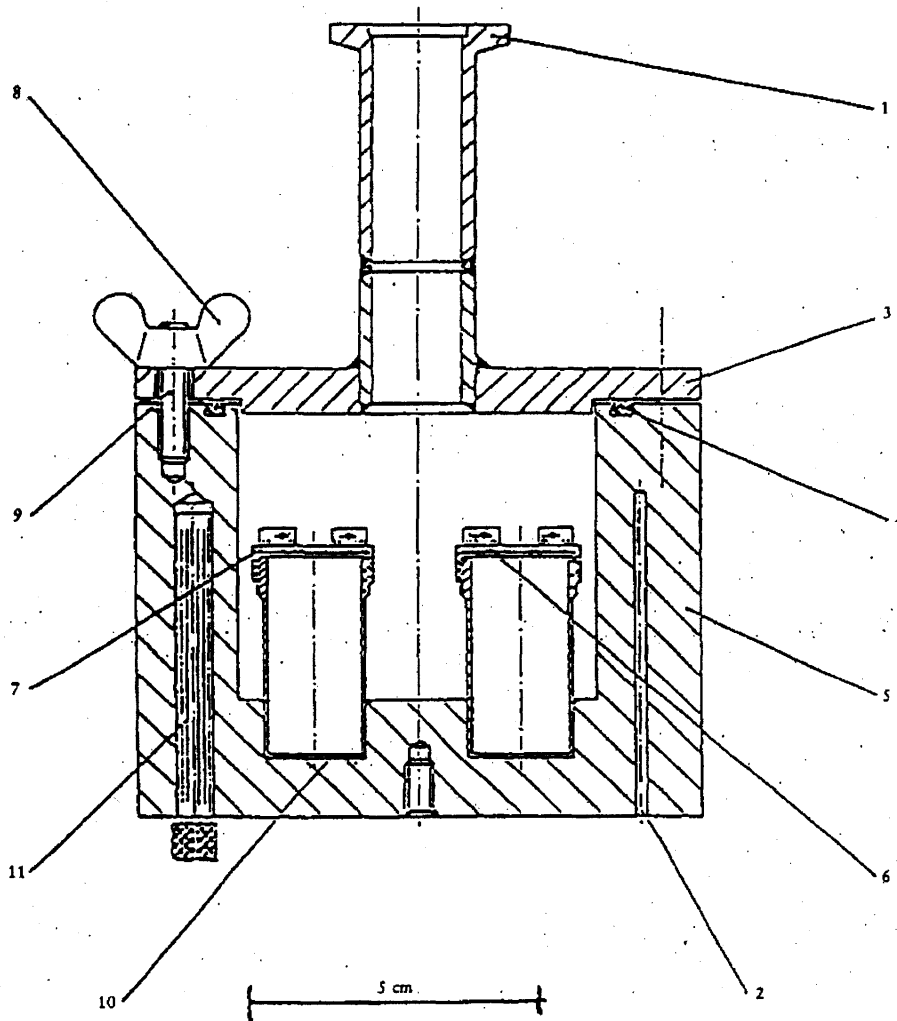
Zařízení pro stanovení křivky tlaku par podle metody stanovení tlaku par pomocí vah



- | | |
|---------------------------------------|----------------------------|
| 1. Zkušební látka | 7. Clona |
| 2. Plynná fáze s proudem par | 8. Tyčka chladičho bloku |
| 3. Odpařovací pícka s otočným vstupem | 9. Miska vah |
| 3a. Víko s otvory | 10. Mikrováhy |
| 4. Vyhřívání pícky (chlazení) | 11. K zapisovači |
| 5. Měření teploty vzorku | 12. K vysokovakuové vývěvě |
| 6. Chladičí box | |

Obrázek 5

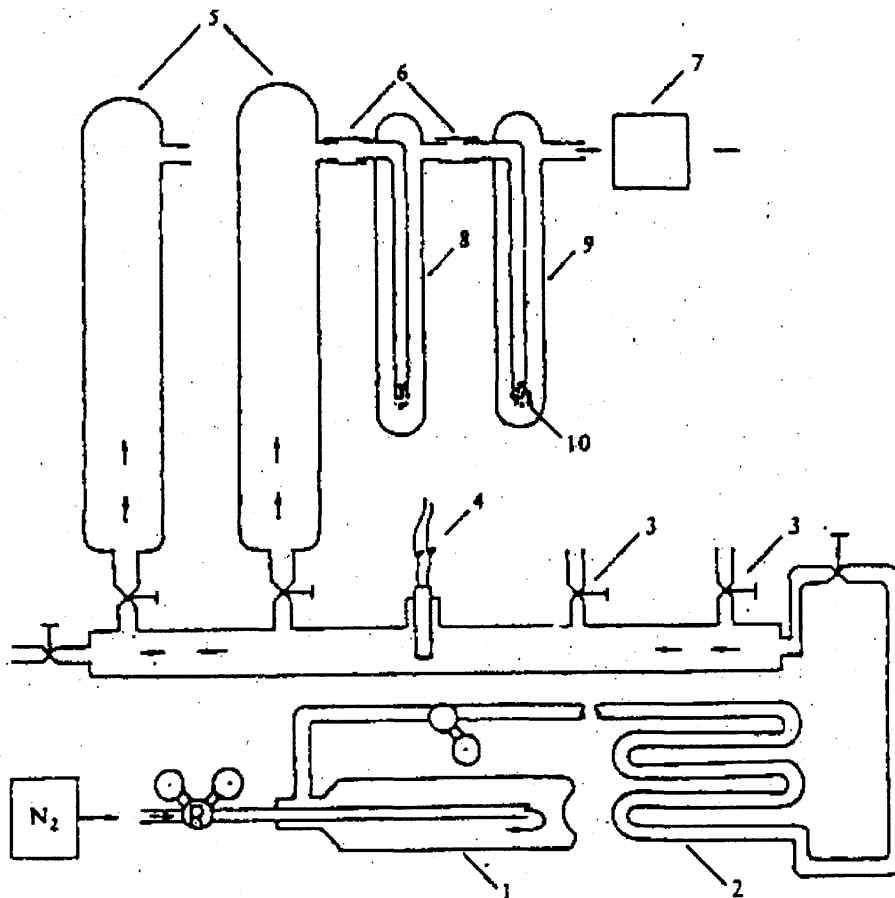
Příklad zařízení pro odpařování za nízkého tlaku při efusní metodě, vybaveného efusní komůrkou o objemu 8 cm³



1. Přípojka k vakuu
2. Otvory pro platinový odporový teploměr nebo pro systém měření a kontroly teploty (2)
3. Víko vakuového bloku
4. O-kroužek
5. Hliníkový vakuový blok
6. Zařízení pro zasouvání a vytahování efusních komůrek
7. Šroubovací víčko
8. Křídlové matice (6)
9. Šrouby (6)
10. Efusní komůrky z korozivzdorné oceli
11. Topná tělesa (6)

Obrázek 6a

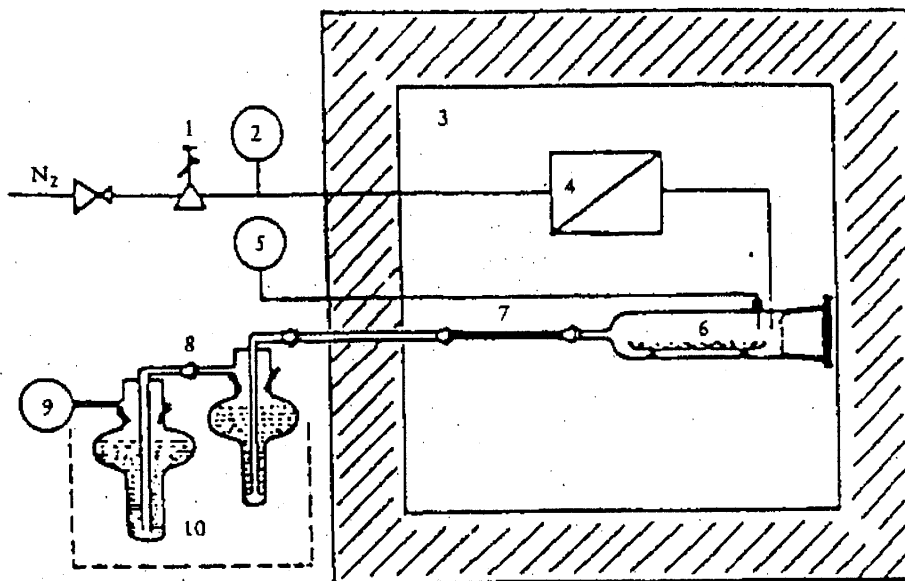
Příklad průtokového systému pro stanovení tlaku par metodou nasycení plynu



- 1 = Regulátor průtoku
- 2 = Výměník tepla
- 3 = Jehlové ventily
- 4 = Čidlo pro měření relativní vlhkosti plynu
- 5 = Saturační kolony
- 6 = Těsnění z PTFE
- 7 = Průtokoměr
- 8 = Lapač (absorbér)
- 9 = Olejový lapač
- 10 = Fritový počítáč bublinek

Obrázek 6b

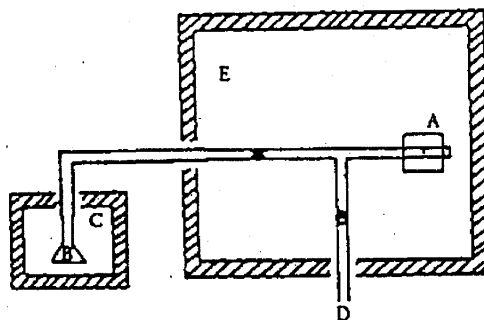
Příklad zařízení pro stanovení tlaku par metodou nasycení plynu s kapilárou
zařazenou za sytící kolonu



- | | |
|---|--------------------|
| 1. Průtokoměr s vyhřívanou spirálou | 6. Sytící kolona |
| 2. Manometr | 7. Kapilára |
| 3. Lázeň termostatu | 8. Absorbéry |
| 4. Spirála pro termostatování nosného plynu | 9. Plynoměr |
| 5. Teploměr (Pt 100) | 10. Chlazený lapač |

Obrázek 7

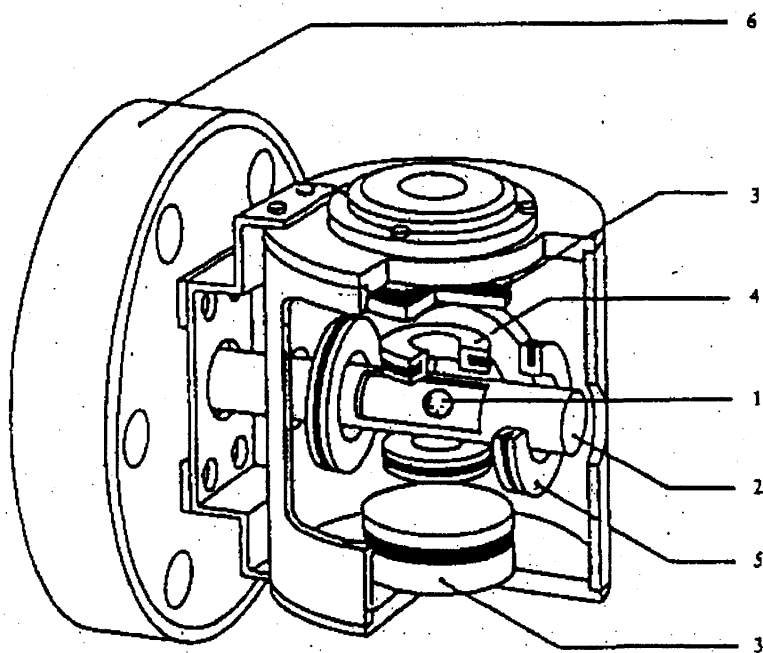
Příklad experimentálního uspořádání pro metodu rotujícího tělíska



- Zařízení pro měření tlaku par
- A. Hlava pro snímání otáček rotujícího tělíska
 - B. Komůrka se vzorkem
 - C. Termostat
 - D. Zdroj vakua (turbomolekulární vývěva)
 - E. Vzduchový termostat

Obrázek 8

Příklad měřicí hlavy s rotujícím tělískem



1. Kulička
2. Evakuovaný trubkový nástavec k 6
3. Permanentní magnety
4. Cívky (2) pro svislou stabilizaci
5. Hnací cívky (4)
6. Připojovací spojka

V. METODY PRO STANOVENÍ POVRCHOVÉHO NAPĚTÍ – metody uvedené v bodu A.5 přílohy směrnice 92/69/EHS

V.1 METODA

Popsané metody jsou založeny na Pokynech OECD pro zkoušení (1). Jejich základní principy jsou uvedeny v literatuře (2).

V.1.1 ÚVOD

Popsané metody jsou určeny pro měření povrchového napětí vodných roztoků.

Před provedením těchto zkoušek je vhodné mít k dispozici předběžné informace o rozpustnosti látky ve vodě, o její struktuře, o hydrolyze a o kritické koncentraci pro tvorbu micel.

Níže uvedené metody jsou použitelné pro většinu chemických látek bez omezení z hlediska stupně jejich čistoty.

Měření povrchového napětí metodou prstencového tenziometru je omezeno na vodné roztoky s dynamickou viskozitou nižší než přibližně 200 mPa·s.

V.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Povrchová volná enthalpie vztážená na jednotku povrchu se nazývá povrchové napětí.

Povrchové napětí se vyjadřuje těmito jednotkami:

$\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$ (v soustavě SI) nebo

$\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ (odvozená jednotka v soustavě SI)

$1 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1} = 10^3 \text{ dyn}\cdot\text{cm}^{-1}$

$1 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1} = 1 \text{ dyn}\cdot\text{cm}^{-1}$ ve staré soustavě CGS

V.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Při vyšetřování nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provedení metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

Referenční látky, které pokrývají široké rozpětí hodnot povrchového napětí, jsou uvedeny v literatuře (1, 3).

V.1.4 PODSTATA METOD

Metody jsou založeny na měření největší síly, kterou je nutné působit ve svislém směru na třmínek nebo prstenec, který se dotýká povrchu zkoumané kapaliny umístěné v měřicí nádobě, aby se od tohoto povrchu oddělil, nebo na destičku, která se svým okrajem dotýká povrchu, aby se vzniklý film vytáhl nahoru.

Látky, jejichž rozpustnost ve vodě dosahuje hodnoty alespoň $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ se zkoušejí ve vodných roztocích při jedné koncentraci.

V.1.5 KRITÉRIA JAKOSTI

Přesnost těchto metod je pravděpodobně vyšší, než je požadováno pro účely hodnocení stavu životního prostředí.

V.1.6 POPIS METOD

Připraví se roztok látky v destilované vodě. Koncentrace roztoku by měla být 90 % koncentrace nasyceného roztoku látky ve vodě; pokud tato koncentrace přesáhne $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, použije se k měření roztok o koncentraci $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Látky, jejichž rozpustnost je menší než $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, není nutné zkoušet.

V.1.6.1 Destičková metoda

Viz ISO 304 a NF T 73-060 (Surface active agents – determination of surface tension by drawing up liquid films).

V.1.6.2 Třmínková metoda

Viz ISO 304 a NF T 73-060 (Surface active agents – determination of surface tension by drawing up liquid films).

V.1.6.3 Prstencová metoda

Viz ISO 304 a NF T 73-060 (Surface active agents – determination of surface tension by drawing up liquid films).

V.1.6.4 Harmonizovaná prstencová metoda OECD

V.1.6.4.1 Aparatura

Pro toto měření jsou vhodné komerční tenziometry. Sestávají z těchto částí:

- pohyblivý stolek pro vzorek,
- systém měření síly,
- měřicí tělísko (prstenec),
- měřicí nádoba.

V.1.6.4.1.1 Pohyblivý stolek pro vzorek

Pohyblivý stolek pro vzorek slouží jako podložka pro termostatovanou měřicí nádobu, ve které je kapalina, která má být zkoušena. Spolu se systémem měření síly je upevněn na stojanu.

V.1.6.4.1.2 Systém měření síly

Systém měření síly je umístěn nad stolem pro vzorek (viz obrázek). Chyba měření síly nemá překročit $\pm 10^{-6}$ N, což odpovídá chybě $\pm 0,1$ mg při měření hmotnosti. Ve většině případů je měřicí stupnice komerčních tenziometrů dělena v $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, takže je možné povrchové napětí odečítat přímo v $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ s přesností na $0,1 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$.

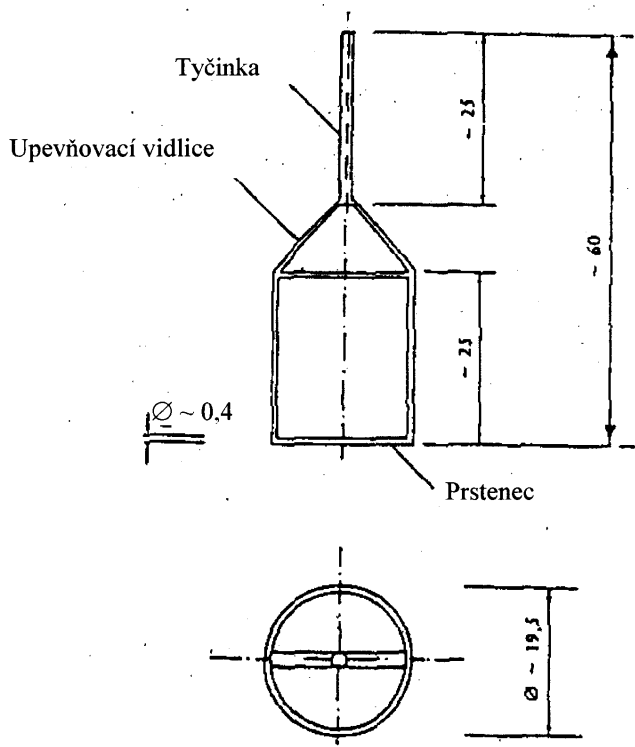
V.1.6.4.1.3 Měřicí tělísko (prstenec)

Prstenec je obvykle zhotoven z platino-iridiového drátu o průměru asi 0,4 mm a středním obvodu 60 mm. Prstenec z drátu je zavěšen vodorovně na upevňovací vidlici z drátu a na kovové tyčince, která tvoří spojení k systému měření síly (viz obrázek).

Obrázek

Měřicí tělísko

(všechny rozměry jsou uvedeny v milimetrech)



V.1.6.4.1.4 Měřicí nádoba

Měřicí nádobou pro zkušební roztok je termostatovaná skleněná nádoba. Má být konstruována tak, aby teplota zkoumané kapaliny i plynné fáze nad jejím povrchem zůstala během měření konstantní a aby se vzorek nemohl odpařovat. Vhodná je válcová skleněná nádoba o vnitřním průměru nejméně 45 mm.

V.1.6.4.2 Příprava aparatury

V.1.6.4.2.1 Čištění

Skleněné nádoby je třeba pečlivě vyčistit: Pokud je to nutné, měly by se vymýt horkou kyselinou chromsírovou a následně koncentrovanou kyselinou fosforečnou (83 až 98% hmot. H_3PO_4), pečlivě vypláchnout tekoucí vodou a nakonec omýt redestilovanou vodou do neutrální reakce a následně vysušit nebo vypláchnout vzorkem kapaliny, která má být měřena.

Prstenec je třeba nejprve pečlivě umýt vodou, aby se odstranily všechny látky rozpustné ve vodě. Poté se krátce ponoří do kyseliny chromsírové, opláchně se v redestilované vodě do neutrální reakce a nakonec se krátce ohřeje nad methanolovým plamenem.

Poznámka:

Znečištění látkami, které se nerozpouštějí ani nerozkládají kyselinou chromsírovou ani kyselinou fosforečnou, jako například silikony, je nutné odstraňovat vhodnými organickými rozpouštědly.

V.1.6.4.2.2 Kalibrování aparatury

Validace aparatury spočívá v ověření nuly a v nastavení přístroje tak, aby jeho údaje umožňovaly spolehlivé stanovení v $mN \cdot m^{-1}$.

Poloha:

Přístroj musí být nastaven do vodorovné polohy, např. pomocí libely položené na základovou desku tenziometru a nastavením stavěcích šroubů základnové desky.

Nastavení nuly:

Po upevnění prstence na aparatuře a před ponořením do kapaliny je třeba nastavit nulu ukazatele tenziometru a zkontrolovat rovnoběžnost prstence s hladinou kapaliny. K tomu je možné použít hladiny kapaliny jako zrcadla.

Kalibrace:

Vlastní kalibraci před měřením je možné provést dvěma postupy:

- a) Použitím závaží: při tomto postupu se použijí jezdce o známé hmotnosti od 0,1 g do 1,0 g, které se umístí na prstenec. Kalibrační faktor Φ_a , kterým je třeba násobit všechny hodnoty odečtené na přístroji, je možné určit podle rovnice (1):

$$\Phi_a = \frac{\sigma_r}{\sigma_a}$$

kde:

$$\sigma_r = \frac{m g}{2b} \quad (\text{mN} \cdot \text{m}^{-1})$$

- m = hmotnost jezdce (g),
 g = tíhové zrychlení ($981 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-2}$ na úrovni hladiny moře),
 b = střední obvod prstence (cm),
 σ_a = odečtená hodnota na tenziometru po umístění jezdce na prstenec ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$).

- b) Použitím vody: při tomto postupu se použije čistá voda, jejíž povrchové napětí má při $23 \text{ }^\circ\text{C}$ hodnotu $72,3 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$. Tento postup lze provést rychleji než kalibraci se závažími, ale existuje vždy nebezpečí, že povrchové napětí vody je zkresleno stopovým znečištěním povrchově aktivními látkami.

Kalibrační faktor Φ_b , kterým je třeba násobit všechny hodnoty odečtené na přístroji, je možné určit podle rovnice (2):

$$\Phi_b = \frac{\sigma_0}{\sigma_g}$$

kde:

σ_0 = hodnota povrchového napětí vody uvedená v literatuře ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$),

σ_g = naměřená hodnota povrchového napětí vody ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$),

obě při stejné teplotě.

V.1.6.4.3 Příprava vzorků

Připraví se vodné roztoky zkušebních látek o požadované koncentraci, které nesmějí obsahovat nerozpuštěné složky.

Roztoky musí být udržovány při konstantní teplotě ($\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$). Protože se povrchové napětí roztoku v měřicí nádobě v čase mění, provedou se měření v různých časech a sestrojí se křivka závislosti povrchového napětí

na čase. Nedochází-li k žádným dalším změnám, bylo dosaženo rovnovážného stavu.

Měření je ovlivňováno znečištěním prachem nebo plynnými látkami. Práce musí být tedy prováděny pod ochranným krytem.

V.1.6.5 Zkušební podmínky

Měření se provádí přibližně při +20 °C a udržuje se tolerance $\pm 0,5$ °C.

V.1.6.6 Postup zkoušky

Roztoky, které mají být měřeny, se převedou do pečlivě vyčištěné měřicí nádoby, přičemž je třeba dbát na to, aby nedošlo k pění, a nádoba se poté postaví na stolek zkušební aparatury. Horní část stolku s měřicí nádobou se vysune tak vysoko, aby se prstenec ponořil pod povrch roztoku, který má být měřen. Horní část stolku se následně postupně a rovnoměrně sníží (rychlostí přibližně $0,5 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$), aby došlo k oddělení prstence od povrchu, a to až do dosažení maximální hodnoty síly. Film kapaliny lpící na prstenci se od něho nesmí odtrhnout. Po ukončení měření se prstenec opět ponoří pod povrch a postup se opakuje až do dosažení konstantní hodnoty povrchového napětí. Při každém stanovení se začne zaznamenávat čas v okamžiku plnění roztoku do měřicí nádoby. Odečty se provedou vždy v okamžiku, kdy je dosaženo maximální síly nutné pro oddělení prstence od povrchu kapaliny.

V.2 DATA

Za účelem výpočtu povrchového napětí se hodnota odečtená na přístroji v $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ nejprve vynásobí kalibračním faktorem Φ_a nebo Φ_b (podle použitého postupu kalibrace). Získá se tak hodnota, která však platí pouze přibližně, a vyžaduje proto korekci.

Harkins a Jordan (4) empiricky stanovili korekční faktory pro hodnoty povrchového napětí měřeného prstencovou metodou, které závisí na rozměrech prstence, hustotě kapaliny a jejím povrchovém napětí.

Vzhledem k tomu, že je zdlouhavé stanovovat pro každé jednotlivé měření korekční faktor z tabulek Harkinse a Jordana, lze pro výpočet povrchového napětí vodných roztoků použít zjednodušenou metodu, která spočívá v odečtu korigovaných hodnot povrchového napětí přímo z tabulky. (Pro odečtené hodnoty, které leží mezi hodnotami uvedenými v tabulce, se provede interpolace.)

**TABULKA: KOREKCE NAMĚŘENÝCH HODNOT POVRCHOVÉHO
NAPĚTÍ**

Pouze pro vodné roztoky, $\rho \cong 1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$

$R = 9,55 \text{ mm}$ (střední poloměr prstence)

$r = 0,185$ (poloměr drátu prstence)

Experimentální hodnota ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	Korigovaná hodnota ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	
	Kalibrace závažími (viz 1.6.4.2.2 písm. a))	Kalibrace vodou (viz 1.6.4.2.2 písm. b))
20	16,9	18,1
22	18,7	20,1
24	20,6	22,1
26	22,4	24,1
28	24,3	26,1
30	26,2	28,1
32	28,1	30,1
34	29,9	32,1
36	31,8	34,1
38	33,7	36,1
40	35,6	38,2
42	37,6	40,3
44	39,5	42,3
46	41,4	44,4
48	43,4	46,5
50	45,3	48,6
52	47,3	50,7
54	49,3	52,8
56	51,2	54,9
58	53,2	57
60	55,2	59,1

Experimentální hodnota (mN·m ⁻¹)	Korigovaná hodnota (mN·m ⁻¹)	
	Kalibrace závažími (viz 1.6.4.2.2 písm. a))	Kalibrace vodou (viz 1.6.4.2.2 písm. b))
62	57,2	61,3
64	59,2	63,4
66	61,2	65,5
68	63,2	67,7
70	65,2	69,9
72	67,2	72
74	69,2	–
76	71,2	–
78	73,2	–

Tabulka byla sestavena na základě korekcí podle Harkinse a Jordana. Je obdobou tabulky podle normy DIN 53914 pro vodu a vodné roztoky (hustota $\rho = 1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$); platí pro běžný komerční prstenec o rozměrech $R = 9,55 \text{ mm}$ (střední poloměr prstence) a $r = 0,185 \text{ mm}$ (poloměr drátu prstence). Tabulka udává korigované hodnoty pro měření povrchového napětí získané po kalibraci závažími nebo vodou.

Jiným řešením je vypočítat povrchové bez předchozí kalibrace podle rovnice:

$$\sigma = \frac{f \times F}{4 \pi \cdot R}$$

kde

$F =$ síla udaná měřicím systémem při oddělení filmu

$R =$ poloměr prstence

$f =$ korekční faktor (1)

V.3 ZPRÁVY

V.3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- použitá metoda,
- druh vody nebo použitého roztoku,

- přesná specifikace látky (identifikace a nečistoty),
- výsledky měření: povrchové napětí (odečtené hodnoty) s uvedením jednotlivých odečtených hodnot a jejich aritmetického průměru a rovněž korigované střední hodnoty (příčemž se bere v úvahu kalibrační faktor a tabulka korekcí),
- koncentrace roztoku,
- zkušební teplota,
- stáří použitého roztoku, zejména časový odstup mezi přípravou roztoku a měřením,
- znázornění časové závislosti povrchového napětí po převedení roztoku do měřicí nádoby,
- uvedou se všechny informace a poznámky, které jsou důležité pro interpretaci výsledků, zejména pokud jde o nečistoty a fyzikální stav látky.

V.3.2 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Vzhledem k tomu, že povrchové napětí vody je $72,75 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ při 20°C , měly by být látky vykazující za podmínek této metody povrchové napětí menší než $60 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ považovány za povrchově aktivní materiály.

V.4 LITERATURA

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 115, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) R. Weissberger (*ed.*). *Technique of Organic Chemistry*, 3rd ed. Interscience Publ., New York, 1959, 1, Part I, Chapter XIV.
- (3) *Pure and Applied Chem.*, 48, 1976, 511.
- (4) Harkins, W. D., Jordan, H. F., *J. Amer. Chem. Soc.*, 52, 1930, 1751.

VI. METODY PRO STANOVENÍ ROZPUSTNOSTI VE VODĚ – metody uvedené v bodu A.6 přílohy směrnice 92/69/EHS

VI.1 METODA

Popsané metody jsou založeny na Pokynech OECD pro zkoušení (1).

VI.1.1 ÚVOD

Před provedením této zkoušky je vhodné mít k dispozici předběžné informace o strukturním vzorci látky, o tenzi par, disociační konstantě a o hydrolyze (jako funkci pH).

Neexistuje jediná dostupná metoda pro celý rozsah rozpustností ve vodě.

Dvě níže popsané metody pokrývají celý rozsah rozpustnosti, nejsou však použitelné pro těkavé látky:

- první metoda, použitelná pro v podstatě čisté látky s malou rozpustností ($< 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), stálé ve vodě; tato metoda se označuje jako „sloupcová eluční metoda“,
- druhá metoda, použitelná pro v podstatě čisté látky s vyšší rozpustností ($> 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), stálé ve vodě; tato metoda se označuje jako „baňková metoda“.

Rozpustnost zkušební látky ve vodě může být značně ovlivněna přítomností nečistot.

VI.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Rozpustnost látky ve vodě je definována hmotnostní koncentrací jejího nasyceného roztoku ve vodě při dané teplotě. Rozpustnost ve vodě se udává v jednotkách hmotnosti na objem roztoku. Jednotkou v soustavě SI je $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ (může se také používat $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$).

VI.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Při zkoušení nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provedení metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

VI.1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍCH METOD

Přibližné množství vzorku a doba nutná pro dosažení hmotnostní koncentrace nasyceného roztoku by měly být stanoveny jednoduchou předběžnou zkouškou.

VI.1.4.1 **Sloupcová eluční metoda**

Tato metoda je založena na vymývání zkušební látky vodou z mikrokolony, naplněné inertním nosičem, např. skleněnými kuličkami nebo pískem, pokrytým přebytkem zkušební látky. Rozpustnost ve vodě se stanoví, jsou-li hmotnostní koncentrace eluátu konstantní. To se projeví jako plató závislosti koncentrace na čase.

VI.1.4.2 **Baňková metoda**

V této metodě se látka (tuhé látky musí být ve formě prášku) rozpustí ve vodě při teplotě, která je o něco vyšší než teplota měření. Po dosažení nasycení se roztok ochladí a udržuje se při teplotě měření, za stálého míchání, dokud se nedosáhne rovnováhy. Jinou možností je provést měření přímo při zkušební teplotě, pokud je vhodným vzorkováním prokázáno, že je dosaženo rovnovážného nasycení. Hmotnostní koncentrace látky ve vodném roztoku, který nesmí obsahovat žádné nerozpuštěné částice, se následně stanoví vhodnou analytickou metodou.

VI.1.5 **KRITÉRIA JAKOSTI**

VI.1.5.1 **Opakovatelnost**

Při sloupcové eluční metodě je dosažitelná opakovatelnost < 30 %; při baňkové metodě by mělo být dosaženo opakovatelnosti < 15 %.

VI.1.5.2 **Citlivost**

Závisí na analytické metodě, lze však stanovit hmotnostní koncentrace až do 10^{-6} g.l^{-1} .

VI.1.6 **POPIS METOD**

VI.1.6.1 **Zkušební podmínky**

Zkouška se provádí pokud možno při teplotě $20 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Předpokládá-li se závislost rozpustnosti ve vodě na teplotě ($> 3 \%$ na $1 \text{ }^\circ\text{C}$), měla by být provedena měření při dvou dalších teplotách, které jsou nejméně o $10 \text{ }^\circ\text{C}$ vyšší a nižší než původně zvolená teplota. V tomto případě by měla být teplota udržována v toleranci $\pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$. Zvolenou teplotu je třeba udržovat ve všech důležitých částech aparatury konstantní.

VI.1.6.2 **Předběžná zkouška**

K přibližně 0,1 g vzorku (tuhé látky musí být v práškové formě) v 10ml odměrném válci uzavíratelném skleněnou zátkou se přidává vzrůstající objem destilované vody o laboratorní teplotě podle kroků uvedených v následující tabulce:

0,1 g rozpuštěno v „x“ ml vody	0,1	0,5	1	2	10	100	> 100
Přibližná rozpustnost (g·l ⁻¹)	> 1 000	1 000 až 200	200 až 100	100 až 50	50 až 10	10 až 1	< 1

Po každém přidání množství vody uvedeného v tabulce se směs intenzivně třepe po dobu 10 min a vizuálně se kontroluje obsah nerozpuštěných částic. Zůstane-li vzorek nebo jeho část po přidání 10 ml vody nerozpuštěný, experiment je nutno opakovat ve 100 ml odměrném válci s větším objemem vody. Při nízkých rozpustnostech může být doba potřebná k rozpuštění látky podstatně delší (je vhodné vyčkat alespoň 24 h*). Přibližná rozpustnost je uvedena v tabulce pod objemem vody potřebným k úplnému rozpuštění vzorku. Není-li látka ani poté úplně rozpuštěna, je vhodné vyčkat delší dobu než 24 h (maximálně 96 h), nebo ředit dále, aby se zjistilo, zda by měla být použita sloupcová eluční metoda nebo baňková metoda.

VI.1.6.3 Sloupcová eluční metoda

VI.1.6.3.1 *Nosič, rozpouštědlo a eluent*

Nosič pro sloupcovou eluční metodu by měl být inertní. Vhodnými materiály, které lze použít, jsou skleněné kuličky a písek. K nanesení zkušební látky na nosič by mělo být použito vhodné těkavé analyticky čisté rozpouštědlo. Jako eluent by měla být použita voda redestilovaná ve skleněné nebo křemenné aparatuře.

Poznámka:

Nesmí se použít voda získaná přímo z organického měniče iontů.

VI.1.6.3.2 *Nanášení na nosič*

Odváží se přibližně 600 mg nosiče a převede se do 50ml baňky s kulatým dnem.

Přiměřené odvážené množství zkušební látky se rozpustí ve zvoleném rozpouštědle. Dostatečný podíl tohoto roztoku se přidá k nosiči. Rozpouštědlo musí být dokonale odpařeno, např. v rotační odparce, jinak se nedosáhne úplného nasycení nosiče vodou kvůli rozdělovacím efektům na povrchu nosiče.

Nanášení zkušební látky na nosič může být problematické (chybné výsledky), sráží-li se zkušební látka na nosiči jako olej nebo krystalická fáze. Problém by měl být řešen experimentálně a podrobnosti by měly být zaznamenány.

* Pozn. překl. V německém originálu: „...až 24 hodin“.

Nosič s nanesenou látkou se nechá 2 h botnat v asi 5 ml vody a suspenze se poté naplní do mikrokolony. Je také možné naplnit mikrokolonu, která byla předtím naplněna vodou, suchým nosičem s nanesenou látkou a poté nechat během dvou hodin ustavit rovnováhu.

Zkušební postup:

Vymývání látky z nosiče lze provádět dvěma různými způsoby:

- oběhovým čerpadlem (viz obrázek 1),
- vyrovnávací nádobou (viz obrázek 4).

VI.1.6.3.3 *Vymývání kolony použitím oběhového čerpadla*

Aparatura

Schematické uspořádání typického systému je znázorněno na obrázku 1. Vhodná mikrokolona je znázorněna na obrázku 2, přijatelná je ovšem i kterákoli jiná velikost za předpokladu, že budou splněna kritéria opakovatelnosti a citlivosti. Prostor hlavy kolony by měl mít obsah nejméně pěti objemů sloupce a měl by být schopný pojmout nejméně pět vzorků. Prostor hlavy kolony může být menší, pokud se počátečních pět objemů sloupce eluovaných s nečistotami nahradí čistým rozpouštědlem.

Kolona by měla být připojena k oběhovému čerpadlu, které zajišťuje konstantní průtok asi $25 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$. Čerpadlo se připojí hadičkami z polytetrafluorethylenu (PTFE), a/nebo skleněnými trubičkami. U aparatury složené z kolony a čerpadla musí být možnost odběru eluátu a vyrovnávání tlaku v hlavě kolony s atmosférickým tlakem. Materiál v koloně se fixuje malým (5 mm) smotkem skelné vaty, který současně slouží k odfiltrování částic. Lze použít např. peristaltické nebo membránové čerpadlo (přitom je třeba dbát na to, aby nedošlo ke znečištění materiálem hadičky a/nebo aby nedošlo k absorpci tímto materiálem).

Postup měření

Zahájí se vymývání kolony. Doporučuje se průtok asi $25 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ (to odpovídá u popsané kolony desetinasobku objemu sloupce za hodinu). Nejméně prvních pět objemů sloupce obsahujících nečistoty rozpustné ve vodě se odstraní. Poté se nechá běžet oběhové čerpadlo až do ustavení rovnováhy, které je dosaženo, neliší-li se koncentrace pěti po sobě následujících vzorků při náhodném výběru o více než $\pm 30\%$, přičemž rozdíly jsou nepravidelné. Tyto vzorky by se měly odebírat v intervalech, během kterých kolonou projde objem eluentu rovný nejméně desetinasobku objemu sloupce.

VI.1.6.3.4 *Vymývání kolony pomocí vyrovnávací nádoby*

Aparatura (viz obrázek 3 a 4)

Vyrovňovací nádoba: je připojena zabroušeným spojem, který je spojen hadičkou z PTFE. Doporučuje se použít rychlost průtoku přibližně $25 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$. Podíly eluátu následující po sobě se shromažďují a jejich koncentrace se analyzují zvolenou metodou.

Postup měření:

Pro stanovení rozpustnosti ve vodě se použijí prostřední podíly eluátu, ve kterých zůstávají koncentrace nejméně v pěti po sobě jdoucích vzorcích konstantní ($\pm 30 \%$).

V obou případech (při použití oběhového čerpadla nebo vyrovnávací nádoby) se druhé promytí provede při poloviční průtokové rychlosti. Shodují-li se výsledky obou pokusů, považuje se výsledek za uspokojivý; je-li zdánlivá rozpustnost při nižší průtokové rychlosti vyšší, je nutné průtok snižovat vždy na polovinu tak dlouho, dokud dva po sobě následující měření neposkytnou stejnou hodnotu rozpustnosti.

V obou případech (v případě oběhového čerpadla nebo vyrovnávací nádoby) je nutné vzorky podrobit zkoušce na koloidní částice pomocí Tyndallova jevu (rozptylem světla). Přítomnosti takových částic je výsledek znehodnocen a zkouška by měla být opakována po zlepšení filtrační funkce kolony.

Mělo by být zaznamenáno pH každého vzorku. Druhé měření je třeba provést při stejné teplotě.

VI.1.6.4 **Bañková metoda**

VI.1.6.4.1 *Zařízení*

Tato metoda vyžaduje následující vybavení:

- běžné laboratorní skleněné nádoby a pomůcky,
- zařízení pro třepání roztoků při regulovaných konstantních teplotách,
- odstředivka (nejlépe termostatovaná), je-li nezbytná v případě emulzí, a
- přístroje pro analytická stanovení.

VI.1.6.4.2 *Postup měření*

Množství materiálu potřebné pro nasycení požadovaného objemu vody se odhadne z předběžného pokusu. Potřebný objem vody závisí na analytické metodě a na rozsahu rozpustnosti. Do tří skleněných nádobek opatřených

skleněnými zátkami (např. centrifugačních kyvet, baněk) se naváží asi pětinasobek odhadnutého množství materiálu. Do každé z nádobek se přidá zvolené množství vody a nádoby se těsně uzavřou. Uzavřené nádoby se poté třepou při 30 °C. (K tomuto účelu by měla být použita třepačka nebo míchačka pracující při konstantní teplotě, např. magnetické míchání v termostatované vodní lázni.) Po jednom dnu se jedna z nádobek vyjme a nechá se za občasného míchání 24 h stát, aby se ustálila rovnováha při teplotě měření. Poté se obsah nádoby odstředí při teplotě měření a v čiré vodné fázi se vhodnou analytickou metodou stanoví koncentrace zkušební látky. Po dvou, resp. třech dnech se zbylé dvě nádoby po předchozím ustavení rovnováhy nasycení při 30 °C zpracují podobným způsobem. Odpovídají-li hodnoty koncentrace alespoň u posledních dvou nádobek požadované reprodukovatelnosti, je stanovení uspokojivé. Pokud hodnoty koncentrací pro nádoby 1, 2 a 3 vykazují stoupající tendenci, mělo by být celé stanovení opakováno s prodloužením doby pro ustavení rovnováhy.

Měření může být provedeno i bez předběžné inkubace při 30 °C. S cílem zjistit rychlost ustavení saturační rovnováhy se odebírají vzorky do té doby, dokud doba míchání ovlivňuje koncentraci měřeného roztoku.

Mělo by být zaznamenáno pH každého vzorku.

VI.1.6.5 **Analýza**

Pro tato stanovení se upřednostňuje analytická metoda specifická pro danou látku, protože malá množství rozpuštěných nečistot mohou způsobit velké chyby při stanovení rozpustnosti ve vodě. Příklady těchto analytických metod jsou plynová nebo kapalinová chromatografie, titrační metody, fotometrické metody, voltametrické metody.

VI.2 **DATA**

VI.2.1 **SLOUPCOVÁ ELUČNÍ METODA**

Pro každý pokus by měla být vypočtena střední hodnota z nejméně pěti po sobě následujících vzorků vybraných z oblasti po dosažení rovnovážného nasycení a rovněž by měla být vypočtena směrodatná odchylka. Výsledky by měly být uvedeny v jednotkách hmotnosti na jednotku objemu roztoku.

Porovnají se střední hodnoty dvou zkoušek provedených za různých rychlostí průtoku a jejich opakovatelnost by měla být menší než 30 %.

VI.2.2 **BAŇKOVÁ METODA**

Výsledky pro každou ze tří baněk se uvedou samostatně a jsou-li ustálené (opakovatelnost je lepší než 15 %), zprůměrují se a vyjádří se v jednotkách hmotnosti na jednotku objemu roztoku. Je-li rozpustnost velmi vysoká ($> 100 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), může to vyžadovat přepočet hmotnostních jednotek na objemové jednotky s využitím hustoty roztoku.

VI.3 ZPRÁVY

VI.3.1 SLOUPCOVÁ ELUČNÍ METODA

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- výsledky předběžné zkoušky,
- přesná specifikace látky (identita a nečistoty),
- jednotlivé koncentrace, hodnoty rychlosti průtoku a pH pro každý vzorek,
- střední hodnoty a směrodatné odchylky nejméně pro pět vzorků z rovnovážné oblasti křivky nasycení z každého pokusu,
- průměrná hodnota dvou po sobě následujících přijatelných měření,
- teplota vody během procesu tvorby nasyceného roztoku,
- použitá analytická metoda,
- druh použitého materiálu nosiče,
- způsob nanesení studované látky na nosič,
- použité rozpouštědlo,
- poznatky o jakékoli chemické nestálosti látky během zkoušky a při použité analytické metodě,
- všechny informace, které mají význam pro interpretaci výsledků, zvláště s ohledem na nečistoty a fyzikální stav látky.

VI.3.2 BAŇKOVÁ METODA

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- výsledky předběžné zkoušky,
- přesná specifikace látky (identita a nečistoty),
- výsledky jednotlivých analytických stanovení a průměrné hodnoty, pokud byla pro každou nádobku stanovena více než jedna hodnota,
- hodnota pH každého vzorku,
- průměrná hodnota pro dvě různé nádoby, jejichž výsledky jsou ve shodě,
- teplota při zkoušce,

- použitá analytická metoda,
- poznatky o jakékoli chemické nestabilitě látky během zkoušky a při použité analytické metodě,
- všechny informace, které mají význam pro interpretaci výsledků, zvláště s ohledem na nečistoty a fyzikální stav látky.

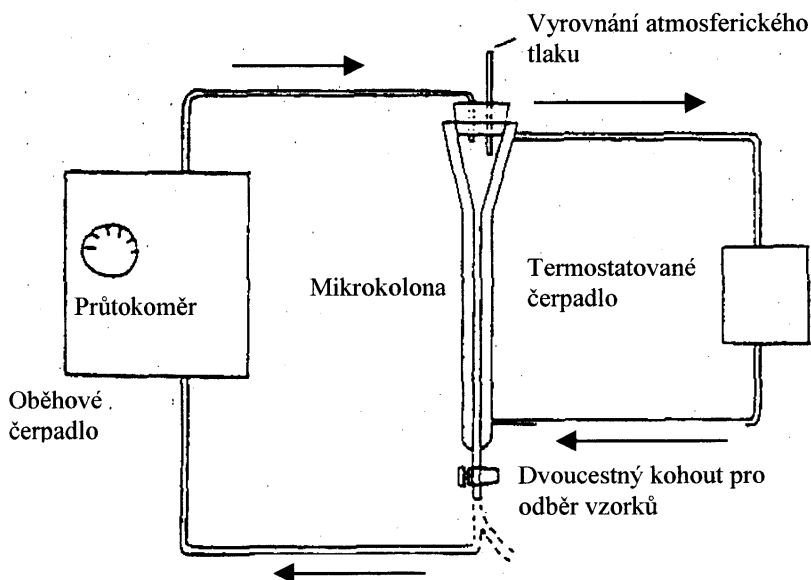
VI.4 LITERATURA

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 105, Decision of the Council C(81) 30 final
- (2) NF T 20-045 (AFNOR) (Sept. 85). Chemical products for industrial use – Determination of water solubility of solids and liquids with low solubility – Column elution method
- (3) NF T 20-046 (AFNOR) (Sept. 85). Chemical products for industrial use – Determination of water solubility of solids and liquids with high solubility – Flask method

DODATEK

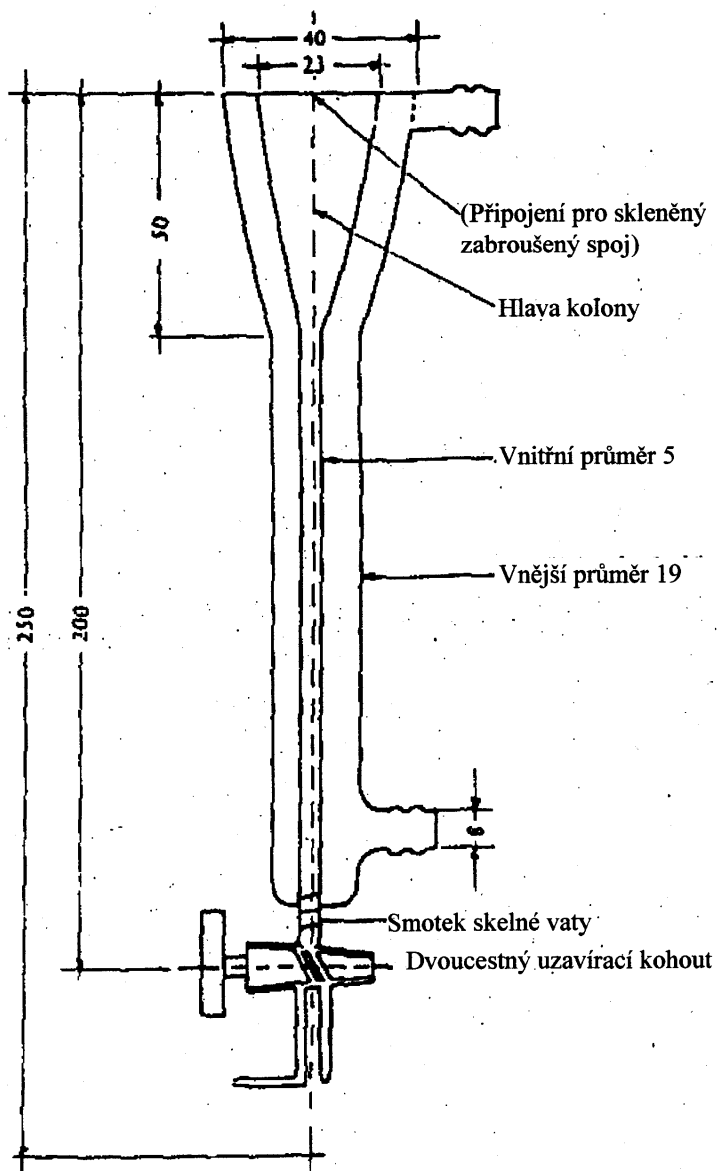
Obrázek 1

Sloupcová eluční metoda s oběhovým čerpadlem



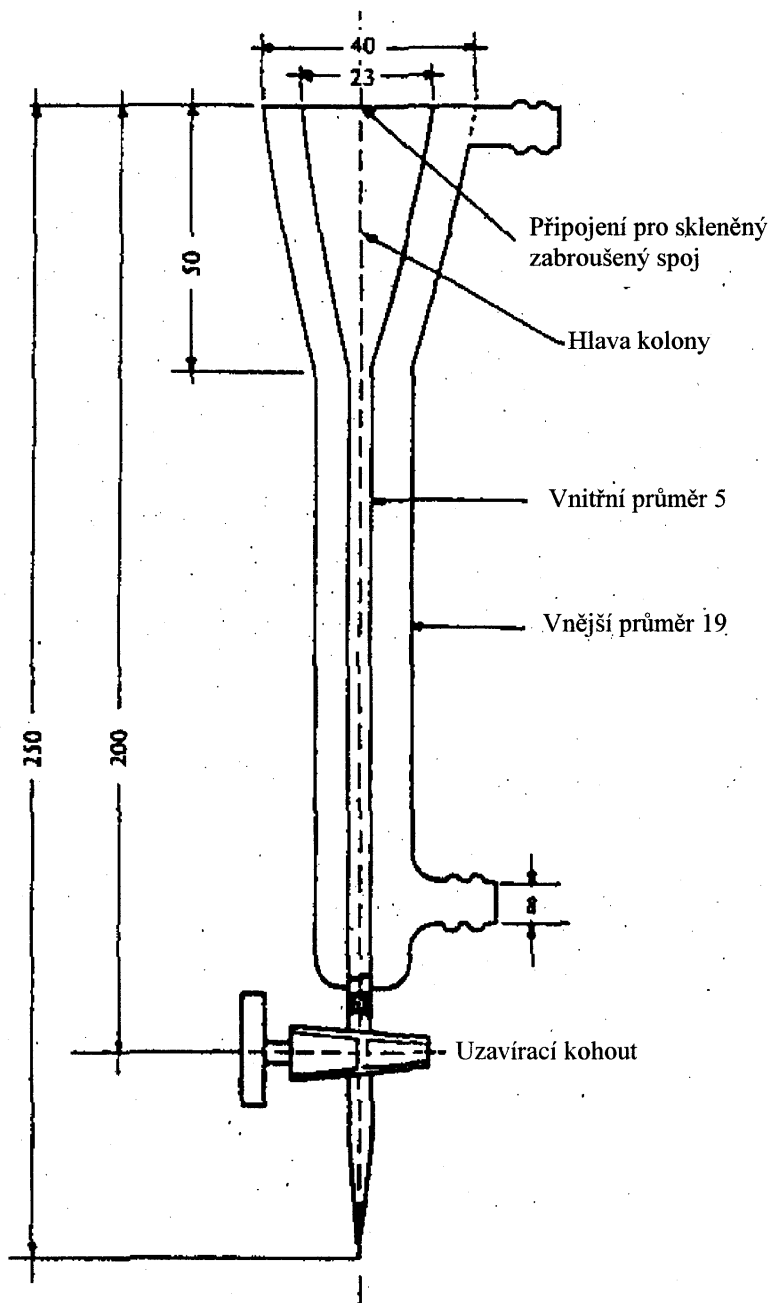
Obrázek 2

Typická mikrokolona
(všechny rozměry v mm)



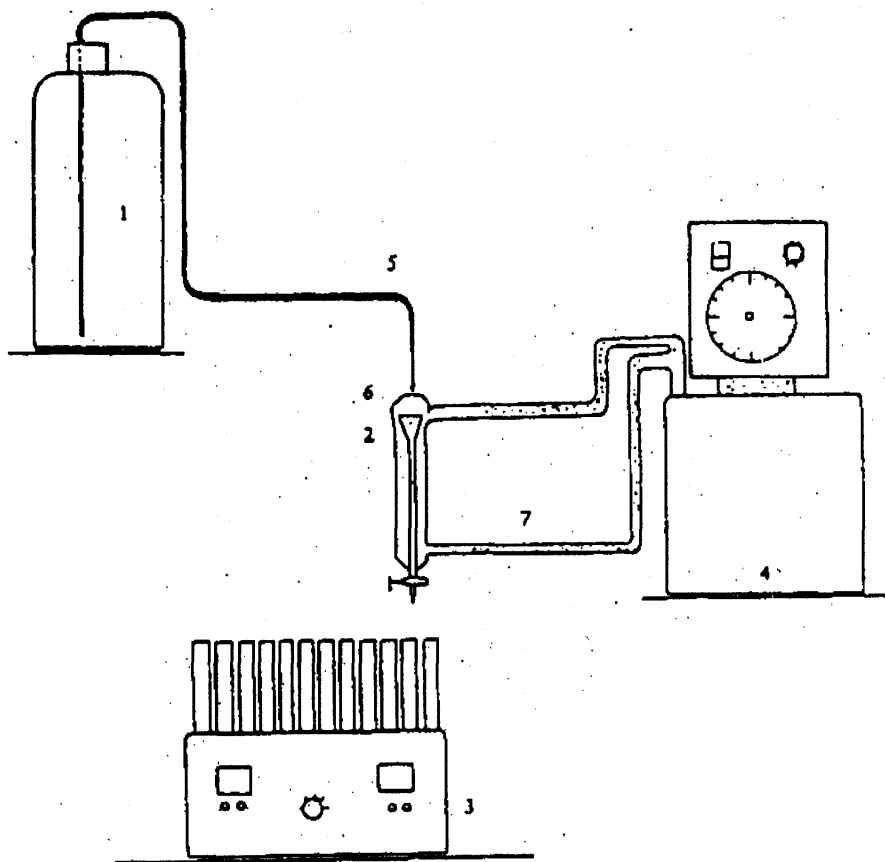
Obrázek 3

Typická mikrokolona
(všechny rozměry v mm)



Obrázek 4

Sloupcová eluční metoda s vyrovnávací nádobou



- 1 = Vyrovnávací nádoba (např. baňka o obsahu 2,5 l)
- 2 = Kolona (viz obrázek 3)
- 3 = Sběrač frakcí
- 4 = Termostat
- 5 = Teflonová hadička
- 6 = Skleněný zabroušený spoj
- 7 = Hadice na vodu (mezi termostatem a kolonou, vnitřní průměr asi 8 mm)

VII. METODY PRO STANOVENÍ ROZDĚLOVACÍHO KOEFICIENTU – metody uvedené v bodu A.8 přílohy směrnice 92/69/EHS

VII.1. METODA

Popsaná metoda „třepací lahve“ je založena na Pokynech OECD pro zkoušení (1).

VII.1.1 ÚVOD

Před provedením této zkoušky je vhodné mít k dispozici předběžné informace o strukturním vzorci látky, disociační konstantě, rozpustnosti ve vodě, hydrolyze, rozpustnosti v n-oktanolu (oktan-1-olu) a o povrchovém napětí.

U disociujících látek by měla být měření prováděna pouze s nedisociovanou formou (volná kyselina nebo volná báze), získanou při použití vhodného pufru o pH nejméně o 1 nižším (volná kyselina) nebo vyšším (volná báze) než pK.

Tato zkušební metoda zahrnuje dva samostatné postupy: metodu třepací lahve a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC). První metodu lze použít, leží-li hodnota $\log P_{o/v}$ (definice viz níže) v rozmezí -2 až 4 , a druhou metodu, leží-li hodnota $\log P_{o/v}$ v rozmezí 0 až 6 . Před provedením kteréhokoli z experimentálních postupů by měl být nejdříve získán předběžný odhad rozdělovacího koeficientu.

Metoda třepací lahve je použitelná pouze pro v podstatě čisté látky, které jsou rozpustné ve vodě a n-oktanolu. Nelze ji použít pro povrchově aktivní látky (pro které by měly být uvedeny hodnota získaná výpočtem nebo odhad založený na příslušných rozpustnostech v n-oktanolu a vodě).

Metoda HPLC není použitelná pro silné kyseliny a zásady, komplexní sloučeniny kovů, povrchově aktivní látky a látky, které reagují s eluentem. Pro tyto látky by měly být uvedeny hodnota získaná výpočtem nebo odhad založený na individuálních rozpustnostech v n-oktanolu a vodě.

Metoda HPLC je méně citlivá na přítomnost nečistot ve zkušební látce než metoda třepací lahve. Někdy však mohou nečistoty ztížit interpretaci výsledků, protože přiřazení píků se stává nejistým. U směsí, které dávají nerozlišitelný pás, by měly být uvedeny spodní a horní mez hodnoty $\log P$.

VII.1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Rozdělovací koeficient (P) je definován jako poměr rovnovážných koncentrací (c_i) rozpuštěné látky ve dvoufázovém systému tvořeném

dvěma prakticky nemísitelnými rozpouštědly. V případě n-oktanolu a vody platí:

$$P_{o/v} = \frac{c_{\text{oktan-1-ol}}}{c_{\text{voda}}}$$

Rozdělovací koeficient (P) je tedy podílem dvou koncentrací a udává se obvykle ve formě svého dekadického logaritmu ($\log P$).

VII.1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Metoda třepací lahve

Při vyšetřování nové látky není nutné vždy používat referenční látky. Měly by v první řadě sloužit k občasné kontrole provádění metody a ke vzájemnému porovnávání výsledků získaných jinými metodami.

Metoda HPLC

Za účelem korelace hodnot naměřených pro danou sloučeninu metodou HPLC s její hodnotou P je nutné sestavit kalibrační graf závislosti $\log P$ na chromatografických datech tvořený nejméně šesti referenčními body. Vhodné referenční látky zvolí uživatel. Pokud je to možné, měla by mít alespoň jedna referenční látka $P_{o/v}$ vyšší než zkušební látka a jiná referenční látka $P_{o/v}$ nižší než zkušební látka. U hodnot $\log P$ nižších než 4 může být kalibrace založena na údajích získaných metodou třepací lahve. U hodnot $\log P$ vyšších než 4 může být kalibrace založena na ověřených hodnotách z literatury, pokud jsou v souladu s vypočtenými hodnotami. Za účelem dosažení vyšší přesnosti je vhodnější volit látky, které mají podobnou strukturu jako zkušební látka.

Rozsáhlé seznamy hodnot $P_{o/v}$ pro mnoho skupin chemických látek jsou dostupné v literatuře (2, 3). Nejsou-li k dispozici údaje o rozdělovacích koeficientech látek s podobnou strukturou, lze použít obecnější kalibraci s jinými referenčními látkami.

Seznam doporučených referenčních látek a jejich hodnot $P_{o/v}$ je uveden v doplňku 2.

VII.1.4 PODSTATA METOD

VII.1.4.1 **Metoda třepací lahve**

Pro stanovení rozdělovacího koeficientu musí být dosaženo rovnováhy mezi všemi vzájemně působícími složkami systému a musí být stanoveny koncentrace látek rozpuštěných v obou fázích. Ze studia literatury vztahující se k této otázce vyplývá, že k řešení tohoto problému lze použít několik různých postupů, např. důkladné promíchání obou fází a jejich následné oddělení za účelem stanovení rovnovážných koncentrací vyšetřované látky.

VII.1.4.2 Metoda HPLC

HPLC se provádí na analytických kolonách plněných komerčně dostupnou pevnou fází obsahující dlouhé uhlovodíkové řetězce (např. C₈, C₁₈) chemicky vázané na oxid křemičitý. Chemické látky nastříknuté do této kolony se v ní pohybují různou rychlostí v důsledku různých stupňů rozdělení mezi mobilní fázi a uhlovodíkovou stacionární fázi. Směsi chemikálií se eluují v pořadí své hydrofobnosti, přičemž se látky rozpustné ve vodě eluují jako první a látky rozpustné v olejích jako poslední, úměrně svému rozdělovacímu koeficientu uhlovodíky-voda. To umožňuje určit vztah mezi retenčním časem v této koloně (s reversními fázemi) a rozdělovacím koeficientem n-oktan/voda. Rozdělovací koeficient se odvodí z *kapacitního faktoru k*, daného výrazem:

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

v němž t_R = retenční čas zkušební látky, t_0 = průměrná doba, kterou molekula rozpouštědla potřebuje k průchodu kolonou (mrtvá doba).

Kvantitativní analytické metody nejsou zapotřebí, nezbytné je pouze stanovení elučních dob.

VII.1.5 KRITÉRIA JAKOSTI

VII.1.5.1 Opakovatelnost

Metoda třepací lahve

S cílem zaručit správnost hodnoty rozdělovacího koeficientu se provedou opakovaná stanovení při třech různých zkušebních podmínkách, přičemž lze měnit jak množství dané látky, tak poměr objemů obou rozpouštědel. Dekadické logaritmy stanovených hodnot rozdělovacího koeficientu by měly ležet v rozmezí $\pm 0,3$.

Metoda HPLC

S cílem zvýšit důvěryhodnost měření musí být provedena opakovaná stanovení. Hodnoty $\log P$ získané z jednotlivých měření by měly ležet v rozmezí $\pm 0,1$.

VII.1.5.2 Citlivost

Metoda třepací lahve

Měřicí rozsah metody je určen mezí detekce analytické metody. Ta by měla umožnit stanovení hodnot $\log P_{o/v}$ v oblasti od -2 do 4 (pokud to podmínky dovolí, lze tuto oblast rozšířit až do hodnoty $\log P_{o/v}$ rovné 5), není-li koncentrace rozpuštěné látky v žádné z fází vyšší než $0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Metoda HPLC

Metoda HPLC umožňuje stanovení rozdělovacích koeficientů v rozsahu $\log P_{o/v}$ od 0 do 6.

Obvykle je možné určit rozdělovací koeficient dané látky s přesností ± 1 řádu vzhledem k hodnotě získané metodou třepací lahve. Typické korelace lze nalézt v literatuře (4, 5, 6, 7, 8). Vyšší přesnosti lze obvykle dosáhnout, je-li korelační závislost založena na referenčních látkách podobné struktury (9).

VII.1.5.3 Specifičnost

Metoda třepací lahve

Nernstův rozdělovací zákon platí pro zředěné roztoky jen při konstantní teplotě a konstantním tlaku a pH. Platí pouze pro čistou látku rozdělenou mezi dvě čistá rozpouštědla. Je-li současně v jedné nebo obou fázích přítomno více rozpuštěných látek, může tím být výsledek ovlivněn.

Disociace nebo asociace rozpuštěných molekul vede k odchýlkám od Nernstova rozdělovacího zákona. Tyto odchylky se projevují tím, že se rozdělovací koeficient stává závislým na koncentraci roztoku.

V důsledku existujících mnohonásobných rozdělovacích rovnováh by tato metoda neměla být použita bez korekcí na disociovatelné sloučeniny. Pro tyto sloučeniny by mělo být zváženo použití pufracích roztoků namísto vody; pH pufracního roztoku by se mělo lišit od pK_a látky nejméně o 1, přičemž se zohlední význam tohoto pH s ohledem na životní prostředí.

VII.1.6 POPIS METODY

VII.1.6.1 **Předběžný odhad rozdělovacího koeficientu**

Hodnotu rozdělovacího koeficientu lze nejlépe odhadnout na základě výpočtu (viz doplněk 1) nebo popřípadě z poměru rozpustností zkušební látky v čistých rozpouštědlech (10).

VII.1.6.2 **Metoda třepací lahve**

VII.1.6.2.1 *Příprava*

n-Oktanol: Stanovení rozdělovacího koeficientu by mělo být provedeno s n-oktanolem (oktan-1-olem) čistoty p.a.

Voda: měla by být použita destilovaná voda nebo redestilovaná voda ve skleněné nebo křemenné aparatuře. V případě potřeby by měly být u disociovatelných látek použity místo vody pufracní roztoky.

Poznámka:

Neměla by být použita voda pocházející přímo z měniče iontů.

VII.1.6.2.1.1 Předběžné nasycení rozpouštědel

Před stanovením rozdělovacího koeficientu se fáze rozpouštědlového systému vzájemně nasatí třepáním při teplotě experimentu. K dosažení tohoto cíle je vhodné 24 h třepat na mechanické třepače ve dvou velkých zásobních lahvích vysoce čistý n-oktanol nebo vysoce čistou vodu, obojí s dostatečným množstvím druhého rozpouštědla, a poté nechat rozpouštědla stát tak dlouho, dokud se obě fáze neoddělí a dokud není dosaženo nasycení.

VII.1.6.2.1.2 Příprava zkoušky

Celkový objem dvofázového systému by měl téměř naplňovat zkušební nádobu. Tím se zamezí ztrátám látek v důsledku odpařování. Poměry objemů a množství látek, které mají být použity, jsou dány

- předběžným odhadem rozdělovacího koeficientu (viz výše);
- minimálním množstvím zkušební látky nezbytným pro postup analýzy, a
- omezením maximální koncentrace v každé fázi na $0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Provedou se tři zkoušky. Při první se použije vypočtený poměr objemů n-oktanolu a vody; při druhé se tento poměr dělí dvěma a při třetí se tento poměr násobí dvěma (např. 1 : 1, 1 : 2, 2 : 1).

VII.1.6.2.1.3 Zkušební látka

Připraví se zásobní roztok v n-oktanolu předem nasyceném vodou. Koncentrace tohoto zásobního roztoku by měla být před jeho použitím ke stanovení rozdělovacího koeficientu přesně stanovena. Tento roztok by měl být uchováván za podmínek, které zajistí jeho stálost.

VII.1.6.2.2 Zkušební podmínky

Zkušební teplota by měla být konstantní ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) a měla by ležet v rozmezí 20 a 25 $^\circ\text{C}$.

VII.1.6.2.3 Postup měření

VII.1.6.2.3.1 Ustavení rovnováhy rozdělení

Pro každou ze zkušebních podmínek by měly být připraveny dvě zkušební nádoby obsahující potřebná přesně odměřená množství obou rozpouštědel spolu s nezbytným množstvím zásobního roztoku.

Fáze n-oktanolu je nutné odměřit objemově. Zkušební nádoby by měly být umístěny do vhodné třepačky, nebo by měly být třepány ručně. Při použití centrifugační kyvety spočívá doporučený postup v tom, že se kyveta rychle otáčí kolem své příčné osy o 180° , takže případný zachycený vzduch stoupá vzhůru oběma fázemi. Ze zkušenosti vyplývá,

že k ustavení rovnovážného rozdělení obvykle stačí 50 takových otočení. Pro jistotu se doporučuje 100 otočení během pěti minut.

VII.1.6.2.3.2 Oddělení fází

V případě potřeby lze oddělení fází provést odstředěním směsi. Odstředění by mělo být provedeno laboratorní odstředivkou udržovanou při laboratorní teplotě, nebo, je-li použita odstředivka bez regulace teploty, by měly být centrifugační kyvety za účelem ustavení rovnováhy udržovány alespoň jednu hodinu před analýzou při zkušební teplotě.

VII.1.6.2.4 Analýza

Za účelem stanovení rozdělovacího koeficientu je nutné stanovit koncentrace zkušební látky v obou fázích. To lze provést odebráním alikvotního podílu každé z obou fází z každé kyvety a pro každou zkušební podmínku a jejich analýzou zvoleným postupem. Celkové množství látky přítomné v obou fázích by mělo být vypočteno a porovnáno s původně dodaným množstvím látky.

Odběr vzorku z vodné fáze je nutné provést postupem minimalizujícím riziko znečištění stopami n-oktanolu: k odběru vzorků vodné fáze lze použít skleněnou injekční stříkačku s vyměnitelnou jehlou. Stříkačka se nejprve částečně naplní vzduchem. Vzduch se při průchodu jehly vrstvou n-oktanolu opatrně vypudí. Do stříkačky se natáhne dostatečný objem vodné fáze. Stříkačka se z roztoku rychle vytáhne a jehla se sejme. Obsah stříkačky lze poté použít jako vzorek vodné fáze. Koncentrace v obou od sebe oddělených fázích by měla být stanovena nejlépe metodou, která je specifická pro danou látku. Příklady možných vhodných analytických metod jsou

- fotometrické metody,
- plynová chromatografie,
- vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

VII.1.6.3 Metoda HPLC

VII.1.6.3.1 Příprava

Aparatura

Nezbytným vybavením je kapalinový chromatograf vybavený bezpulzním čerpadlem a vhodným detekčním zařízením. Doporučuje se používat nástřikový ventil se vstřikovacími smyčkami. Přítomnost polárních skupin ve stacionární fázi může závažně zhoršit účinnost kolony HPLC. Stacionární fáze by proto měla mít minimální podíl polárních skupin (11). Lze použít komerční mikročásticové náplně s reversními fázemi nebo hotové kolony s náplní. Mezi nástřikem a analytickou kolonou může být umístěna ochranná předkolona.

Mobilní fáze

K přípravě elučního rozpouštědla se použije methanol čistoty pro HPLC a voda čistoty pro HPLC, které se před použitím odplyní. Měla by být provedena isokratická eluce. Doporučuje se použít směsi methanol/voda s minimálním obsahem vody 25 %. Obvykle vyhovuje pro eluci sloučenin o $\log P = 6$ během jedné hodiny při průtokové rychlosti $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ směs methanol / voda 3 : 1 (obj.). U sloučenin s vysokou hodnotou $\log P$ může být nutné zkrátit eluční dobu (stejně tak u referenčních látek) snížením polarity mobilní fáze nebo délky kolony.

Látky s velmi nízkou rozpustností v n-oktanolu mají tendenci při použití metody HPLC vykazovat abnormálně nízké hodnoty $\log P_{0/v}$; píky těchto sloučenin někdy doprovázejí čelo rozpouštědla. Je to pravděpodobně způsobeno tím, že proces rozdělení je příliš pomalý, než aby bylo dosaženo rovnováhy za dobu, po kterou obvykle trvá dělení metodou HPLC. Pro dosažení spolehlivé hodnoty může být v takovém případě účinné snížení průtokové rychlosti nebo snížení poměru methanol/voda.

Zkušební i referenční látka by měly být rozpustné v mobilní fázi v dostatečných koncentracích umožňujících jejich detekci. Pouze ve výjimečných případech mohou být u směsi methanol/voda použita aditiva, neboť aditiva mění vlastnosti kolony. V případě chromatogramů získaných při použití aditiv, musí být použita samostatná kolona téhož typu. Nevyhovuje-li směs methanol-voda, lze použít směsi jiných organických rozpouštědel s vodou, např. ethanol-voda nebo acetonitril-voda.

Pro disociovatelné látky je kritické pH eluentu. Mělo by ležet v pracovní oblasti pH kolony, která je obvykle 2 až 8. Doporučuje se použití pufracních roztoků. Je nezbytné dbát na to, aby nedošlo ke srážení solí a narušení kolony, ke kterému dochází u některých směsí organické fáze s pufracním roztokem. Měření pomocí HPLC se stacionárními fázemi na bázi oxidu křemičitého při pH vyšším než 8 se nedoporučuje, neboť použití alkalické mobilní fáze může způsobit rychlé narušení činnosti kolony.

Rozpouštěné látky

Referenční látky by měly mít nejvyšší dostupnou čistotu. Sloučeniny, které se mají používat pro zkoušení nebo kalibraci, se pokud možno rozpustí v mobilní fázi.

Zkušební podmínky

Teplota by během měření neměla kolísat o více než $\pm 2 \text{ K}$.

VII.1.6.3.2 Měření

Výpočet mrtvé doby t_0

Mrtvou dobu t_0 je možné stanovit buď pomocí homologické řady (např. n -alkylmethylketonů) nebo nezadržovaných organických sloučenin (např. thiomocoviny nebo formamidu). Pro výpočet mrtvé doby t_0 s použitím homologické řady se nastříkne sada alespoň sedmi členů homologické řady a stanoví se příslušné retenční časy. Neupravené retenční časy $t_{r(n_c+1)}$ se vynesou jako funkce $t_{r(n_c)}$ a stanoví se absolutní člen a a směrnice b regresní rovnice:

$$t_{r(n_c+1)} = a + b t_{r(n_c)}$$

(n_c = počet atomů uhlíku). Mrtvá doba t_0 je dána vztahem:

$$t_0 = a/(1 - b)$$

Kalibrační křivka

Následujícím krokem je sestrojení korelační závislosti hodnot $\log k$ na $\log P$ pro příslušné referenční látky. V praxi se současně nastříkne soubor 5 až 10 standardních referenčních látek, jejichž $\log P$ leží v očekávané oblasti, a stanoví se retenční časy, nejlépe zapisovacím integrátorem napojeným na detekční systém. Vypočtou se příslušné logaritmy kapacitních faktorů, $\log k$, a vynesou se jako funkce hodnot $\log P$ stanovených metodou třepací lahve. Kalibrace se provádí v pravidelných intervalech nejméně jednou denně, aby bylo možné zohlednit případné změny činnosti kolony.

Stanovení kapacitního faktoru zkušební látky

Zkušební látka se nastříkne v co nejmenším množství mobilní fáze. Stanoví se retenční čas (dvakrát), umožňující výpočet kapacitního faktoru k . Z korelační křivky referenčních látek je možné interpolací získat rozdělovací koeficient zkušební látky. U velmi nízkých a velmi vysokých rozdělovacích koeficientů je nutná extrapolace. V těchto případech je nutno věnovat zvláštní pozornost intervalům spolehlivosti regresní křivky.

VII.2

DATA

Metoda třepací lahve

Spolehlivost stanovených hodnot P je možné prověřit srovnáním středních hodnot z opakovaných stanovení s celkovou střední hodnotou.

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující údaje:

- přesnou specifikaci látky (identitu a nečistoty),
- nejsou-li metody použitelné (např. u povrchově aktivní látky), měla by být uvedena vypočtená hodnota nebo odhad založený na individuálních rozpustnostech látky v n-oktanolu a vodě,
- všechny informace a poznámky, které mají význam pro interpretaci výsledků, zvláště s ohledem na nečistoty a fyzikální stav látky.

Pro metodu třepací lahve:

- výsledek předběžného odhadu, pokud existuje,
- teplotu stanovení,
- údaje o analytických postupech použitých ke stanovení koncentrací,
- dobu a rychlost odstředování, pokud se použilo,
- koncentrace naměřené při každém stanovení v obou fázích (tzn. uvede se celkem 12 koncentrací),
- hmotnost zkušební látky, objem každé fáze použité v každé zkušební nádobě a vypočtené celkové množství zkušební látky, obsažené v jednotlivých fázích po dosažení rovnováhy,
- vypočtené hodnoty rozdělovacího koeficientu (P) a střední hodnotu je nutné uvést pro každý soubor zkušebních podmínek, stejně tak střední hodnotu ze všech stanovení. Pokud existují náznaky závislosti rozdělovacího koeficientu na koncentraci, mělo by to být uvedeno ve zprávě,
- měla by být uvedena směrodatná odchylka jednotlivých hodnot P od střední hodnoty,
- měl by být také uveden dekadický logaritmus střední hodnoty P ze všech stanovení,
- vypočtená teoretická hodnota $P_{o/v}$, byla-li stanovena nebo je-li naměřená hodnota $> 10^4$,
- pH použité vody a vodné fáze během experimentu,
- pokud byly použity pufry, zdůvodnění jejich použití místo vody, jejich složení, koncentrace a pH, pH vodné fáze před a po experimentu.

Pro metodu HPLC:

- výsledek předběžného odhadu, pokud existuje,
- zkušební látka a referenční látky, jejich čistota,
- teplotní rozmezí při stanoveních,
- pH, při kterém se prováděla stanovení,
- podrobnosti o analytické a ochranné koloně, o mobilní fázi a o způsobu detekce,
- retenční data a hodnoty $\log P$ z literatury pro referenční látky použité ke kalibraci,
- podrobnosti o proložené regresní přímce ($\log k$ versus $\log P$),
- průměrná retenční data a interpolovaná hodnota $\log P$ pro zkušební sloučeninu,
- popis zařízení a pracovních podmínek,
- eluční křivky,
- množství zkušební látky a referenčních látek zavedených do kolony,
- mrtvý čas a způsob jeho měření.

VII.4

LITERATURA

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 107. Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) C. Hansch, A. J. Leo. Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology. John Wiley, New York, 1979.
- (3) Log P and Parameter Database, A tool for the quantitative prediction of bioactivity (C. Hansch, *chairman*, A. J. Leo, *dir.*): Dostupné: Pomona College Medical Chemistry Project 1982, Pomona College, Claremont, California 91711.
- (4) L. Renberg, G. Sundström, K. Sundh-Nygård. *Chemosphere*, 1980, 80, 683.
- (5) H. Ellgehausen, C. D' Hondt, R. Fuerer. *Pestic. Sci.*, 1981, 12, 219 (1981).
- (6) B. McDuffie. *Chemosphere*, 1981, vol 10, 73.
- (7) W. E. Hammers *et al.*, *J. Chromatogr.* 1982, 247, 1.

- (8) J. E. Haky, A. M. Young. *J. Liq. Chromat.*, 1984, 7, 675.
- (9) S. Fujisawa, E. Masuhara. *J. Biomed. Mat. Res.*, 1981, 15, 787.
- (10) O. Jubermann. Verteilen und Extrahieren. V: Methoden der Organischen Chemie (Houben Weyl), Allgemeine Laboratoriumspraxis (ed. E. Muller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1958, Band I/1, 223-339.
- (11) R. F. Rekker, H. M. de Kort. *Euro. J. Med. Chem.* 1979, vol 14, 479.
- (12) A. Leo, C. Hansch, D. Elkins. Partition coefficients and their uses. *Chem. Rev.*, 1971, 71, 525.
- (13) R. F. Rekker. The Hydrophobic Fragmental Constant. Elsevier, Amsterdam, 1977.
- (14) NF T 20-043 AFNOR (1985). Chemical products for industrial use – Determination of partition coefficient – Flask shaking method.
- (15) C. V. Eadsforth, P. Moser. *Chemosphere*, 1983, 12, 1459.
- (16) A. Leo, C. Hansch, D. Elkins. *Chem. Rev.*, 1971, 71, 525.
- (17) C. Hansch, A. Leo, S. H. Unger, K. H. Kim, D. Nikaitani, E. J. Lien, *J. Med Chem.* 1973, 16, 1207.
- (18) W. B. Neely, D. R. Branson, G. E. Blau. *Environ. Sci. Technol.* 1974, 8, 1113.
- (19) D. S. Brown, E. W. Flagg. *J. Environ. Qual.* 1981, 10, 382.
- (20) J. K. Seydel, K. J. Schaper. Chemische Struktur und biologische Aktivität von Wirkstoffen. Verlag Chemie, Weinheim, New York 1979.
- (21) R. Franke. Theoretical Drug Design Methods. Elsevier, Amsterdam 1984.
- (22) Y. C. Martin. Quantitative Drug Design. Marcel Dekker, New York, Basel 1978.
- (23) N. S. Nirrlees, S. J. Noulton, C. T. Murphy, P. J. Taylor. *J. Med. Chem.* 1976, 19, 615.

DODATEK 1

Metody výpočtu nebo odhadu

ÚVOD

Obecný úvod do výpočtových metod, data a příklady jsou uvedeny v příručce *Handbook of Chemical Property Estimation Methods* (a).

Vypočtené hodnoty $P_{o/v}$ lze použít

- k rozhodnutí, která z experimentálních metod je vhodná (rozsah u třepací lahve: $\log P_{o/v}$: -2 až 4, rozsah u HPLC: $\log P_{o/v}$: 0 až 6),
- k volbě vhodných zkušebních podmínek (např. referenčních látek pro postupy HPLC, poměr objemů n-oktanol/voda pro metodu třepací lahve),
- jako vnitřní laboratorní kontrolu možných experimentálních chyb,
- k získání odhadu $P_{o/v}$ v případech, kdy zkušební metody nelze z technických důvodů použít.

METODA ODHADU

Předběžný odhad rozdělovacího koeficientu

Hodnotu rozdělovacího koeficientu je možné odhadnout s použitím rozpustnosti zkušební látky v čistých rozpouštědlech:

Pro tento případ platí:

$$P_{\text{odhad}} = \frac{\text{nasycení } c_{\text{oktan-1-ol}}}{\text{nasycení } c_{\text{voda}}}$$

VÝPOČTOVÉ METODY

Podstata výpočtových metod

Všechny výpočtové metody jsou založeny na formálním dělení molekul do vhodných podstruktur, pro něž jsou známy spolehlivé hodnoty přírůstků $\log P_{o/v}$. Hodnota $\log P_{o/v}$ celé molekuly se poté vypočte jako součet hodnot pro příslušné fragmenty plus součet korekčních členů pro intramolekulární interakce.

Existují seznamy konstant fragmentů a korekčních členů (b, c, d, e). Některé se pravidelně aktualizují (b).

Kritéria jakosti

Spolehlivost výpočtové metody obecně klesá s rostoucí složitostí zkoumané sloučeniny. V případě jednoduchých molekul s nízkou molekulovou hmotností a

jednou nebo dvěma funkčními skupinami lze očekávat, že odchylky hodnot $\log P_{o/v}$ získaných různými fragmentačními metodami od naměřené hodnoty budou v rozmezí od 0,1 do 0,3. U složitějších molekul může být rozpětí chyby větší. Závisejí to na spolehlivosti a dostupnosti konstant pro fragmenty a rovněž na schopnosti zjistit intramolekulární interakce (např. vodíkové vazby) a na správném používání korekčních členů (což není obtížné při použití počítačového programu CLOGP-3) (b). V případě disociujících látek je důležité správně zohlednit náboj nebo stupeň disociace.

Postupy výpočtu

Hanschova π -metoda

Původní konstanta hydrofobnosti substituentu π zavedená Fujitou *et al.* (f) je definována jako

$$\pi_x = \log P_{o/v}(\text{PhX}) - \log P_{o/v}(\text{PhH})$$

kde $P_{o/v}(\text{PhX})$ je rozdělovací koeficient aromatického derivátu a $P_{o/v}(\text{PhH})$ rozdělovací koeficient výchozí sloučeniny

(např. $\pi_{\text{Cl}} = \log P_{o/v}(\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}) - \log P_{o/v}(\text{C}_6\text{H}_6) = 2,84 - 2,13 = 0,71$).

Ze své definice je π -metoda použitelná především u aromatických substituentů. Hodnoty π byly pro velký počet substituentů uspořádány do tabulek (b, c, d). Používají se k výpočtu $\log P_{o/v}$ aromatických molekul nebo substruktur.

Rekkerova metoda

Podle Rekkera (g) se hodnota $\log P_{o/v}$ vypočte takto:

$$\log P_{o/v} = \sum_i a_i f_i + \sum_j (\text{interakční člen})$$

kde f_i představuje konstanty různých molekulárních fragmentů a a_i četnost jejich výskytu ve vyšetřované molekule. Korekční členy je možné vyjádřit jako souhrnný násobek jediné konstanty C_m (tzv. „magické konstanty“). Konstanty pro molekulární fragmenty f_i a C_m byly stanoveny ze seznamu 1 054 experimentálních hodnot $P_{o/v}$ (pro 825 sloučenin) pomocí vícenásobné regresní analýzy (c, h). Interakční členy se určí podle stanovených pravidel popsanych v literatuře (e, h, i).

Hanschova-Leova metoda

Podle Hansche a Lea (c) se hodnota $\log P_{o/v}$ vypočte z výrazu:

$$\log P_{o/v} = \sum_i a_i f_i + \sum_j b_j F_j$$

kde f_i představuje konstanty různých molekulárních fragmentů, F_j korekční členy a a_i , b_j odpovídající četnosti výskytů. Na základě experimentálních hodnot $P_{o/v}$ byl pokusně sestaven seznam hodnot pro atomové a skupinové fragmenty a seznam

korekčních členů F_j (tzv. „faktorů“). Korekční členy byly seříděny do několika různých tříd (a, c). Zohlednění všech pravidel a korekčních členů je poměrně složité a časově náročné. Byly vyvinuty sady softwaru (b).

Kombinovaná metoda

Výpočet $\log P_{o/v}$ složitých molekul lze značně zdokonalit, jestliže se molekula rozdělí do větších podstruktur, pro něž existují spolehlivé hodnoty pocházející buď z tabulek (b, c), nebo z vlastních měření. Tyto fragmenty (např. heterocykly, antrachinon, azobenzén) lze poté kombinovat s Hanschovými π -hodnotami nebo s Rekkerovými nebo Leovými konstantami pro fragmenty.

Poznámky

- i) Výpočetní metody lze použít pro částečně nebo úplně disociované sloučeniny pouze tehdy, lze-li vzít v úvahu nezbytné korekční faktory.
- ii) Pokud lze předpokládat přítomnost intramolekulárních vodíkových vazeb, je nutné přičíst odpovídající korekční členy (přibližně 0,6 až 1,0 logaritmu $P_{o/v}$) (a). O přítomnosti těchto vazeb lze usuzovat z prostorových modelů nebo ze spektroskopických dat molekuly.
- iii) Může-li existovat několik tautomerních forem, měla by být jako základ pro výpočet použita nejpravděpodobnější forma.
- iv) Pečlivě by měly být sledovány přepracované seznamy konstant fragmentů.

Protokol o zkoušce

Při použití výpočtové metody nebo metody odhadu by měl protokol o zkoušce pokud možno obsahovat následující údaje:

- popis látky (směs, nečistoty atd.),
- známky přítomnosti intramolekulárních vodíkových vazeb, disociace, nábojů a dalších neobvyklých efektů (např. tautomerie),
- popis výpočtové metody,
- označení nebo uvedení databáze,
- zvláštnosti při volbě fragmentů,
- vyčerpávající dokumentaci výpočtů.

LITERATURA

- (a) W. J. Lyman, W. F. Reehl, D. H. Rosenblatt (ed). Handbook of Chemical Property Estimation Methods. McGraw-Hill, New York, 1983.

- (b) Log P Database and Med. Chem. Software (Program CLOGP-3). Pomona College. Medicinal Chemistry Project, Claremont, California 91711, USA.
- (c) C. Hansch, A. J. Leo. *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*. John Wiley, New York, 1979.
- (d) A. Leo, C. Hansch, D. Elkins. *Chem. Rev.* 1971, 71, 525
- (e) R. F. Rekker, H. M. de Kort. *Eur. S. Med. Chem. – Chim. Ther.* 1979, 14, 479.
- (f) T. Fujita, J. Iwasa, C. Hansch. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1964, 86, 5175.
- (g) R. F. Rekker. *The Hydrophobic Fragmental Constant*, Pharmacochemistry Library. Elsevier, New York, 1977, 1.
- (h) C. V. Eadsforth, P. Moser. *Chemosphere*, 1983, 12, 1459.
- (i) R. A. Scherrer, ACS, *American Chemical Society*, Washington D.C., 1984, Symposium Series 255, 225.

DODATEK 2

Doporučené referenční látky pro metodu HPLC

Číslo	Referenční látka	$\log P_{o/v}$	pK_a
1	butan-2-on	0,3	
2	4-acetylpyridin	0,5	
3	anilin	0,9	
4	acetanilid	1,0	
5	benzylalkohol	1,1	
6	4-methoxyfenol	1,3	$pK_a = 10,26$
7	kyselina fenoxyoctová	1,4	$pK_a = 3,12$
8	fenol	1,5	$pK_a = 9,92$
9	2,4-dinitrofenol	1,5	$pK_a = 3,96$
10	benzonitril	1,6	
11	fenylacetonitril	1,6	
12	4-methylbenzylalkohol	1,6	
13	acetofenon	1,7	
14	2-nitrofenol	1,8	$pK_a = 7,17$
15	kyselina 3-nitrobenzoová	1,8	$pK_a = 3,47$
16	4-chloranilin	1,8	$pK_a = 4,15$
17	nitrobenzen	1,9	
18	3-fenylpropan-2-ol	1,9	
19	kyselina benzoová	1,9	$pK_a = 4,19$
20	<i>p</i> -kresol	1,9	$pK_a = 10,17$
21	kyselina skořicová	2,1	$pK_a = 3,89$ cis 4,44 trans
22	anisol	2,1	
23	methyl-benzoát	2,1	
24	benzen	2,1	
25	kyselina 3-methylbenzoová	2,4	$pK_a = 4,27$

Číslo	Referenční látka	log $P_{o/v}$	pK_a
26	4-chlorfenol	2,4	$pK_a = 9,1$
27	trichlorethylen	2,4	
28	atrazin	2,6	
29	ethyl-benzoát	2,6	
30	2,6-dichlorbenzotrilit	2,6	
31	kyselina 3-chlorbenzoová	2,7	$pK_a = 3,82$
32	toluen	2,7	
33	naftalen-1-ol	2,7	$pK_a = 9,34$
34	2,3-dichloranilin	2,8	
35	chlorbenzen	2,8	
36	allylfenylether	2,9	
37	brombenzen	3,0	
38	ethylbenzen	3,2	
39	benzofenon	3,2	
40	4-fenylfenol	3,2	$pK_a = 9,54$
41	thymol	3,3	
42	1,4-dichlorbenzen	3,4	
43	difenylamin	3,4	$pK_a = 0,79$
44	naftalen	3,6	
45	fenyl-benzoát	3,6	
46	isopropylbenzen	3,7	
47	2,4,6-trichlorfenol	3,7	$pK_a = 6$
48	bifenyl	4,0	
49	benzyl-benzoát	4,0	
50	2,4-dinitro-6- <i>sek</i> -butylfenol	4,1	
51	1,2,4-trichlorbenzen	4,2	
52	kyselina dodekanová	4,2	
53	difenylether	4,2	

Číslo	Referenční látka	log $P_{o/v}$	p <i>K_a</i>
54	<i>n</i> -butylbenzen	4,5	
55	fenanthren	4,5	
56	fluoranthen	4,7	
57	dibenzyl	4,8	
58	2,6-difenylpyridin	4,9	
59	trifenylamin	5,7	
60	DDT	6,2	
Jiné referenční látky s nízkou hodnotou log $P_{o/v}$			
1	kyselina nikotinová	-0,07	

VIII. METODA PRO STANOVENÍ VÝBUŠNÝCH VLASTNOSTÍ – metoda A.14 podle přílohy směrnice 92/69/EHS

VIII.1 METODA

VIII.1.1 ÚVOD

Metoda pro zjišťování výbušnosti látky stanovuje zkušební postup pro zjištění, zda látka je z hlediska výbuchu citlivá na působení tepla, na náraz nebo na tření, a to za podmínek uvedených v této metodě.

Metoda poskytuje údaje pro ohodnocení možnosti vyvolání výbuchu působením uvedených podnětů; neslouží však ke zjištění, zda je látka schopna vybuchovat za jakýchkoliv podmínek.

Látka se podrobí následujícím zkouškám

- a) zkoušce citlivosti na působení tepla,
- b) zkoušce citlivosti na náraz,
- c) zkoušce citlivosti na tření,

Při uvedených zkouškách lze použít i alternativní přístroje, a to za podmínky, že jsou mezinárodně uznávané a že jimi získané výsledky odpovídají výsledkům získaným na přístrojích uvedených v příloze.

Zkoušky se neprovádějí, lze-li u látky na základě odborného posouzení vyslovit jednoznačný závěr, že se látka nemůže rychle rozkládat za vývoje plynů a uvolňování tepla a nepředstavuje tedy nebezpečí výbuchu.

VIII.1.2 DEFINICE A REFERENČNÍ LÁTKY

Pro účely této vyhlášky se považuje za výbušnou látku taková chemická látka nebo chemický přípravek, která je schopna vybuchnout působením tepla nebo která z hlediska možnosti vybuchnout je citlivá na náraz nebo na tření v přístroji uvedeném v příloze nebo je citlivější na náraz nebo na tření než 1,3-dinitrobenzen v alternativním přístroji,

Za referenční látku se považuje

- a) krystalický 1,3-dinitrobenzen, který prochází sítím o velikosti oka 0,5 mm, a to pro zkoušení citlivosti na náraz a na tření,
- b) perhydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazin (označovaný jako RDX nebo hexogen nebo cyklonit - CAS 121-82-4) rekrystalovaný z vodného cyklohexanonu, prosátý za mokra na síť 250 μm a zachycený na síť 150 μm , sušený při 103 ± 2 °C po dobu 4 hodin, pro druhou sérii zkoušek.

VIII.1.3 PRINCIP METODY

VIII.1.3.1 **Předběžná zkouška**

Před provedením zkoušek se pro zajištění bezpečnosti provádí předběžná zkouška.

Předběžná zkouška se provádí s velmi malými vzorky látky, přibližně 10 mg, a to zahříváním neuzavřené látky v plameni plynového hořáku, nárazem v jakémkoliv zařízení a třením za použití paličky proti podložce nebo v jiném zařízení pro zkoušení citlivosti na tření. Účelem předběžné zkoušky je zjistit, zda látka není tak citlivá a výbušná, že předepsanou zkoušku citlivosti, zvláště zkoušku citlivosti na působení tepla, je nutné provádět za použití ochranných opatření, která by zamezila poranění osoby provádějící zkoušku.

Výsledky předběžné zkoušky neslouží k hodnocení výbušnosti látky.

VIII.1.3.2 **Zkouška citlivosti na působení tepla**

Při této zkoušce se látka zahřívá v ocelové trubce uzavřené clonami. Při této zkoušce se zjišťuje, zda je látka náchylná k výbuchu za podmínek intenzivního zahřívání a předepsaného utěsnění.

VIII.1.3.3 **Zkouška citlivosti na náraz**

Při této zkoušce se látka zkouší závažím předepsané hmotnosti, které se spouští z předepsané výšky.

VIII.1.3.4 **Zkouška citlivosti na tření**

Při této zkoušce se pevná nebo pastovitá látka zkouší třením mezi standardními povrchy za předepsaných podmínek zatížení a vzájemného pohybu. U kapalin se zkouška třením neprovádí.

VIII.1.4 **POPIS METODY**

VIII.1.4.1 **Zkouška citlivosti na působení tepla**

VIII.1.4.1.1 *Zařízení*

Zařízení je tvořeno ocelovou trubkou k jednomu použití se znovupoužitelným uzavíracím zařízením (obrázek 1) instalovanou v ohřívacím a ochranném zařízení. Každá trubka je hlubokotažená z ocelového plechu. Její vnitřní průměr je 24 mm, délka 75 mm a tloušťka stěny 0,5 mm. Na otevřeném konci trubky je příruba sloužící k uzavření trubky sestavou clony. Sestava je tvořena clonou se středovým otvorem odolnou vůči tlaku připevněnou k trubce pomocí dvoudílného šroubového spoje (matice a závitová příruba). Matice a závitová příruba jsou zhotoveny z chrom-manganové oceli, která je do 800 °C nejiskřivá. Clony mají tloušťku 6 mm, jsou vyrobeny ze žáruvzdorné oceli a tvoří řadu podle velikosti otvorů.

VIII.1.4.1.2 *Podmínky zkoušky*

Látka se obvykle zkouší ve stavu, v jakém je dodána. V některých případech, např. když je lisovaná, litá nebo jiným způsobem zhutněná, může být zkoušena po rozdrcení.

U pevných látek se hmotnost látky použité v každé zkoušce určí ve dvou etapách. V první etapě se zvážená trubka naplní 9 cm^3 látky a po celém průřezu trubky se látka stlačí silou 80 N. Z bezpečnostních důvodů nebo v případech, kdy stlačováním může dojít ke změně fyzikální formy vzorku, lze použít jiný způsob plnění; například je-li látka velmi citlivá na tření, není vhodné její stlačování. Je-li látka stlačitelná, přidá se další množství této látky a stlačuje se, až je trubka zaplněna do vzdálenosti 55 mm od horního okraje. Zjistí se celkové množství látky použité pro naplnění do úrovně 55 mm od horního okraje a přidají se další 2 podíly látky, přičemž každý se stlačí silou 80 N. Látka se pak podle potřeby buď přidá a stlačí, nebo odebere tak, aby trubka byla naplněna do úrovně 15 mm od horního okraje. Zjištěná celková hmotnost látky je základem pro provedení druhé etapy. Při ní se nejprve vnese do trubky třetina z hmotnosti zjištěné v první etapě a stlačí se. Vnesou se další 2 podíly, stlačí se silou 80 N a podle potřeby se přidá nebo odebere látka v trubce na úroveň 15 mm od horního okraje trubky. Množství pevné látky zjištěné ve druhé etapě se použije pro každý pokus; naplnění se provede se 3 stejnými množstvími a každé z nich se stlačí na objem 9 cm^3 bez ohledu na to, jaké síly bude zapotřebí. Pro usnadnění lze k tomu použít rozpěrné kroužky.

Kapaliny a gely se naplní do trubky do výšky 60 mm. Zvláštní pozornost je třeba věnovat gelům, aby nedošlo k tvorbě dutin. Zezdola se na trubku navleče závitová příruba, vloží se vhodná clona a po nanesení mazadla na bázi disulfidu molybdeničitého se matice utáhne. Je nutné se přesvědčit, zda nějaká látka nezůstala zachycena mezi přírubou a clonou nebo v závitech.

Naplněná a uzavřená trubka se zahřívá propanem odebíraným přes průtokoměr z průmyslové tlakové láhve s regulátorem tlaku seřízeným na rozmezí 6 až 7 kPa. Propan se rozděluje rozdělovacím potrubím stejnoměrně do 4 hořáků, což se ověří vizuálně pozorováním plamenů hořáků. Hořáky jsou umístěny kolem zkušební trubky (obrázek 1). 4 hořáky mají celkovou spotřebu přibližně $43,2\text{ dm}^3$ propanu za minutu. Lze použít alternativní palivo a hořáky, avšak rychlost ohřevu musí být stejná, jak je uvedeno na obrázku 3. U všech zařízení se musí pravidelně kontrolovat rychlost ohřevu za použití trubek naplněných dibutylftalátem (obrázek 3).

VIII.1.4.1.3 *Provedení zkoušky*

Každá zkouška se provádí do roztržení trubky nebo až doba ohřevu dosáhne 5 minut. Nejprve se provede série 3 zkoušek s clonou o průměru otvoru 6 mm, a pokud nedojde k výbuchu, provede se druhá série 3 zkoušek s clonou o průměru otvoru 2 mm. Dojde-li k výbuchu u kterékoliv zkušební série, nevyžadují se další zkoušky.

Projevem výbuchu je roztržení trubky na 3 nebo více částí, z nichž některé mohou být vzájemně spojeny úzkými proužky kovu (obrázek 2). Zkouška, při níž se vytvoří méně částí nebo nevzniknou žádné části, se považuje za zkoušku, při níž nedošlo k výbuchu.

VIII.1.4.1.4 *Vyhodnocení zkoušky*

Zkouška se považuje za pozitivní, pokud dojde k výbuchu u kterékoliv zkušební série.

VIII.1.4.2 **Zkouška citlivosti na náraz**

VIII.1.4.2.1 *Zařízení*

Základními částmi obvyklých zařízení s padacím kladivem je blok z šedé litiny s podstavcem, podložka (kovadlina), sloup, vodící lišty, padací závaží (kladivo), zadržovací a uvolňovací zařízení a držák vzorku (obrázek 4). Ocelová podložka (kovadlina) o průměru 100 mm a výšce 70 mm je přišroubována k horní straně ocelo-litinového bloku o délce 230 mm, šířce 250 mm a výšce 200 mm, se základovou (litinovou) deskou o délce 450 mm, šířce 450 mm a výšce 60 mm. Sloup tvořený bezešvou taženou ocelovou trubkou je připevněn držákem přišroubovaným na zadní stranu ocelo-litinového bloku. 4 šrouby ukotvují zařízení k betonovému bloku o rozměrech 60 x 60 x 60 cm takovým způsobem, že vodící lišty jsou přesně kolmo a padací závaží padá volně. Vhodné je použít závaží o hmotnosti 5 a 10 kg z pevné oceli. Úderová hlava každého závaží je z tvrzené oceli HRC 60 až 63 o minimálním průměru 25 mm.

Zkoušený vzorek se uzavře do zkušebního přípravku tvořeného 2 sousými ocelovými válci umístěnými nad sebou a vodícím pouzdrem tvořeným dutým ocelovým válcem. Plné ocelové válce o průměru mezi 10 - 0,003 mm a 10 - 0,005 mm a výšce 10 mm mají vyleštěné plochy, zakulacené hrany s poloměrem zakřivení 0,5 mm a tvrdost HRC 58 až 65. Dutý válec musí mít vnější průměr 16 mm, vyleštěný vyvrtaný otvor o průměru mezi 10 + 0,005 mm a 10 + 0,010 mm a výšku 13 mm. Sestavený zkušební přípravek se umístí na výměnnou mezipodložku o průměru 26 mm a výšce 26 mm, který je vystředěn středícím kroužkem s otvory pro odvod dýmů.

VIII.1.4.2.2 *Podmínky zkoušky*

Objem vzorku činí 40 mm³ nebo takový objem, který je vhodný pro alternativní zařízení. Pevné látky se zkoušejí v suchém stavu a připravují se následujícím způsobem:

- a) práškové látky se prosejí sítem o velikosti oka 0,5 mm; ke zkoušení se použije veškerý podíl, který projde sítem,
- b) lisované, lité nebo jiným způsobem zhutněné látky se rozdrtí na malé kousky a prosejí; pro zkoušení látky se jako reprezentativní

vzorek původní látky použije prosetý podíl o velikosti částic od 0,5 mm do 1 mm.

Látky dodávané ve formě pasty se zkoušejí pokud možno v suchém stavu nebo po odstranění nejvýše možného množství ředidla. Kapalné látky se zkoušejí s mezerou 1 mm mezi horním a dolním ocelovým válcem.

VIII.1.4.2.3 *Provedení zkoušky*

U série 6 zkoušek se pustí závaží o hmotnosti 10 kg z výšky 0,40 m (40 J). Dojde-li během těchto 6 zkoušek při 40 J k výbuchu, musí se provést další série 6 zkoušek s puštěním závaží o hmotnosti 5 kg z výšky 0,15 m (7,5 J). V jiných zařízeních se vzorek porovnává se zvolenou referenční látkou za použití stanoveného postupu (např. postup up-and-down).

VIII.1.4.2.4 *Vyhodnocení zkoušky*

Výsledek se považuje za pozitivní, jestliže se při kterékoliv zkoušce nejméně jednou zaznamená výbuch (třesk nebo plamen), nebo při zkouškách v jiných zařízeních je zkoušená látka citlivější než 1,3-dinitrobenzen nebo RDX.

VIII.1.4.3 **Zkouška citlivosti na tření**

VIII.1.4.3.1 *Provedení*

Třecí zařízení (obrázek 5) je tvořeno základovou deskou z lité oceli, na které je upevněno třecí zařízení. To je tvořeno nepohyblivým porcelánovým kolíkem a pohyblivou porcelánovou destičkou. Porcelánová destička je upevněna na saních vedených 2 vodícími lištami. Saně jsou připojeny k elektromotoru ojnicí, excentrickou vačkou a vhodným ozubeným převodem tak, že porcelánová destička vykonává pod porcelánovým kolíkem pohyb tam a zpět na délce dráhy 10 mm. Porcelánový kolík se může zatížit silou buď 120 N, nebo 360 N.

Rovné porcelánové destičky jsou vyrobeny z bílého technického porcelánu o drsnosti 9 až 32 μm o délce 25 mm, šířce 25 mm a výšce 5 mm. Válcový porcelánový kolík je rovněž vyroben z bílého technického porcelánu a má délku 15 mm a průměr 10 mm a zdrsněné kulové plochy s poloměrem zakřivení 10 mm.

VIII.1.4.3.2 *Podmínky zkoušky*

Objem vzorku činí 10 mm³ nebo takový objem, který je vhodný pro alternativní zařízení. Pevné látky se zkoušejí v suchém stavu a připravují se následujícím způsobem:

- a) práškové látky se prosejí sítím o velikosti oka 0,5 mm; ke zkoušení se použije veškerý podíl, který projde sítím,

- b) lisované, lité nebo jiným způsobem zhuštěné látky se rozdrtí na malé kousky a prosejí; pro zkoušení látky se použije prosetý podíl o velikosti částic menší než 0,5 mm.

Látky dodávané ve formě pasty se zkoušejí pokud možno v suchém stavu. Není-li možné připravit látku v suchém stavu, zkouší se pasta, a to po odstranění nejvýše možného množství ředidla, ve formě proužku o tloušťce 0,5 mm, šířce 2 mm a délce 10 mm připraveného v tvarovací formě.

VIII.1.4.3.3 *Provedení zkoušky*

Porcelánový kolík se přiloží na zkoušený vzorek a zatíží se. Při provádění zkoušky musí být rýhy v porcelánové destičce příčně ke směru pohybu. Je nutné dbát na to, aby kolík zůstal na vzorku, aby pod kolíkem zůstalo ležet dostatečné množství vzorku a také aby se destička pohybovala správně pod kolíkem. U pastovitých látek se pro nanesení látky na destičku používá měrka 0,5 mm silná s otvorem 2 x 10 mm. Porcelánová destička se musí pohybovat pod porcelánovým kolíkem po dráze 10 mm tam a zpět za 0,44 s. Každá část povrchu destičky a kolíku se smí použít pouze jednou; 2 konce každého kolíku slouží pro 2 pokusy a každá ze 2 stran destičky slouží pro 3 pokusy.

Série 6 zkoušek se provádí se zatížením 360 N. Získá-li se pozitivní výsledek během těchto 6 zkoušek, musí se provést další série 6 zkoušek se zatížením 120 N. U jiných zařízeních se vzorek porovnává se zvolenou referenční látkou za použití stanoveného postupu (např. postup up-and-down).

VIII.1.4.3.4 *Vyhodnocení zkoušky*

Výsledek se považuje za pozitivní, jestliže se nejméně jednou zaznamená výbuch (třesk, praskání, jiskření nebo plamen) při kterékoliv zkoušce nebo zkoušená látka splňuje ekvivalentní kritéria v jiných zkouškách.

VIII.2 **DATA**

Zkoušená látka se považuje za výbušnou ve smyslu zákona, pokud se při její zkoušce citlivosti na působení tepla, náraz nebo tření získá pozitivní výsledek.

VIII.3 **ZPRÁVA**

Zpráva o zkoušce obsahuje, pokud je to možné, zejména následující informace:

- a) identifikaci, chemické složení, čistotu a vlhkost zkoušené látky,
- b) fyzikální formu vzorku a informace, zda se vzorek drtil, mlel nebo proseval,

- c) údaje zjištěné při zkoušce citlivosti na působení tepla, například hmotnost vzorku a počet úlomků,
- d) pozorované jevy při zkoušce citlivosti na náraz nebo při zkoušce citlivosti na tření, například tvorba značného množství dýmu nebo úplný rozklad, plameny, jiskry, třesk nebo praskání,
- e) výsledky každého typu zkoušky,
- f) zdůvodnění použití alternativního přístroje a důkaz srovnatelnosti získaných výsledků s výsledky získanými s přístrojem uvedeným v této metodě,
- g) poznámky, které mohou mít význam pro správné hodnocení výsledků, například odkazy na zkoušky podobných látek,
- h) další poznámky, které mají vztah k interpretaci výsledků.

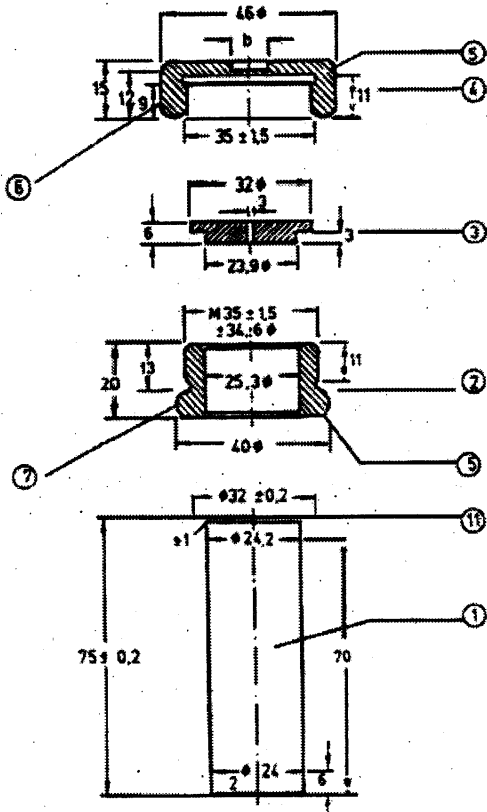
Ve zprávě o zkoušce se uvádí také všechny výsledky, které jsou považovány za chybné, anomální nebo nereprezentativní. Jestliže byly některé hodnoty vyřazeny, je nutné podat vysvětlení a uvést všechny výsledky náhradních nebo doplňkových zkoušek. Pokud není možno anomální výsledek kvalifikovaně vysvětlit, je třeba jej přijmout tak, jak byl dosažen, a látku ohodnotit způsobem odpovídajícím dosaženému výsledku.

VIII.4 LITERATURA

- (1) Recommendations on the Transport of Dangerous Goods: Tests and criteria, 1990, United Nations, New York.
- (2) Bretherick, L., Handbook of Reactive Chemical Hazards, 4th edition, Butterworths, London, ISBN 0-750-60103-5, 1990.
- (3) Koenen, H., Ide, K.H. and Swart, K.H., Explosivstoffe, 1961, vol. 3, 6 – 13 a 30 – 42.
- (4) NF T 20-038 (Sept. 85). Chemical products for industrial use – Determination of explosive risk.

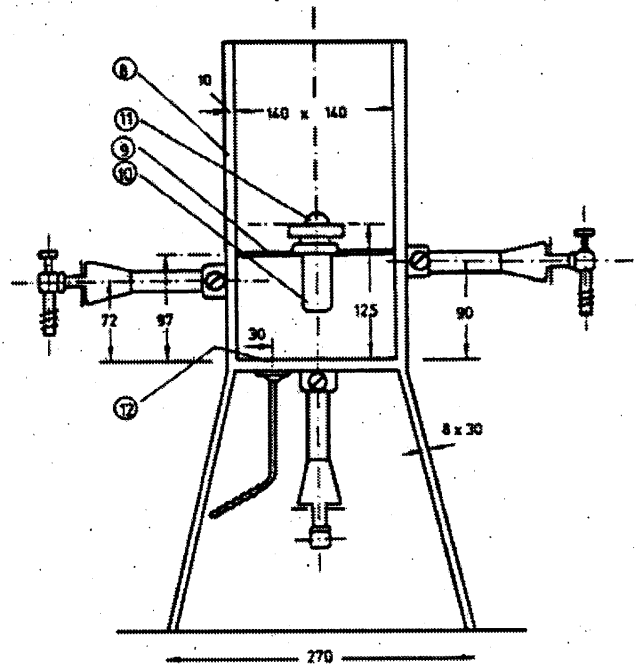
Obrázek 1

Zařízení na zkoušku citlivosti na působení tepla
(všechny rozměry v mm)



Obr. 1a Ocelová trubka a příslušenství

- (1) trubka
- (2) prsteneč se závitem;
závit pro nízké tření
- (3) clona o průměru $a=2,0$ nebo $6,0$ mm
- (4) matice s otvorem o průměru $b=10$ mm
- (5) zkosená hrana
- (6) 2 rovné plochy pro klíč 41
- (7) 2 rovné plochy pro klíč 36

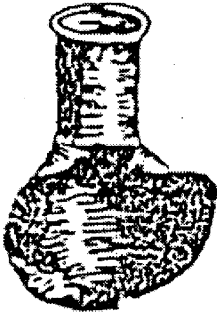


Obr. 1b Ohřívací a ochranné zařízení

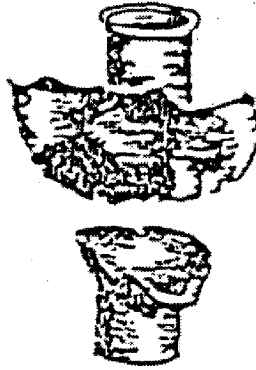
- (8) ochranný kryt odolný vůči střepinám
- (9) 2 tyčinky nesoucí trubku
- (10) sestavená trubka
- (11) poloha zadního hořáku,
ostatní hořáky jsou viditelné
- (12) zapalovací hořáček

Obrázek 2

Zkouška citlivosti na působení tepla
Příklady roztržení trubky



Nehodnotí se jako výbuch



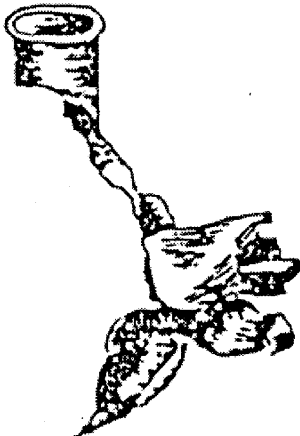
Nehodnotí se jako výbuch



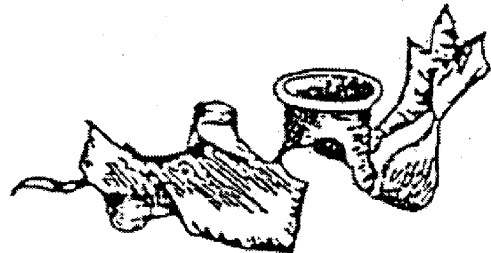
Výbuch



Výbuch



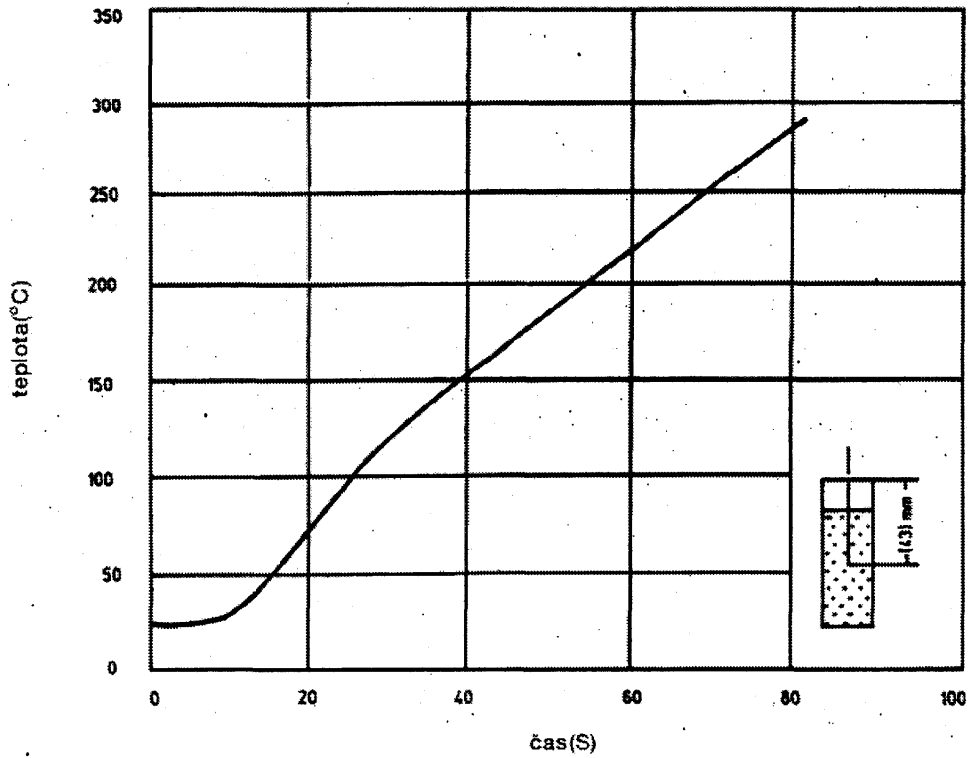
Výbuch



Výbuch

Obrázek 3

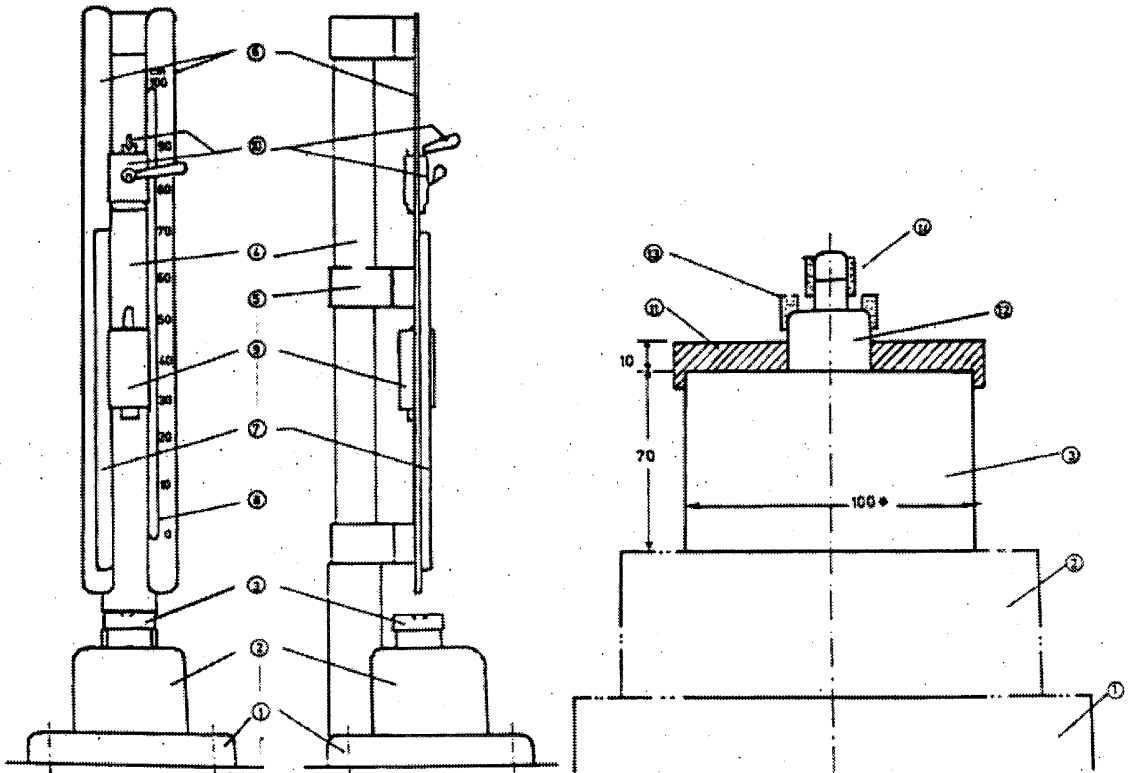
Kalibrace rychlosti ohřevu pro zkoušku citlivosti na působení tepla



Křivka závislosti teploty na čase při ohřevu dibutylfthalátu (27 cm^3) v uzavřené trubce (clona 1,5 mm) při průtokové rychlosti propanu $3,2 \text{ l.min}^{-1}$. Teplota se měří chromelalumelovým termočlánkem opláštěným nerezovou ocelí o průměru pláště 1 mm, umístěným centrálně 43 mm pod okrajem trubky. Rychlost ohřevu mezi 135°C a 285°C musí ležet mezi 185 a 215 K.min^{-1} .

Obrázek 4

Přístroj pro zkoušku citlivosti na náraz
(všechny rozměry v mm)

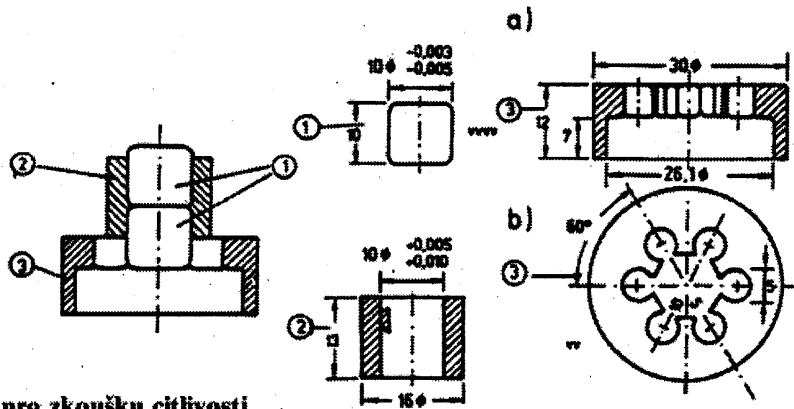


Obr. 4a Padací kladivo,
čelní a boční celkový pohled

- (1) základová deska 450x450x60
- (2) ocelo-litínový blok 230x250x200
- (3) kovadlina, průměr 100x70
- (4) sloup
- (5) střední nosník
- (6) dvě vodící lišty
- (7) ozubená tyč
- (8) měřítko

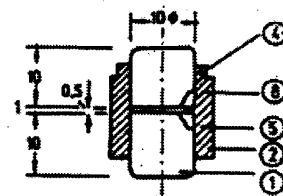
Obr. 4b Padací kladivo, spodní část

- (9) padací kladivo
- (10) zadržovací a uvolňovací zařízení
- (11) středící objímka
- (12) mezipodložka (výměnná),
o průměru 26x26
- (13) středící kroužek s otvory
- (14) zkušební přípravek



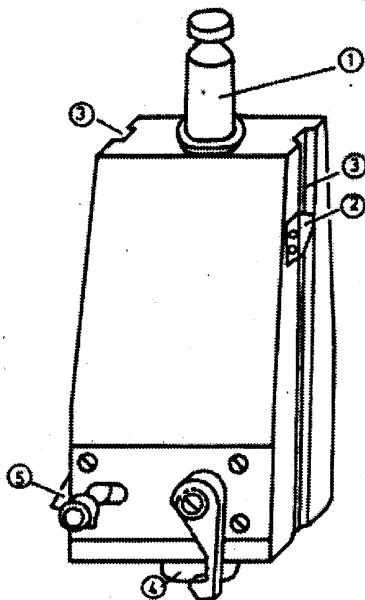
Obr. 4c Zařízení pro zkoušku citlivosti
práškových a pastovitých látek
vůči mechanickému podnětu na úder

- (1) ocelové válečky
- (2) vodící pouzdro pro ocelové válečky
- (3) síťedící kroužek s otvory
 - a) svislý řez
 - b) průmět



Obr. 4d Zařízení pro zkoušku citlivosti
kapalné látky vůči
mechanickému podnětu na úder

- (4) pryžový prstenec
- (5) kapalná látka (40 mm³)
- (6) prostor bez kapaliny

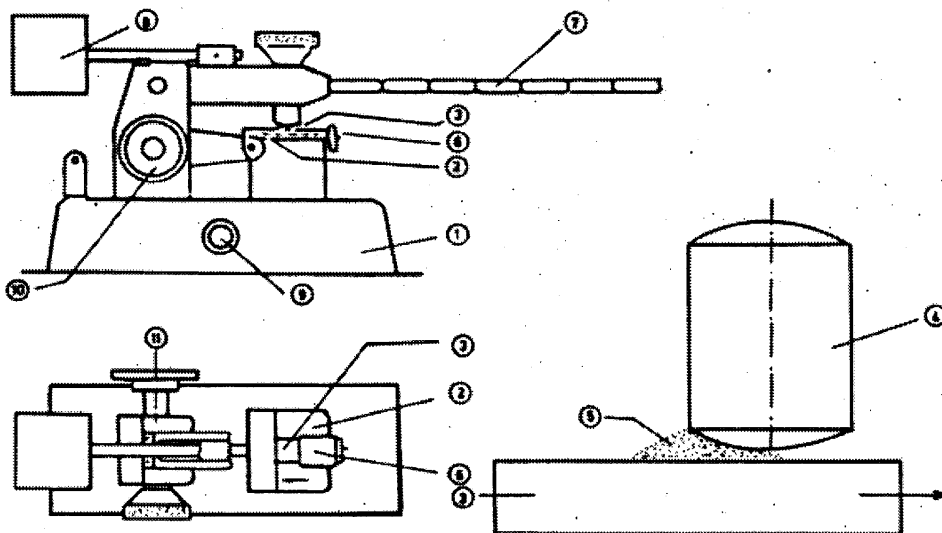


Obr. 4e Kladivo (závaží 5 kg)

- (1) upínací čep
- (2) polohová značka
- (3) vodící drážky
- (4) úderník
- (5) aretační zařízení

Obrázek 5

Přístroj pro zkoušku citlivosti na tření



**Obr. 5a Třecí přístroj;
boční a půdorysný pohled**

- (1) ocelový podstavec
- (2) pohyblivé sáně
- (3) porcelánová destička 25x25x5 mm,
upevněná na saních
- (4) upevněný porcelánový kolík,
průměr 10 mm, délka 15 mm
- (5) zkoušený vzorek, 10 mm³

**Obr. 5b Výchozí poloha válečku
na vzorku**

- (6) držák kolíku
- (7) zatěžovací rameno
- (8) vyrovnávací závaží
- (9) vypínač
- (10) kolečko pro nastavení saní
do výchozí polohy
- (11) směr k elektromotoru

IX. METODA PRO STANOVENÍ ČÍSELNĚ STŘEDNÍ MOLEKULOVÉ HMOTNOSTI A DISTRIBUCE MOLEKULOVÉ HMOTNOSTI POLYMERŮ – metoda A.18 podle přílohy směrnice Komise 98/73/ES ze dne 18. září 1998, kterou se po čtyřiačtyřicetileté přizpůsobuje technickému pokroku směrnici Rady 67/548/EHS o sblížení právních a správních předpisů týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných látek (dále jen „směrnice 98/73/ES“)

IX.1. METODA

Tato metoda gelové permeační chromatografie je replikou metody OECD TG 118 (1996). Základní principy a další technické informace jsou uvedeny v odkaze 1.

IX.1.1 Úvod

Vlastnosti polymerů jsou tak rozdílné, že je nemožné popsat jedinou metodu a stanovit přesně podmínky separace a hodnocení, které by pokryly všechny eventuality a specifika vyskytující se při separaci polymerů. Zejména pro komplexní polymerní systémy není gelová permeační chromatografie (GPC) vždy vhodná. Není-li GPC použitelná, může být molekulová hmotnost stanovena jinými metodami (viz příloha). V takových případech by měly být uvedeny veškeré podrobnosti a zdůvodnění použité metody.

Popsaná metoda je založena na normě DIN 55672 (1). Podrobné informace o provádění experimentů a o hodnocení dat lze nalézt v uvedené normě DIN. V případě, že jsou nezbytné úpravy experimentálních podmínek, musí být změny zdůvodněny. Mohou být použity jiné normy, jsou-li uvedeny kompletní odkazy na ně. V popsané metodě jsou ke kalibraci použity vzorky polystyrenu o známé polydisperzitě a metoda může být upravena tak, aby byla vhodná pro určité polymery, např. vodorozpustné větvené polymery s dlouhým řetězcem.

IX.1.2 Definice a jednotky

Číselně střední molekulová hmotnost M_n a hmotnostně střední molekulová hmotnost M_w se stanoví pomocí následujících rovnic:

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^n H_i}{\sum_{i=1}^n H_i / M_i} \quad M_w = \frac{\sum_{i=1}^n H_i \times M_i}{\sum_{i=1}^n H_i}$$

kde

H_i je výška signálu detektoru nad základnou pro retenční objem V_i ,

M_i je molekulová hmotnost frakce polymeru pro retenční objem V_i , a

n je počet dat.

Šířka distribuce molekulové hmotnosti, která je mírou disperzity systému, je dána poměrem M_w/M_n .

IX.1.3 Referenční látky

Vzhledem k tomu, že GPC je relativní metoda, musí být provedena kalibrace. K tomuto účelu se obvykle používá lineární polystyrenový standard s úzkou distribucí se známými středními molekulovými hmotnostmi M_n a M_w a se známým rozdělením molekulové hmotnosti. Kalibrační křivka může být pro stanovení molekulové hmotnosti neznámého vzorku použita pouze tehdy, byly-li podmínky separace vzorku a standardů identické. Pevný vztah mezi molekulovou hmotností a elučním objemem je platný pouze za specifických podmínek určitého experimentu. Podmínky zahrnují především teplotu, rozpouštědlo (nebo směs rozpouštědel), chromatografické podmínky a separační kolonu nebo systém separačních kolon.

Molekulové hmotnosti stanovené tímto způsobem jsou relativními hodnotami a označují se jako „molekulární hmotnosti polystyrenového ekvivalentu“. To znamená, že se molekulová hmotnost bude v závislosti na strukturních a chemických rozdílech mezi vzorkem a standardem od absolutní hodnoty více či méně lišit. Použijí-li se jiné standardy, např. polyethylenglykol, polyethylenoxid, polymethylmethakrylát, polyakrylová kyselina, musí být použití zdůvodněno.

IX.1.4 Princip zkušební metody

Rozdělení molekulové hmotnosti vzorku i střední molekulové hmotnosti (M_n , M_w) lze stanovit metodou GPC. GPC je speciální typ kapalinové chromatografie, při němž je vzorek rozdělen podle hydrodynamických objemů jeho jednotlivých složek (2).

Separace probíhá při průchodu vzorku kolonou naplněnou porézním materiálem, obvykle organickým gelem. Malé molekuly proniknou póry, zatímco velké molekuly jsou zadrženy. Průchod velkých molekul je tedy kratší a jsou eluovány nejdříve. Středně velké molekuly pronikají některými póry a jsou eluovány později. Nejmenší molekuly se středním hydrodynamickým poloměrem menším než velikost pórů gelu pronikají všemi póry. Tyto molekuly jsou eluovány nakonec.

V ideálním případě závisí separace pouze na velikosti molekul, ale v praxi je obtížné vyhnout se alespoň některým rušivým absorpčním jevům. Nestejnoměrná náplň kolony a mrtvé objemy mohou situaci zhoršit (2).

Detekce se provádí například prostřednictvím měření indexu lomu nebo absorpce UV a dává jednoduchou distribuční křivku. Má-li být však křivce přiřazena skutečná molekulová hmotnost, je nezbytné kalibrovat kolonu průchodem polymerů o známé molekulové hmotnosti a v ideálním

případě s v podstatě podobnou strukturou, např. různé polystyrenové standardy. Křivka má zpravidla gaussovský tvar, někdy deformovaný prodloužením na straně nízké molekulové hmotnosti, přičemž svislá osa udává hmotnostní podíl různých molekulových hmotností a na vodorovné ose jsou vyneseny logaritmus molekulové hmotnosti.

IX.1.5 Kritéria kvality

Opakovatelnost (relativní směrodatná odchylka: RSD) elučního objemu by měla být lepší než 0,3 %. Požadovaná opakovatelnost musí být zajištěna korekcí prostřednictvím standardů, je-li chromatogram hodnocen jako funkce času a neodpovídá výše uvedenému kritériu (1).

Polydisperzity jsou závislé na molekulových hmotnostech standardů. V případě polystyrenových standardů jsou typickými hodnotami

$$M_p < 2\,000 \quad M_w/M_n < 1,20$$

$$2\,000 = M_p = 10^6 \quad M_w/M_n < 1,05$$

$$M_p > 10^6 \quad M_w/M_n < 1,20$$

(M_p je molekulová hmotnost standardu v maximu píku)

IX.1.6 Popis zkušební metody

IX.1.6.1 Příprava standardních roztoků polystyrénu

Polystyrenové standardy se rozpustí opatrným smícháním se zvoleným elučním činidlem. Při přípravě roztoků se musí zohlednit doporučení výrobce.

Koncentrace zvolených standardů závisí na různých faktorech, např. na vstřikovaném objemu, viskozitě roztoku a citlivosti analytického detektoru. Maximální vstřikovaný objem musí být přizpůsoben délce kolony, aby nedošlo k přesycení. Typické vstřikované objemy pro analytickou separaci pomocí GPC s kolonou o rozměrech 30×7,8 mm jsou obvykle 40 až 100 µl. Větší objemy jsou možné, ale neměly by překročit 250 µl. Optimální poměr mezi vstřikovaným objemem a koncentrací musí být stanoven před vlastní kalibrací kolony.

IX.1.6.2 Příprava roztoku vzorku

Stejně požadavky platí v zásadě pro přípravu roztoků vzorku. Vzorek se opatrným protřepáním rozpustí ve vhodném rozpouštědle, např. v tetrahydrofuranu (THF). V žádném případě by neměl být rozpuštěn pomocí ultrazvukové lázně. Je-li to nezbytné, přečistí se roztok vzorku filtrací přes membránový filtr o velikosti pórů 0,2 až 2 µm.

Přítomnost nerozpuštěných částic musí být zaznamenána v konečném protokolu, neboť mohou pocházet z frakcí s vysokou molekulovou hmotností. Pro stanovení hmotnostního podílu nerozpuštěných částic

vyjádřeného v procentech by měla být použita vhodná metoda. Roztoky by měly být použity do 24 hodin.

IX.1.6.3 *Přístroje a pomůcky*

- zásobník rozpouštědla,
- odplynovací zařízení (podle potřeby),
- čerpadlo,
- tlumič rázů (podle potřeby),
- vstřikovací systém,
- chromatografické kolony,
- detektor,
- průtokoměr (podle potřeby),
- zapisovač,
- nádoba na odpad.

Musí být zajištěno, aby byl GPC systém inertní k použitým rozpouštědlům (např. použitím ocelových kapilár pro THF).

IX.1.6.4 *Vstřikování a systém dávkování rozpouštědla*

Definovaný objem roztoku vzorku se nanáší na kolonu buď ručně, nebo dávkovačem do ostře ohraničené zóny. Příliš rychlý pohyb pístu vzad nebo vpřed (při ručním nanášení) může způsobit změny v pozorovaném rozdělení molekulové hmotnosti. Dávkovač rozpouštědla by pokud možno neměl působit rázy a v ideálním případě by měl být osazen tlumičem rázů. Průtok je řádově 1 ml/min.

IX.1.6.5 *Kolona*

Podle typu vzorku se polymer charakterizuje použitím jednoduché kolony nebo několika za sebou řazenými kolonami. Komerčně je dostupná řada porézních materiálů definovaných vlastností (např. velikost pórů, meze zadržení). Výběr separačního gelu nebo délky kolony závisí jak na vlastnostech vzorku (hydrodynamický objem, distribuce molekulové hmotnosti), tak na specifických podmínkách separace, jako jsou rozpouštědlo, teplota a průtok (1), (2), (3).

IX.1.6.6 *Teoretická patra*

Použitá kolona nebo kombinace kolon musí být charakterizována počtem teoretických pater. V případě použití THF jako elučního činidla to znamená nanesení roztoku ethylbenzenu nebo jiného vhodného

nepolárního roztoku na kolonu známé délky. Počet teoretických pater je dán následující rovnicí

$$N=5,54 \left(\frac{V_e}{W_{1/2}} \right)^2 \quad \text{nebo} \quad N=16 \left(\frac{V_e}{W} \right)^2$$

kde

N je počet teoretických pater,

V_e je eluční objem v maximu píku,

W šířka základny píku,

$W_{1/2}$ šířka píku v polovině výšky.

IX.1.6.7 *Separáční účinnost*

Vedle počtu teoretických pater, který je veličinou určující šířku pásu, hraje roli také separáční účinnost, která se stanoví ze strmosti kalibrační křivky. Separáční účinnost kolony se získá z následujícího vztahu:

$$\frac{V_{e,M_x} - V_{e,(10M_x)}}{\text{plocha průřezu kolony}} \geq 6,0 \left[\frac{\text{cm}^3}{\text{cm}^2} \right]$$

kde

V_{e,M_x} je eluční objem pro polystyren s molekulovou hmotností M_x ,

$V_{e,(10M_x)}$ je eluční objem pro polystyren s 10krát větší molekulovou hmotností.

Rozlišení systému je obecně definováno tímto vztahem:

$$R_{1,2} = 2 \times \frac{V_{e1} - V_{e2}}{W_1 + W_2} \times \frac{1}{\log_{10}(M_2/M_1)}$$

kde

V_{e1}, V_{e2} jsou eluční objemy dvou standardů polystyrénu v maximu píku,

W_1, W_2 jsou šířky základny píků,

M_1, M_2 molekulové hmotnosti odpovídající maximu píků (měly by se lišit faktorem 10).

Hodnota R pro kolonový systém by měla být větší než 1,7 (4).

IX.1.6.8 *Rozpouštědla*

Všechna rozpouštědla musí mít vysokou čistotu (v případě THF 95% čistoty). Zásobník rozpouštědla (v případě potřeby pod inertní atmosférou) musí být dostatečně velký pro kalibraci kolony a pro několik analýz vzorku. Z rozpouštědla musí být před jeho nanesením čerpadlem na kolonu odstraněny plyny.

IX.1.6.9 *Kontrola teploty*

Teplota kritických vnitřních součástí (vstřikovací smyčky, kolon, detektoru a potrubí) by měla být konstantní a měla by být sladěna s volbou rozpouštědla.

IX.1.6.10 *Detektor*

Detektor slouží ke kvantitativnímu zaznamenávání koncentrace vzorku eluovaného z kolony. Nemá-li dojít ke zbytečnému rozšíření píků, musí být objem kyvety detekční cely co nejmenší. Neměl by být větší než 10 μl , s výjimkou detektorů k měření rozptylu světla a viskozity. K detekci se obvykle používají diferenciální refraktometry. Vyžadují-li si to však specifické vlastnosti vzorku nebo elučního rozpouštědla, lze použít jiné typy detektorů, např. UV/VIS, IR detektory a detektory viskozity atd.

IX.2 **DATA A ZPRÁVY**

IX.2.1 **Data**

Pokud jde o podrobná kritéria hodnocení a o požadavky týkající se registrace a zpracování dat, měla by být použita norma DIN (1).

Pro každý vzorek musí být provedeny dva nezávislé experimenty. Analýzy musí být provedeny samostatně.

Pro každé měření musí být uvedeny hodnoty M_n , M_w , M_w/M_n a M_p . Je nezbytné výslovně uvést, že naměřené hodnoty jsou relativními hodnotami odpovídajícími molekulové hmotnosti použitého standardu.

Po stanovení retenčních objemů nebo retenčních časů (případně korigovaných za použití vnitřního standardu) se proti těmto veličinám vynesou do grafu hodnoty $\log M_p$ (příčemž M_p je výška maxima píku kalibračního standardu). Na jednu dekádu hodnot molekulární hmotnosti jsou nezbytné alespoň dva kalibrační body a pro celou křivku, která by měla pokrýt odhadovanou molekulovou hmotnost vzorku, se požaduje alespoň pět naměřených bodů. Poslední bod kalibrační křivky na straně nízkých molekulových hmotností se definuje n-hexylbenzenem nebo jiným vhodným nepolárním rozpouštědlem. Číselně střední a hmotnostně střední molekulová hmotnost se obecně stanoví elektronickým

zpracováním dat založeným na vzorcích v bodě 1.2. V případě manuálního hodnocení lze použít metodu ASTM D 3536-91 (3).

Distribuční křivka musí být vyvedena ve formě tabulky nebo graficky (diferenciální četnost nebo kumulativní četnost v procentech proti $\log M$). V případě grafické prezentace by měla mít jedna dekáda molekulární hmotnosti délku 4 cm a výška maxima píku by měla být asi 8 cm. V případě integrálních distribučních křivek by měla být vzdálenost mezi 0 a 100 % na ordinátě přibližně 10 cm.

IX.2.2 **Protokol o zkoušce**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

IX.2.2.1 *Zkušební látka*

- dostupné informace o zkušební látce (identita, přísady, nečistoty),
- popis zpracování vzorku, pozorované skutečnosti, problémy.

IX.2.2.2 *Vybavení*

- zásobník elučního činidla, inertní plyn, odstranění plynu z elučního činidla, složení elučního činidla, nečistoty,
- čerpadlo, tlumič rázů, vstříkovací systém,
- separační kolony (výrobce, všechny informace o charakteristikách kolon, jako jsou velikost pórů, druh separačního materiálu atd., počet, délka a pořadí použitých kolon),
- počet teoretických pater kolony (nebo kombinace kolon), separační účinnost (rozlišení systému),
- informace o symetrii píků,
- teplota kolony, způsob kontroly teploty,
- detektor (princip měření, typ, objem kyvety),
- průtokoměr, je-li použit (výrobce, princip měření),
- systém pro zaznamenávání a zpracování dat (hardware a software).

IX.2.2.3 *Kalibrace systému*

- podrobný popis metody použité pro sestrojení kalibrační křivky,
- informace o kritériích kvality této metody (např. korelační koeficient, chyba součtu čtverců atd.),

- informace o všech extrapolacích, předpokladech a aproximacích provedených během experimentálního postupu a při hodnocení a zpracování dat,
- všechny naměřené hodnoty použité při konstrukci kalibrační křivky musí být dokumentovány v tabulce, která musí pro každý kalibrační bod obsahovat následující informace:
 - název vzorku,
 - výrobce vzorku,
 - charakteristické hodnoty standardů M_p , M_n , M_w a M_w/M_n , jak jsou poskytnuty výrobcem nebo jak jsou zjištěny z následných měření, společně s podrobnostmi o metodě stanovení,
 - vstříknutý objem a vstříknutá koncentrace,
 - hodnota M_p použitá po kalibraci,
 - eluční objem nebo korigovaný retenční čas měřený v maximu píku,
 - hodnota M_p vypočtená pro maximum píku,
 - chyba vypočtené hodnoty M_p a kalibrační hodnoty M_p vyjádřená v procentech.

IX.2.2.4 *Hodnocení*

- hodnocení na základě časové závislosti: metody použité pro zajištění požadované reprodukovatelnosti (metoda korekce, vnitřní standard atd.),
- informace o tom, zda hodnocení bylo provedeno na základě elučního objemu nebo retenčního času,
- informace o omezeních hodnocení v případě, že pík nebyl kompletně analyzován,
- popis metody hlazení, bylo-li použito,
- příprava a postupy předběžné úpravy vzorku,
- popřípadě přítomnost nerozpuštěných částic,
- vstříknutý objem (μl) a vstříknutá koncentrace (mg/ml),
- pozorované skutečnosti, které vedou k odchylkám od ideálních charakteristik metody GPC,
- podrobný popis všech změn zkušebních postupů,

- podrobnosti o rozsahu chyb,
- jakékoliv další informace a pozorování relevantní pro interpretaci výsledků.

IX.3 LITERATURA

- (1) DIN 55672 (1995). Gelpermeationschromatographie (GPC) mit Tetrahydrofuran (THF) als Elutionsmittel, Teil 1.
- (2) Yau, W. W., Kirkland, J. J., Bly, D. D. eds, (1979). *Modern Size Exclusion Liquid Chromatography*, J. Wiley and Sons.
- (3) ASTM D 3536-91, (1991). Standard Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution by Liquid Exclusion Chromatography (Gel Permeation Chromatography-GPC). American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (4) ASTM D 5296-92, (1992). Standard Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution of Polystyrene by High Performance Size-Exclusion Chromatography. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.

PŘÍLOHA

Příklady jiných metod stanovení číselně střední molekulové hmotnosti (M_n) polymerů

Gelová permeační chromatografie (GPC) je přednostní metodou stanovení M_n , zejména tehdy, je-li k dispozici sada standardů, jejichž struktura je srovnatelná se strukturou polymeru. Vyskytnou-li se praktické obtíže při použití GPC nebo očekává-li se, že látka nevyhoví regulačním kritériím na M_n (což je třeba potvrdit), jsou k dispozici alternativní metody, jako jsou:

1. Použití koligativních vlastností
 - 1.1 *Ebulioskopie/kryoskopie*: spočívá v měření zvýšení bodu varu (ebulioskopie) nebo snížení bodu tuhnutí (kryoskopie) rozpouštědla po přidání polymeru. Metoda je založena na skutečnosti, že vliv rozpuštěného polymeru na bod varu/bod tuhnutí závisí na molekulové hmotnosti polymeru (1), (2).

Použitelnost: $M_n < 20\ 000$.

- 1.2 *Snížení tlaku par*: spočívá v měření tlaku par zvolené referenční kapaliny před přidáním a po přidání známého množství polymeru (1), (2).

Použitelnost: $M_n < 20\ 000$ (teoretická; v praxi však má omezený význam).

- 1.3 *Membránová osmometrie*: spočívá na principu osmózy, tj. přirozené snahy molekul rozpouštědla proniknout polopropustnou membránou ze zředěného do koncentrovaného roztoku a ustavit rovnováhu. Při zkoušce je koncentrace zředěného roztoku nulová, zatímco koncentrovaný roztok obsahuje polymer. Pronikáním rozpouštědla membránou dochází ke tlakovému rozdílu, který závisí na koncentraci a molekulové hmotnosti polymeru (1), (3), (4).

Použitelnost: M_n od 20 000 do 200 000.

- 1.4 *Osmometrie - tlak páry*: spočívá ve srovnání rychlosti vypařování čistého rozpouštědla s alespoň třemi aerosoly obsahujícími polymer v různých koncentracích (1), (5), (6).

Použitelnost: $M_n < 20\ 000$.

2. **Analýza koncových skupin**

Použití této metody vyžaduje znalost jak celkové struktury polymeru, tak povahy koncových skupin řetězce (které musí být odlišitelné od hlavního řetězce například metodou NMR nebo titrací/derivatizací). Stanovení počtu koncových skupin polymeru může vést k hodnotě molekulové hmotnosti (7), (8), (9).

Použitelnost: M_n až do 50 000 (s klesající spolehlivostí).

LITERATURA

- (1) Billmeyer, F.W. Jr., (1984). *Textbook of Polymer Science*, 3rd Edn, John Wiley, New York.
- (2) Glover C.A., (1975). *Absolute Colligative Property Methods*. Chapter 4. In: *Polymer Molecular Weights*, Part I, P.E Slade, Jr. ed., Marcel Dekker, New York.
- (3) ASTM D 3750-79, (1979). Standard Practice for Determination of Number-Average Molecular Weight of Polymers by Membrane Osmometry. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (4) Coll, H. (1989). *Membrane Osmometry*. In: *Determination of Molecular Weight*, A.R.Cooper ed., J. Wiley and Sons, pp. 25 to 52.
- (5) ASTM 3592-77, (1977). Standard Recommended Practice for Determination of Molecular Weight by Vapour Pressure, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (6) Morris, C.E.M., (1989). *Vapour Pressure Osmometry*. In: *Determination of Molecular Weight*, A.R.Cooper ed., J. Wiley and Sons.
- (7) Schröder, E., Müller, G., Arndt, K-F., (1989). *Polymer Characterisation*, Carl Hanser Verlag, Munich.

- (8) Garmon, R.G., (1975). *End-Group Determinations*, Chapter 3. In: *Polymer Molecular Weights*, Part I, P.E. Slade, Jr. ed. Marcel Dekker, New York.
- (9) Amiya, S., et al. (1990). *Pure and Applied Chemistry*, 62, 2139-2146.

X. METODA PRO STANOVENÍ OBSAHU MOLEKUL O NÍZKÉ HMOTNOSTI V POLYMERECH – metoda A.19 podle přílohy směrnice 98/73/ES

X.1 METODA

Tato metoda gelové permeační chromatografie je replikou metody OECD TG 119 (1996). Základní principy a další technické informace jsou uvedeny v odkazech.

X.1.1 Úvod

Vlastnosti polymerů jsou tak rozdílné, že je nemožné popsat jedinou metodu a stanovit přesně podmínky separace a hodnocení, které by pokryly všechny eventuality a specifika vyskytující se při separaci polymerů. Zejména pro komplexní polymerní systémy není gelová permeační chromatografie (GPC) vždy vhodná. Není-li GPC použitelná, může být molekulová hmotnost stanovena jinými metodami (viz příloha). V takových případech by měly být uvedeny veškeré podrobnosti a zdůvodnění použité metody.

Popsaná metoda je založena na normě DIN 55672 (1). Podrobné informace o provádění experimentů a o hodnocení dat lze nalézt v uvedené normě DIN. V případě, že jsou nezbytné úpravy experimentálních podmínek, musí být změny zdůvodněny. Mohou být použity jiné normy, jsou-li uvedeny kompletní odkazy na ně. V popsané metodě jsou ke kalibraci použity vzorky polystyrenu o známé polydisperzitě a metoda může být upravena tak, aby byla vhodná pro určité polymery, např. vodorozpustné větvené polymery s dlouhým řetězcem.

X.1.2 Definice a jednotky

Nízká molekulová hmotnost je účelově definována jako molekulová hmotnost pod 1 000 daltonů.

Číselně střední molekulová hmotnost M_n a hmotnostně střední molekulová hmotnost M_w se stanoví pomocí následujících rovnic:

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^n H_i}{\sum_{i=1}^n H_i / M_i} \quad M_w = \frac{\sum_{i=1}^n H_i \times M_i}{\sum_{i=1}^n H_i}$$

kde

H_i je výška signálu detektoru nad základnou pro retenční objem V_i ,

M_i je molekulová hmotnost frakce polymeru pro retenční objem V_i , a

n je počet dat.

Šířka distribuce molekulové hmotnosti, která je mírou disperzity systému, je dána poměrem M_w/M_n .

X.1.3 Referenční látky

Vzhledem k tomu, že GPC je relativní metoda, musí být provedena kalibrace. K tomuto účelu se obvykle používá lineární polystyrenový standard s úzkou distribucí se známými středními molekulovými hmotnostmi M_n a M_w a se známým rozdělením molekulové hmotnosti. Kalibrační křivka může být pro stanovení molekulové hmotnosti neznámého vzorku použita pouze tehdy, byly-li podmínky separace vzorku a standardů identické. Pevný vztah mezi molekulovou hmotností a elučním objemem je platný pouze za specifických podmínek určitého experimentu. Podmínky zahrnují především teplotu, rozpouštědlo (nebo směs rozpouštědel), chromatografické podmínky a separační kolonu nebo systém separačních kolon.

Molekulové hmotnosti stanovené tímto způsobem jsou relativními hodnotami a označují se jako „molekulární hmotnosti polystyrenového ekvivalentu“. To znamená, že se molekulová hmotnost bude v závislosti na strukturních a chemických rozdílech mezi vzorkem a standardem od absolutní hodnoty více či méně lišit. Použijí-li se jiné standardy, např. polyethylenglykol, polyethylenoxid, polymethylmethakrylát, polyakrylová kyselina, musí být použití zdůvodněno.

X.1.4 Princip zkušební metody

Rozdělení molekulové hmotnosti vzorku i střední molekulové hmotnosti (M_n , M_w) lze stanovit metodou GPC. GPC je speciální typ kapalinové chromatografie, při němž je vzorek rozdělen podle hydrodynamických objemů jeho jednotlivých složek (2).

Separace probíhá při průchodu vzorku kolonou naplněnou porézním materiálem, obvykle organickým gelem. Malé molekuly proniknou póry, zatímco velké molekuly jsou zadrženy. Průchod velkých molekul je tedy kratší a jsou eluovány nejdříve. Středně velké molekuly pronikají některými póry a jsou eluovány později. Nejmenší molekuly se středním hydrodynamickým poloměrem menším než velikost porů gelu pronikají všemi póry. Tyto molekuly jsou eluovány nakonec.

V ideálním případě závisí separace pouze na velikosti molekul, ale v praxi je obtížné vyhnout se alespoň některým rušivým absorpčním jevům. Nestejnoměrná náplň kolony a mrtvé objemy mohou situaci zhoršit (2).

Detekce se provádí například prostřednictvím měření indexu lomu nebo absorpce UV a dává jednoduchou distribuční křivku. Má-li být však

křivce přiřazena skutečná molekulová hmotnost, je nezbytné kalibrovat kolonu průchodem polymerů o známé molekulové hmotnosti a v ideálním případě s v podstatě podobnou strukturou, např. různé polystyrenové standardy. Křivka má zpravidla gaussovský tvar, někdy deformovaný prodloužením na straně nízké molekulové hmotnosti, přičemž svíslá osa udává hmotnostní podíl různých molekulových hmotností a na vodorovné ose jsou vyneseny logaritmus molekulové hmotnosti.

X.1.5 **Kritéria kvality**

Opakovatelnost (relativní směrodatná odchylka: RSD) elučního objemu by měla být lepší než 0,3 %. Požadovaná opakovatelnost musí být zajištěna korekcí prostřednictvím standardů, je-li chromatogram hodnocen jako funkce času a neodpovídá výše uvedenému kritériu (1). Polydisperzity jsou závislé na molekulových hmotnostech standardů. V případě polystyrenových standardů jsou typickými hodnotami

$$M_p < 2\,000 \qquad M_w/M_n < 1,20$$

$$2\,000 = M_p = 10^6 \qquad M_w/M_n < 1,05$$

$$M_p > 10^6 \qquad M_w/M_n < 1,20$$

(M_p je molekulová hmotnost standardu v maximu píku)

X.1.6 **Popis zkušební metody**

X.1.6.1 *Příprava standardních roztoků polystyrénu*

Polystyrenové standardy se rozpustí opatrným smícháním se zvoleným elučním činidlem. Při přípravě roztoků se musí zohlednit doporučení výrobce.

Koncentrace zvolených standardů závisí na různých faktorech, např. na vstřikovaném objemu, viskozitě roztoku a citlivosti analytického detektoru. Maximální vstřikovaný objem musí být přizpůsoben délce kolony, aby nedošlo k přesycení. Typické vstřikované objemy pro analytickou separaci pomocí GPC s kolonou o rozměrech 30×7,8 mm jsou obvykle 40 až 100 μl. Větší objemy jsou možné, ale neměly by překročit 250 μl. Optimální poměr mezi vstřikovaným objemem a koncentrací musí být stanoven před vlastní kalibrací kolony.

X.1.6.2 *Příprava roztoku vzorku*

Stejně požadavky platí v zásadě pro přípravu roztoků vzorku. Vzorek se opatrným protřepáním rozpustí ve vhodném rozpouštědle, např. v tetrahydrofuranu (THF). V žádném případě by neměl být rozpuštěn pomocí ultrazvukové lázně. Je-li to nezbytné, přečistí se roztok vzorku filtrací přes membránový filtr o velikosti pórů 0,2 až 2 μm.

Přítomnost nerozpuštěných částic musí být zaznamenána v konečném protokolu, neboť mohou pocházet z frakcí s vysokou molekulovou

hmotností. Pro stanovení hmotnostního podílu nerozpuštěných částic vyjádřeného v procentech by měla být použita vhodná metoda. Roztoky by měly být použity do 24 hodin.

X.1.6.3 *Korekce na obsah nečistot a přísad*

Korekce obsahu frakce s $M < 1\ 000$ v důsledku příspěvku od přítomných nepolymerních specifických složek (např. nečistot a/nebo přísad) je obvykle nezbytná, není-li naměřený obsah $< 1\ %$. Dosáhne se toho přímou analýzou roztoku polymeru nebo eluátu GPC.

V případech, kdy je eluát po průchodu kolonou pro další analýzu příliš zředěný, musí být zkoncentrován. Může být nezbytné odpařit eluát do sucha a opět jej rozpustit. Zkoncentrování eluátu musí být provedena za podmínek, při nichž je zajištěno, že nedojde ke změnám v eluátu. Zpracování eluátu po GPC závisí na analytické metodě použité ke kvantitativnímu stanovení.

X.1.6.4 *Přístroje a pomůcky*

Aparatura pro GPC sestává z následujících součástí:

- zásobník rozpouštědla,
- odplynovací zařízení (podle potřeby),
- čerpadlo,
- tlumič rázů (podle potřeby),
- vstříkovací systém,
- chromatografické kolony,
- detektor,
- průtokoměr (podle potřeby),
- zapisovač,
- nádoba na odpad.

Musí být zajištěno, aby byl GPC systém inertní k použitým rozpouštědlům (např. použitím ocelových kapilár pro THF).

X.1.6.5 *Vstříkování a systém dávkování rozpouštědla*

Definovaný objem roztoku vzorku se nanáší na kolonu buď ručně, nebo dávkovačem do ostře ohraničené zóny. Příliš rychlý pohyb pístu vzad nebo vpřed (při ručním nanášení) může způsobit změny v pozorovaném rozdělení molekulové hmotnosti. Dávkovač rozpouštědla by pokud možno neměl působit rázy a v ideálním případě by měl být osazen tlumičem rázů. Průtok je řádově 1 ml/min.

X.1.6.6 Kolona

Podle typu vzorku se polymer charakterizuje použitím jednoduché kolony nebo několika za sebou řazenými kolonami. Komerčně je dostupná řada porézních materiálů definovaných vlastností (např. velikost pórů, meze zadržení). Výběr separačního gelu nebo délky kolony závisí jak na vlastnostech vzorku (hydrodynamický objem, distribuce molekulové hmotnosti), tak na specifických podmínkách separace, jako jsou rozpouštědlo, teplota a průtok (1), (2), (3).

X.1.6.7 Teoretická pater

Použitá kolona nebo kombinace kolon musí být charakterizována počtem teoretických pater. V případě použití THF jako elučního činidla to znamená nanesení roztoku ethylbenzenu nebo jiného vhodného nepolárního roztoku na kolonu známé délky. Počet teoretických pater je dán následující rovnicí

$$N=5,54 \left(\frac{V_e}{W_{1/2}} \right)^2 \quad \text{nebo} \quad N=16 \left(\frac{V_e}{W} \right)^2$$

kde

N je počet teoretických pater,

V_e je eluční objem v maximu píku,

W šířka základny píku,

$W_{1/2}$ šířka píku v polovině výšky.

X.1.6.8 Separační účinnost

Vedle počtu teoretických pater, který je veličinou určující šířku pásu, hraje roli také separační účinnost, která se stanoví ze strmosti kalibrační křivky. Separační účinnost kolony se získá z následujícího vztahu:

$$\frac{V_{e,M_x} - V_{e,(10M_x)}}{\text{plocha průřezu kolony}} \geq 6,0 \quad \left[\frac{\text{cm}^3}{\text{cm}^2} \right]$$

kde

V_{e,M_x} je eluční objem pro polystyren s molekulovou hmotností M_x ,

$V_{e,(10M_x)}$ je eluční objem pro polystyren s 10krát větší molekulovou hmotností.

Rozlišení systému je obecně definováno tímto vztahem:

$$R_{1,2} = 2 \times \frac{V_{e1} - V_{e2}}{W_1 + W_2} \times \frac{1}{\log_{10}(M_2/M_1)}$$

kde

V_{e1}, V_{e2} jsou eluční objemy dvou standardů polystyrénu v maximu píku,

W_1, W_2 jsou šířky základů píků,

M_1, M_2 molekulové hmotnosti odpovídající maximu píků (měly by se lišit faktorem 10).

Hodnota R pro kolonový systém by měla být větší než 1,7 (4).

X.1.6.9 *Rozpouštědla*

Všechna rozpouštědla musí mít vysokou čistotu (v případě THF 95% čistoty). Zásobník rozpouštědla (v případě potřeby pod inertní atmosférou) musí být dostatečně velký pro kalibraci kolony a pro několik analýz vzorku. Z rozpouštědla musí být před jeho nanesením čerpadlem na kolonu odstraněny plyny.

X.1.6.10 *Kontrola teploty*

Teplota kritických vnitřních součástí (vstřikovací smyčky, kolon, detektoru a potrubí) by měla být konstantní a měla by být sladěna s volbou rozpouštědla.

X.1.6.11 *Detektor*

Detektor slouží ke kvantitativnímu zaznamenávání koncentrace vzorku eluovaného z kolony. Nemá-li dojít ke zbytečnému rozšíření píků, musí být objem kyvety detekční cely co nejmenší. Neměl by být větší než 10 μ l, s výjimkou detektorů k měření rozptylu světla a viskozity. K detekci se obvykle používají diferenciální refraktometry. Vyžadují-li si to však specifické vlastnosti vzorku nebo elučního rozpouštědla, lze použít jiné typy detektorů, např. UV/VIS, IR detektory a detektory viskozity atd.

X.2 **DATA A ZPRÁVY**

X.2.1 **Data**

Pokud jde o podrobná kritéria hodnocení a o požadavky týkající se registrace a zpracování dat, měla by být použita norma DIN (1).

Pro každý vzorek musí být provedeny dva nezávislé experimenty. Analýzy musí být provedeny samostatně. Ve všech případech je důležité

stanovit také data ze slepých pokusů zpracovaných za stejných podmínek jako vzorek.

Je nezbytné výslovně uvést, že naměřené hodnoty jsou relativními hodnotami odpovídajícími molekulové hmotnosti použitého standardu.

Po stanovení retenčních objemů nebo retenčních časů (případně korigovaných za použití vnitřního standardu) se proti těmto veličinám vynesou do grafu hodnoty $\log M_p$ (příčemž M_p je výška maxima píku kalibračního standardu). Na jednu dekádu hodnot molekulární hmotnosti jsou nezbytné alespoň dva kalibrační body a pro celou křivku, která by měla pokrýt odhadovanou molekulovou hmotnost vzorku, se požaduje alespoň pět naměřených bodů. Poslední bod kalibrační křivky na straně nízkých molekulových hmotností se definuje n-hexylbenzenem nebo jiným vhodným nepolárním rozpouštědlem. Při stanovení se část křivky odpovídající molekulovým hmotnostem nižším než 1 000 podle potřeby koriguje na nečistoty a přísady. Eluční křivky se obvykle hodnotí pomocí elektronického zpracování dat. V případě manuálního hodnocení lze použít metodu ASTM D 3536-91 (3).

Jestliže je v koloně zachycen nerozpustný polymer, je jeho molekulová hmotnost pravděpodobně vyšší než molekulová hmotnost rozpuštěné frakce a pokud by to nebylo zohledněno, vedlo by to k nadhodnocení obsahu molekul o nízké hmotnosti. Návod na korigování obsahu molekul o nízké hmotnosti na obsah nerozpuštěného polymeru je uveden v příloze.

Distribuční křivka musí být vyvedena ve formě tabulky nebo graficky (diferenciální četnost nebo kumulativní četnost v procentech proti $\log M$). V případě grafické prezentace by měla mít jedna dekáda molekulární hmotnosti délku 4 cm a výška maxima píku by měla být asi 8 cm. V případě integrálních distribučních křivek by měla být vzdálenost mezi 0 a 100 % na ordinátě přibližně 10 cm.

X.2.2 **Protokol o zkoušce**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

X.2.2.1 *Zkušební látka*

- dostupné informace o zkušební látce (identita, přísady, nečistoty),
- popis zpracování vzorku, pozorované skutečnosti, problémy.

X.2.2.2 *Vybavení*

- zásobník elučního činidla, inertní plyn, odstranění plynu z elučního činidla, složení elučního činidla, nečistoty,
- čerpadlo, tlumič rázů, vstřikovací systém,

- separační kolony (výrobce, všechny informace o charakteristikách kolon, jako jsou velikost pórů, druh separačního materiálu atd., počet, délka a pořadí použitých kolon),
- počet teoretických pater kolony (nebo kombinace kolon), separační účinnost (rozlišení systému),
- informace o symetrii píků,
- teplota kolony, způsob kontroly teploty,
- detektor (princip měření, typ, objem kvety),
- průtokoměr, je-li použit (výrobce, princip měření),
- systém pro zaznamenávání a zpracování dat (hardware a software).

X.2.2.3 *Kalibrace systému*

- podrobný popis metody použité pro sestrojení kalibrační křivky,
- informace o kritériích kvality této metody (např. korelační koeficient, chyba součtu čtverců atd.),
- informace o všech extrapolacích, předpokladech a aproximacích provedených během experimentálního postupu a při hodnocení a zpracování dat,
- všechny naměřené hodnoty použité při konstrukci kalibrační křivky musí být dokumentovány v tabulce, která musí pro každý kalibrační bod obsahovat následující informace:
 - název vzorku,
 - výrobce vzorku,
 - charakteristické hodnoty standardů M_p , M_n , M_w a M_w/M_n , jak jsou poskytnuty výrobcem nebo jak jsou zjištěny z následných měření, společně s podrobnostmi o metodě stanovení,
 - vstříknutý objem a vstříknutá koncentrace,
 - hodnota M_p použitá po kalibraci,
 - eluční objem nebo korigovaný retenční čas měřený v maximu píku,
 - hodnota M_p vypočtená pro maximum píku,
 - chyba vypočtené hodnoty M_p a kalibrační hodnoty M_p vyjádřená v procentech.

X.2.2.4 *Informace o obsahu podílu s nízkou molekulovou hmotností v polymeru*

- popis metod použitých v analýze a způsobu, jakým byly experimenty provedeny,
- informace o obsahu podílu s nízkou molekulovou hmotností vyjádřeném v procentech celkového vzorku (m/m),
- informace o nečistotách, přísadách a jiných nepolymerních podílech vyjádřených v procentech celkového vzorku (m/m).

X.2.2.5 *Hodnocení*

- hodnocení na základě časové závislosti: metody použité pro zajištění požadované reprodukovatelnosti (metoda korekce, vnitřní standard atd.),
- informace o tom, zda hodnocení bylo provedeno na základě elučního objemu nebo retenčního času,
- informace o omezeních hodnocení v případě, že pík nebyl kompletně analyzován,
- popis metody hlazení, bylo-li použito,
- příprava a postupy předběžné úpravy vzorku,
- popřípadě přítomnost nerozpuštěných částic,
- vstříknutý objem (μl) a vstříknutá koncentrace (mg/ml),
- pozorované skutečnosti, které vedou k odchylkám od ideálních charakteristik metody GPC,
- podrobný popis všech změn zkušebních postupů,
- podrobnosti o rozsahu chyb,
- jakékoliv další informace a pozorování relevantní pro interpretaci výsledků.

X.3 **LITERATURA**

- (1) DIN 55672 (1995). Gelpermeationschromatographie (GPC) mit Tetrahydrofuran (THF) als Elutionsmittel, Teil 1.
- (2) Yau, W. W., Kirkland, J. J., Bly, D. D. eds, (1979). *Modern Size Exclusion Liquid Chromatography*, J. Wiley and Sons.
- (3) ASTM D 3536-91, (1991). Standard Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution by Liquid Exclusion Chromatography (Gel Permeation

Chromatography-GPC). American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.

- (4) ASTM D 5296-92, (1992). Standard Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution of Polystyrene by High Performance Size-Exclusion Chromatography. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.

PŘÍLOHA

Návod na korigování obsahu molekul o nízké hmotnosti na obsah nerozpuštěného polymeru

Je-li ve vzorku přítomen nerozpuštěný polymer, vede to ke ztrátě hmotnosti během analýzy GPC. Nerozpuštěné polymery jsou nevratně zachyceny v koloně nebo na filtru při filtrování vzorku, zatímco rozpustný podíl vzorku kolonou projde. V případě, že lze odhadnout nebo změřit přírůstek indexu lomu (dn/dc) polymeru, lze odhadnout ztrátu hmotnosti vzorku na koloně. V takovém případě se korekce provede pomocí externí kalibrace standardním materiálem o známé koncentraci a známé hodnotě dn/dc , čímž se provede kalibrace refraktometru. V příkladě uvedeném dále je jako standard použit polymethylmethakrylát (pMMA).

Při externí kalibraci pro analýzu polyakrylátů se analyzuje metodou GPC standard pMMA známé koncentrace v tetrahydrofuranu a výsledná data se použijí pro nalezení konstanty refraktometru podle rovnice:

$$K = R/(C \times V \times dn/dc)$$

kde

K je konstanta refraktometru ($\mu\text{Vs/ml}$),

R je odečet pro standard pMMA (μVs),

C je koncentrace standardu pMMA (mg/ml),

V je nastříknutý objem (ml) a

dn/dc je přírůstek indexu lomu pro pMMA v tetrahydrofuranu (ml/mg).

Pro standard pMMA jsou typická následující data:

R = 2 937 891

C = 1,07 mg/ml

V = 0,1 ml

dn/dc = 9×10^{-5} ml/mg .

Výsledná hodnota K, $3,05 \times 10^{11}$ se poté použije pro výpočet teoretické odezvy detektoru v případě, že detektorem prošlo 100 % vstříknutého polymeru.

XI. METODA PRO STANOVENÍ CHOVÁNÍ POLYMERŮ PŘI ROZPOUŠTĚNÍ / EXTRAKCI VE VODĚ – metoda A.20 podle přílohy směrnice 98/73/ES

XI.1. METODA

Popsaná metoda je replikou revidované verze metody OECD TG 120 (1997). Další technické informace jsou uvedeny v odkaze (1).

XI.1.1 Úvod

V případě určitých polymerů, např. emulzních polymerů, může být před použitím dále popsané metody nezbytná předběžná úprava. Tato metoda není použitelná pro kapalné polymery a pro polymery, které za zkušebních podmínek reagují s vodou.

Není-li metoda použitelná nebo proveditelná, je možné zkoumat chování polymerů při rozpouštění a extrakci jinými metodami. V takových případech by měly být uvedeny všechny podrobnosti použité metody a její zdůvodnění.

XI.1.2 Referenční látky

Nejsou.

XI.1.3 Princip zkušební metody

Chování polymerů při rozpouštění/extrakci ve vodném prostředí se zjišťuje baňkovou metodou (viz A.6, rozpustnost ve vodě, baňková metoda) s úpravou uvedeno dále.

XI.1.4 Kritéria kvality

Nejsou.

XI.1.5 Popis zkušební metody

XI.1.5.1 Zařízení

Pro provedení metody je nezbytné následující zařízení:

- drtící zařízení, např. mlýnek pro přípravu částic o známé velikosti,
- třepačka s možností kontroly teploty,
- membránový filtrační systém,
- vhodné analytické vybavení,
- normalizovaná síta.

XI.1.5.2 *Příprava vzorku*

Reprezentativní vzorek musí být nejdříve omezen za použití vhodného síta na velikost částic 0,125 až 0,25 mm. Kvůli stálosti vzorku nebo kvůli procesu drcení může být nezbytné chlazení. Gumovité materiály mohou být drceny při teplotě kapalného dusíku (1).

Nelze-li požadované velikosti částic dosáhnout, mělo by se postupovat tak, aby byla velikost částic zmenšena co nejvíce, a výsledky by měly být uvedeny. Ve zprávě je nezbytné uvést, jak byl nadrcený vzorek uchován do provedení zkoušky.

XI.1.5.3 *Postup*

Do každé ze tří nádob opatřených skleněnými zátkami se naváží po 10 g gramech zkušební látky a přidá se po 1 000 ml vody. Ukáže-li se zpracování 10 g polymeru neschůdným, mělo by být použito nejbližší vyšší množství, které lze zpracovat, a objem vody by měl být odpovídajícím způsobem upraven. Nádoby se těsně zazátkují a poté se třepou při 20 °C. Měly by být použita třepačka nebo míchačka schopná pracovat při konstantní teplotě. Po 24 hodinách se obsah každé nádoby odstředí nebo zfiltruje a v čiré vodné fázi se vhodnou analytickou metodou stanoví koncentrace polymeru. Nejsou-li k dispozici vhodné analytické metody pro vodnou fázi, lze celkovou rozpustnost/extrahovatelnost zhodnotit z hmotnosti suchého zbytku na filtru nebo ze usazeniny po odstředění.

Obvykle je nezbytné kvantitativně rozlišit nečistoty a přísady na jedné straně, a podíl o nízké molekulové hmotnosti na druhé straně. V případě vázkového stanovení je také důležité provést slepý pokus bez použití zkušební látky, s cílem zohlednit zbytky pocházející z experimentálního postupu.

Chování při rozpouštění/extrakci polymerů ve vodě při 37 °C a pH 2 a 9 může být stanoveno způsobem popsáním v případě provádění experimentu při 20 °C. Hodnot pH lze dosáhnout přidáním buď vhodných tlumivých roztoků, nebo vhodných kyselin nebo zásad, např. kyseliny chlorovodíkové, kyseliny octové, hydroxidu sodného nebo draselného analytické čistoty nebo NH₃.

V závislosti na použité metodě by měla být provedena jedna nebo dvě zkoušky. Jsou-li k dispozici dostatečně specifické metody pro přímou analýzu vodné fáze na obsah polymeru, měla by stačit jedna zkouška, jak je uvedena výše. Nejsou-li však takové metody k dispozici a zjištění chování polymeru při rozpouštění/extrakci je omezeno na přímou analýzu stanovením celkového obsahu organického uhlíku (TOC) ve vodném extraktu, měla by být provedena dodatečná zkouška. Zkouška by měla být rovněž provedena třikrát, přičemž se použije 10krát menší množství vzorků polymeru a stejné množství vody jako v první zkoušce.

XI.1.5.4 *Analýza*

XI.1.5.4.1 Zkouška s jednou velikostí vzorku

Je možné, že jsou k dispozici metody pro přímou analýzu složek polymeru ve vodné fázi. V opačném případě lze také zvážit nepřímou analýzu rozpuštěných/extrahovaných složek polymeru stanovením celkového obsahu rozpustných složek a provedením korekce na obsah složek, které nejsou specifické pro polymer.

Analýza vodné fáze na obsah celkového polymerního podílu je možná buď dostatečně citlivou metodou, např.

- stanovením celkového obsahu organického uhlíku (TOC) rozkladem peroxidisíranem nebo dichromanem za účelem uvolnění CO₂ a následnou IR analýzou nebo chemickou analýzou,
- atomovou absorpční spektrometrií (AAS) nebo jejím protějškem spektrometrií s indukčně vázanou plazmou (ICP) v případě silikonu nebo polymerů obsahujících kov,
- UV absorpcí nebo spektrofluorimetrií v případě arylových polymerů,
- kapalinovou chromatografií s hmotovým spektrometrem (LC-MS) v případě vzorků s nízkou molekulovou hmotností,

nebo vakuovým odpařením vodného extraktu do sucha a spektroskopickou (IR nebo UV atd.) nebo AAS/ICP analýzou zbytku.

Není-li analýza vodné fáze jako takové možná, měl by být vodný extrakt extrahován s vodou nemísitelným organickým rozpouštědlem, např. chlorovaným uhlovodíkem. Rozpouštědlo se poté odpaří a zbytek se analyzuje způsobem popsaným výše pro obsah polymeru. Jakékoliv složky, které jsou identifikovány jako nečistoty nebo přísady se odečtou, aby byl stanoven stupeň rozpustnosti samotného polymeru.

Jsou-li přítomny relativně velká množství takových materiálů, může být nezbytné analyzovat zbytek například HPLC nebo GC, aby se odlišily nečistoty od přítomného monomeru nebo derivátů monomeru a aby tak mohl být stanoven skutečný obsah monomeru nebo jeho derivátů.

V některých případech může být dostačující pouhé odpaření organického rozpouštědla do sucha a zvážení suchého zbytku.

XI.1.5.4.2 Zkouška se dvěma různými velikostmi vzorku

Všechny vodné extrakty se analyzují na celkový obsah organického uhlíku.

Provede se vázkové stanovení nerozpuštěného/neextrahovaného podílu vzorku. Zůstávají-li po odstředění nebo filtraci obsahu každé nádoby usazeny na stěnách nádoby zbytky polymeru, měla by být nádoba oplachována filtrátem, dokud není vyčištěna od všech viditelných zbytků. Poté se filtrát opět odstředí nebo zfiltruje. Zbytky, které zůstanou na filtru nebo v centrifugační kyvetě se vysuší za vakua při 40 °C a zváží. Sušení se provádí do konstantní hmotnosti.

XI.2 DATA

XI.2.1 Zkouška s jednou velikostí vzorku

Po každou ze tří baněk by měly být uvedeny jednotlivé výsledky a průměrné hodnoty vyjádřené v jednotkách hmotnosti vztažené na objem roztoku (obvykle mg/l) nebo v jednotkách hmotnosti vztažené na hmotnost vzorku polymeru (obvykle mg/g). Kromě toho by měla být uvedena ztráta hmotnosti vzorku (vypočtená jako hmotnost rozpuštěné látky dělená hmotností výchozího vzorku). Měly by být vypočteny relativní směrodatné odchylky (RSD). Měla by být uvedena jednotlivá čísla pro celkovou látku (polymer + hlavní přísady atd.) a pro samotný polymer (tj. po odečtení příspěvku od těchto přísad).

XI.2.2 Zkouška se dvěma různými velikostmi vzorku

Pro každý experiment by měly být uvedeny jednotlivé hodnoty TOC ve vodných extraktech obou trojitých experimentů a průměrné hodnoty vyjádřené v jednotkách hmotnosti vztažené na objem roztoku (obvykle mg C/l) a rovněž v jednotkách hmotnosti vztažené na hmotnost výchozího vzorku (obvykle mg C/g).

Není-li mezi výsledky pro vysoké a nízké poměry vzorek/voda rozdíl, může to znamenat, že všechny extrahovatelné složky byly skutečně vyextrahovány. V takovém případě nebývá přímá analýza obvykle nezbytná.

Měly by být uvedeny jednotlivé hmotnosti zbytků vyjádřené v procentech výchozích hmotností vzorků. Měly by být vypočteny průměrné hodnoty za celý experiment. Rozdíly mezi 100 % a zjištěnými hodnotami v procentech představují množství rozpustného a extrahovatelného materiálu v původním vzorku vyjádřené v procentech.

XI.3 ZPRÁVY

XI.3.1 Protokol o zkoušce

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

XI.3.1.1 Zkušební látka

— dostupné informace o zkušební látce (identita, přísady, nečistoty, obsah podílu o nízké molekulové hmotnosti).

XI.3.1.2 *Experimentální podmínky*

- popis použitých postupů a experimentálních podmínek,
- popis analytických a detekčních metod.

XI.3.1.3 *Výsledky*

- výsledky rozpustnosti/extrahovatelnosti v mg/l; jednotlivé a střední hodnoty pro extrakční zkoušky v různých rozpouštědlech, rozepsané podle obsahu polymeru, nečistot, přísad atd.,
- výsledky rozpustnosti/extrahovatelnosti v mg/g polymeru,
- hodnoty TOC ve vodných extraktech, hmotnost rozpuštěné látky a vypočtené procentuální hodnoty (byla-li stanovena),
- hodnota pH každého vzorku,
- informace o hodnotách pro slepý pokus,
- podle potřeby upozornění na chemickou nestabilitu zkušební látky během zkušebních postupů a analytických postupů,
- všechny informace, které jsou důležité pro interpretaci výsledků.

XI.4 **LITERATURA**

- (1) DIN 53733 (1976) Zerkleinerung von Kunststoffherzeugnissen für Prüfzwecke.