



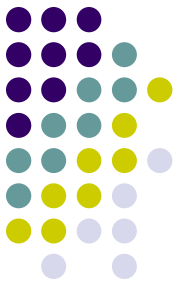
Интегрисане академске студије фармације

Инструменталне методе- Б14

П2. Атомско апсорпциона спектрофотометрија. Пламено фотометријска анализа. Колориметрија.

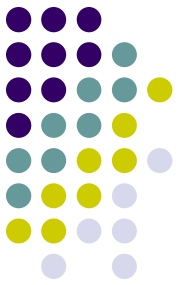


Проф. др Недељко Манојловић



АПСОРПЦИОНЕ МЕТОДЕ

- Ове методе заснивају се на мерењу смањења интензитета електромагнетног зрачења, услед апсорпције при проласку кроз испитивану супстанцу.
- Апсорбовано зрачење доводи до енергетских промена у атомима, молекулима и јонима испитиване супстанце.



- **Мерење апсорпције се врши ради одређивања концентрације супстанце, анализе хемијских реакција, идентификације супстанце, испитивања структуре молекула и одређивања различитих супстанци.**

нпр. клиничка анализа крви (Ca, Mg, Li, Na, K, Fe), анализа адитива у уљима и мастима (Ba, Ca, Na, Li, Zn, Mg), анализа воде и хране



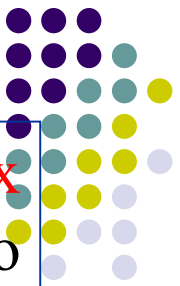
Апсорпционе оптичке методе се деле на три групе :

- **Колориметрију**
- **Апсорпциону спектрофотометрију**
- **Атомску апсорпциону спектрофотометрију**

АТОМСКА АПСОРПЦИОНА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА



- Атомска апсорпциона спектрофотометрија (ААС), је апсорпциона метода код које се мери смањење интензитета монохроматског зрачења **при проласку кроз атомску пару узорка.**
- Апсорпција енергије од стране неутралних атома у гасовитом стању
- **користи** за одређивање **неких метала**, за анализирање многих руда и минерала, **у анализи биолошких узорака**, а посебно **у анализи хране** нпр. одређивање селена у прехранбеним производима (нпр. кондиторским производима).



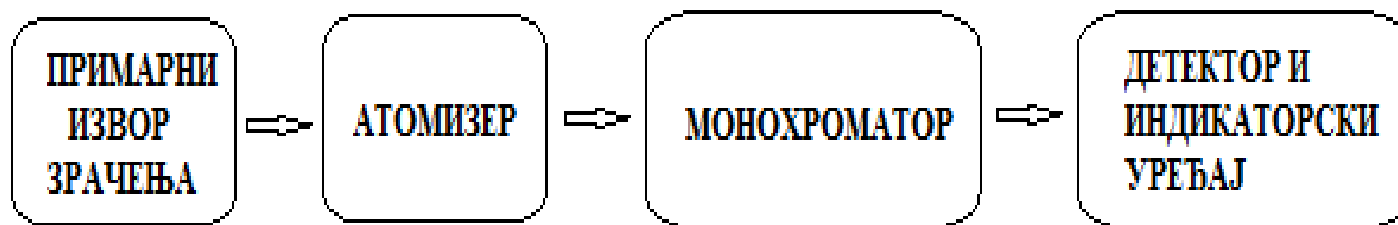
- Код анализе минералног састава **млека и млечних производа**, хемијске методе све више уступају место разним инструменталним методама међу којима AAS заузима значајно место.
- Атоми неког елемента апсорбоваће само ону енергију која им омогућава прелаз из нижег у више енергетско стање.
- Како су ови **прелази квантирани**, апсорбована енергија је строго селектована и зависи од врсте испитиваних атома.



- ААС је данас највише коришћена метода, а развојем електротермалне атомизације уврстила се и у ред најосетљивијих метода елементне анализе.

Атомски апсорпциони спектрофотометар чине:

- **примарни извор зрачења** (емисиони део)
- **атомизер** (апсорпциони део)
- **монохроматор** (селекциони део)
- **детектор и индикаторски уређај** (систем за појачавањ сигнала и мерни инструмент, мерни део) .



- Као **извор примарног зрачења** данас се углавном користе лампе са шупљом катодом.
- Други извори као што су лучне лампе и лампе са безелектродним пражњењем користе се у случајевима где је зрачење лампе са шупљом катодом слабо.



Лампа са шупљом катодом

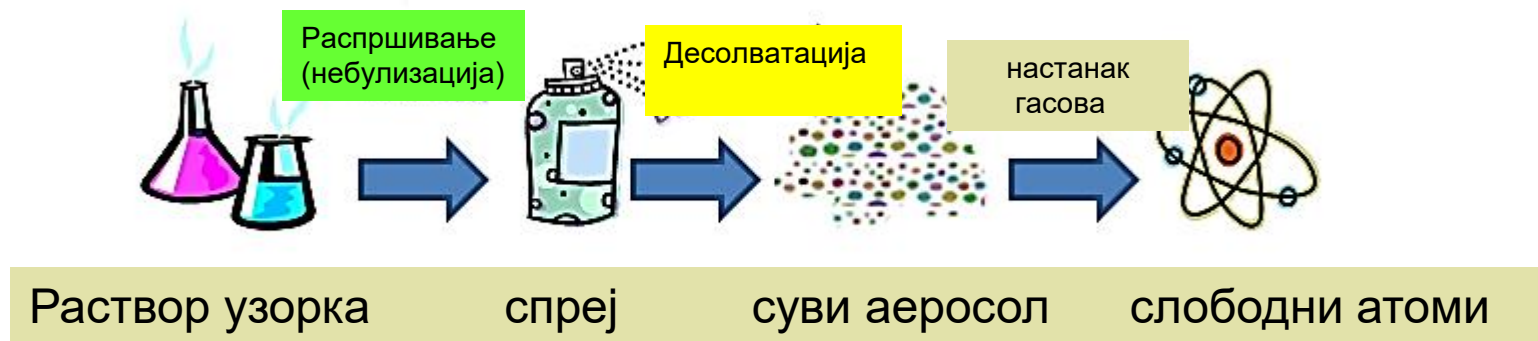




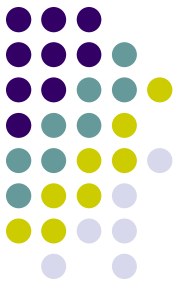
- **Атомизер** треба да обезбеди атомизацију узорка, односно његово превођење из чврстог, течног или облика раствора у атоме гаса, при чему побуђивање атома треба да буде минимално.

Данас се углавном користе два типа атомизера :

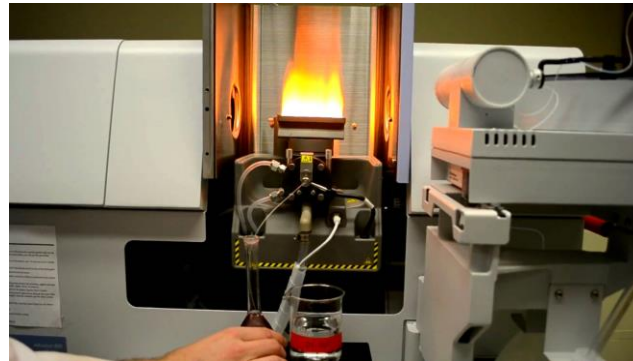
- пламени и
- електротермални



Сврха поступка атомизације је претварање анализата у поновљиву количину гасних атома, који на одговарајући начин представља узорак.



- **Пламеник** је монтиран на постољу које омогућава да се пламен тако постави да зрачење примарног извора пролази кроз средину пламена на жељеној висини, да би се добио максимални сигнал.
- Поред тога, пламеник може да се ротира да би се смањила дужина пута светлости у случајевима када је апсорбанца сувише велика.



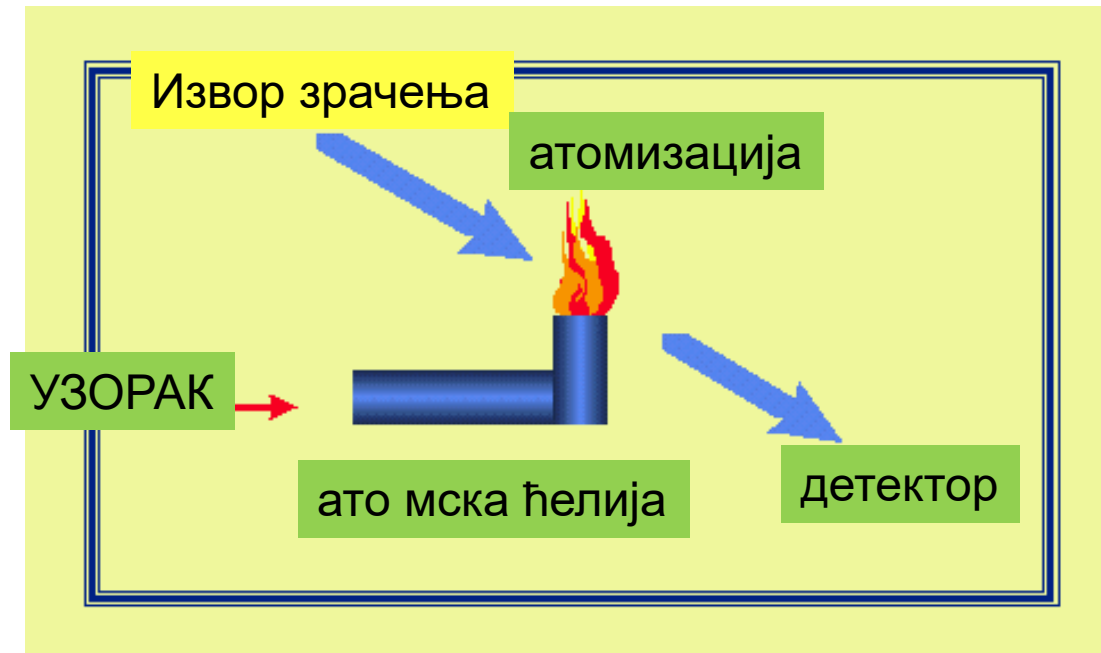
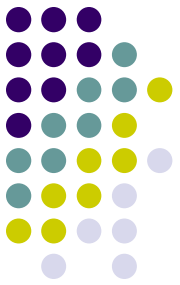
начин увођења испитиваног метала у пламен је да се припреми **његов раствор** који се затим распршује помоћу пнеуматског распршивача и у виду финих капљица раствора (аеросола) уводи у пламен.



- **Анализирани узорак у виду аеросола се уводи у пламен.**
- Као и код пламене фотометрије најчешће се користе пнеуматски распршивачи и две конструкционе изведбе: концентрични и распршивачи са тангенцијалним током. У ААС се најчешће користе **ваздух/ацетилен и ацетилен/азотсубоксидни** пламенови који су најефикаснији у атомизацији јер имају вишу температуру и погодни су за анализу рефракторних материјала: Sr, Al, Ti..

OXIDANT	FUEL	TEMPERATURE, C	MAX BURNING VELOCITY (cm/s) брзина сагоревања
Oxygen	Natural Gas	2700-2800	370-390
Oxygen	Hydrogen	2550-2700	900-1400
Oxygen	Acetylene	3050-3150	1100-2480
Air	Natural Gas	1700-1900	39-43
Air	Hydrogen	2000-2100	300-440
Air	Acetylene	2100-2400	158-266
Nitrous Oxide	Acetylene	2600-2800	285

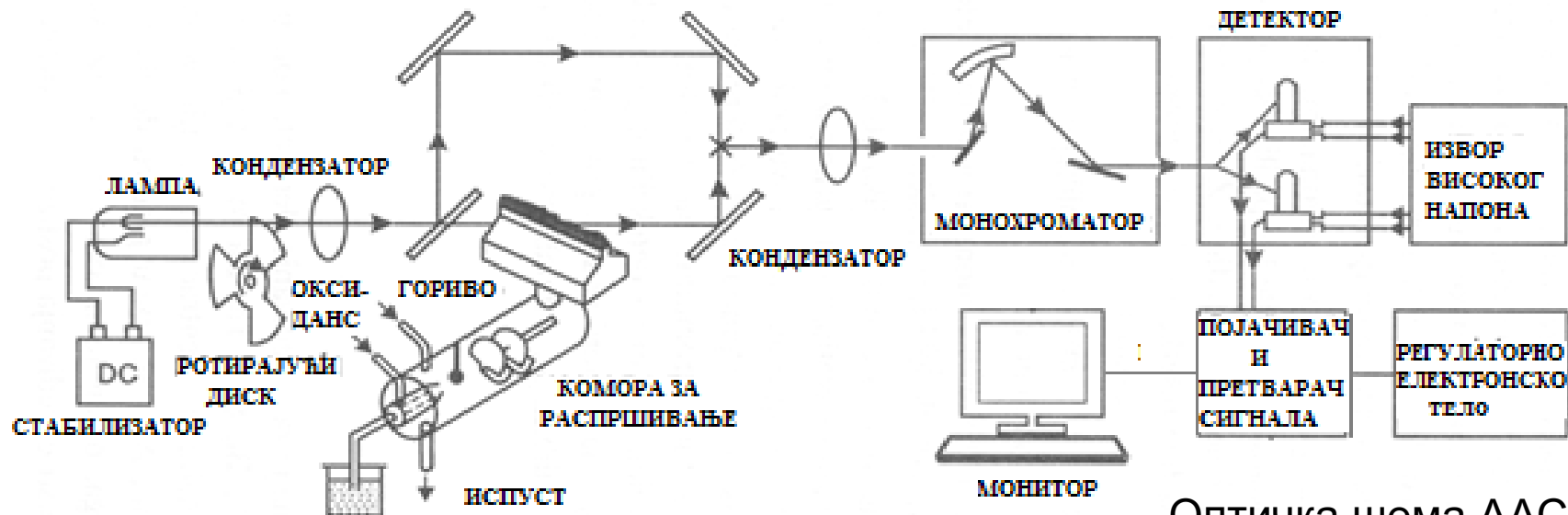
- Пре увођења у пламен аеросол се меша са гасом, тј горивом.
- Распршивачи и комора праве се од хемијски инертних материјала.



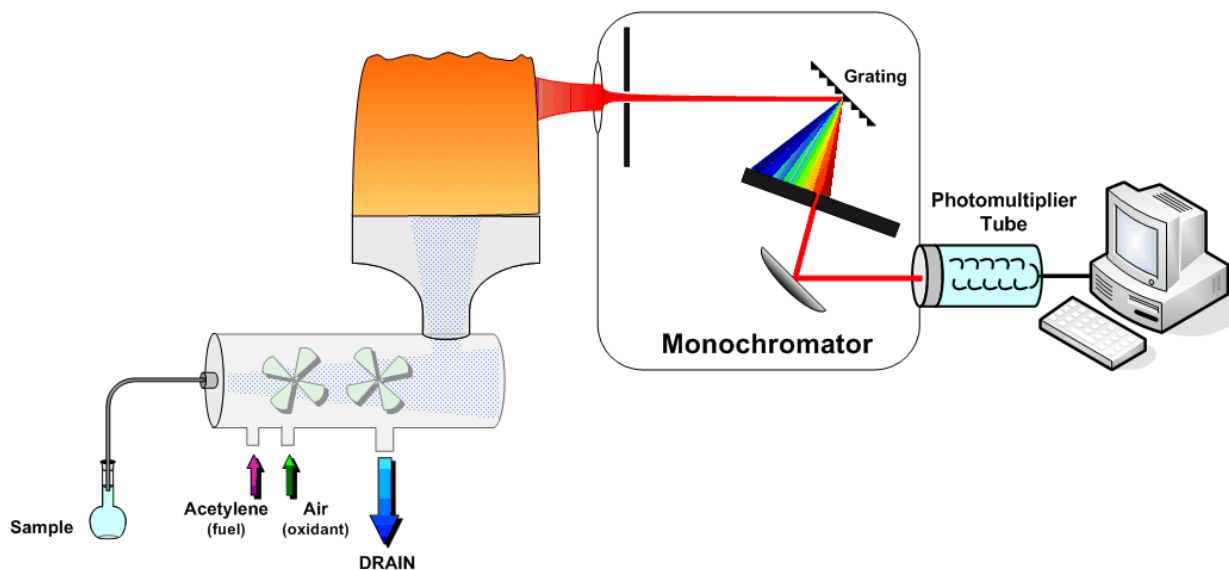
- **Електротермални атомизери**, који се све више користе представљају мини пећ, а ефикасност атомизације је око 100%, тако да то повећава осетљивост односно смањује границу детекције више од 100 пута. Електротермални атомизери могу бити различитих конструкција и то у облику цеви, штапића, кивете и направљене су од графита превученог пиролитичким графитом који се загрева помоћу електричне струје.



Атомски апсорпциони спектрофотометар



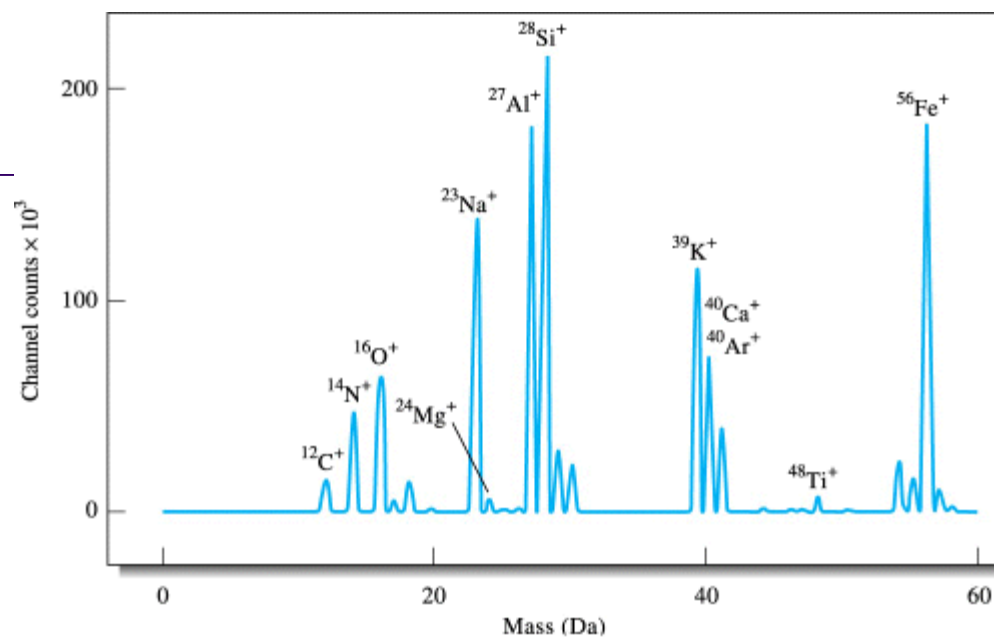
Оптичка шема ААС



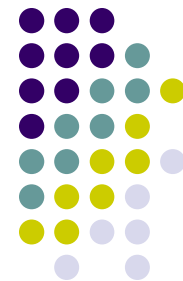


ХИДРИДНА ТЕХНИКА

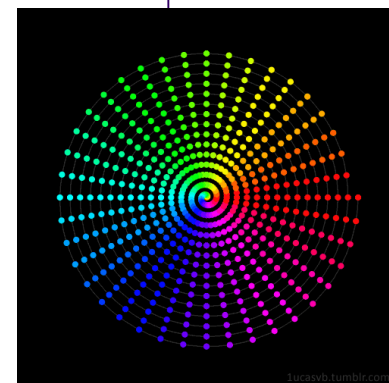
- Хидридна техника је разрађена за одређивање елемената који граде испарљиве хидриде: Ge, Sn, Pb, As, Sb, Bi, Se и Te.
- Овом техником се истовремено са 10 до 100-струким повећањем осетљивости одређивања, постиже и издвајање елемената из сложеног матрикса



ХИДРИДНА ТЕХНИКА



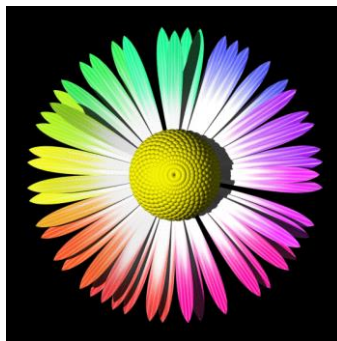
- Хидрид се гради хемијском реакцијом.
- Данас се као редукционо средство највише користи натријум-борхидрид.
- Предности овог редукционог средства су:
 - реакција је врло брза
 - може да редукује све поменуте елементе
 - може се додавати и у облику раствора
- Хидрид се сакупља и гасном струјом убацује у кварцну цев која се загрева тј. атомизер.
- У атомизеру се хидрид разлаже, настаје атомска пара која апсорбује атомско зрачење HCl и мери апсорпциони сигнал.



ТЕХНИКА ХЛАДНЕ ПАРЕ



- Техника хладне паре се примењује за одређивање живе у различитим узорцима.
- Техника се заснива на особини живе да има јако висок напон паре на собној температури и да је пара стабилна.
- потребно је Hg (II) или Hg (I) редуковати до метала, а онда пару струјом инертног гаса или ваздухом унети у атомизер.
- Слично као код хидридне технике, и овде се врши одвајање од матрикса узорка и концентровање, тако да се постиже граница детекције.



Пламенофотометријска анализа



- Пламена фотометрија је емисиона анализа код које се као средство побуђивања користи пламен добијен оксидацијом горивног гаса (бутан, ацетилен, водоник,..) кисеоником или ваздухом
- У пламену се могу побудити атоми алкалних и земноалкалних метала, In, Cr, Mn, Co, Cu, Ag и неки други елементи чија је енергија ексцитације мала-укупно око 40 елемената
- Тачност пламенофотометријских одређивања износи 2-4%

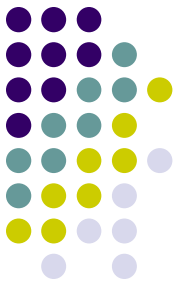


Схема пламенофотометријске анализе

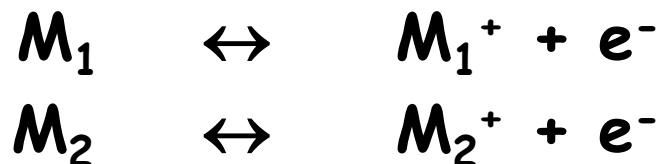


- Фактори који утичу на пламенофотометријску анализу
- густина
- површински напон
- температура

Процес јонизације



- Процес јонизације испитиваног елемента доводи до смањења интензитета спектралних линија.
- Уколико је у плазми присутно више елемента процес јонизације може довести до повећања интензитета спектралних линија анализираног елемента.
- Уколико су у плазми присутна два елемента, који могу да се јонизују:



- Укупна концентрација електрона у плазми пламена биће:

$$[e^-] = [M_1^+] + [M_2^+]$$



- Интензитет емитоване светлости битно зависи и од анјонског састава раствора.
- У већини случајева (изузимајући анјоне органских киселина) присуство ањона доводи до смањења интензитета емитоване светлости односно анјонског ефекта
- Најјачи ефекат је у присуству сулфатног и фосфатног јона

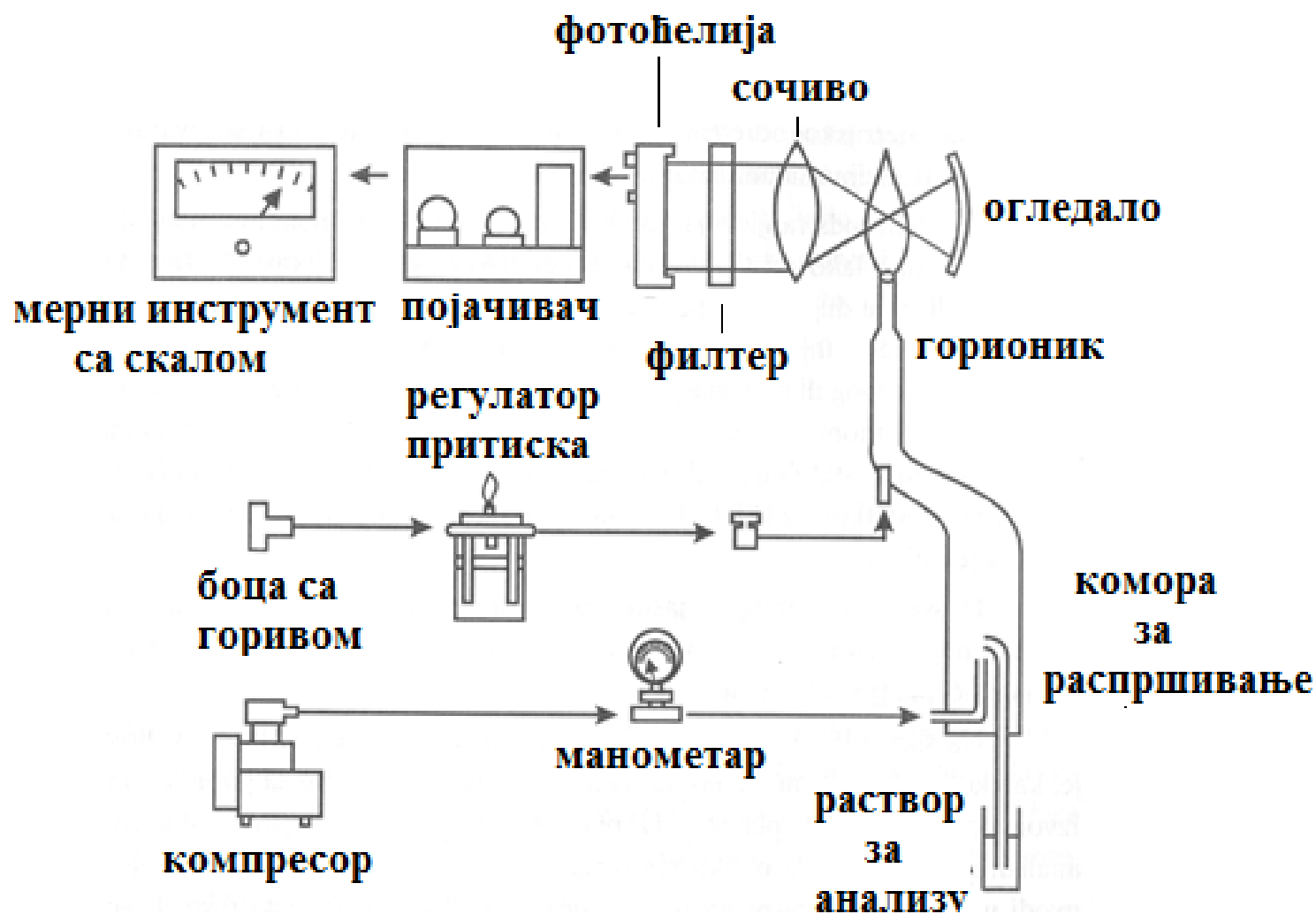
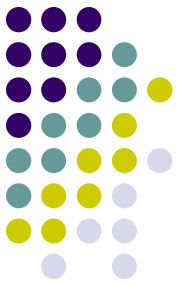


Схема пламеног фотометра

Квалитативна анализа



- Пламенофотометријски се може извести и квалитативна анализа узорка јер је светлост која се емитује карактеристична за сваки елемент који се налази у узорку.
- Принцип се састоји у томе да се **прво читава фотоструја за слепу пробу** при чему се светлосни сноп пропушта кроз одговарајуће филтре карактеристичне за одређени елемент, **затим се на исти начин читава фотоструја за испитивани раствор**



Квантитативна анализа

- Интензитет спектралних линија неког елемента сразмеран је његовој концентрацији.
- У мањем интервалу концентрација, зависност интензитета од концентрације је линеарна.

До одступања од линеарности долази у следећим случајевима:

- При ниским концентрацијама испитиваног елемента
- При високим температурама пламена
- При високим концентрацијама испитиваног елемента
- Због низа ометајућих фактора

Метода стандардног додатка



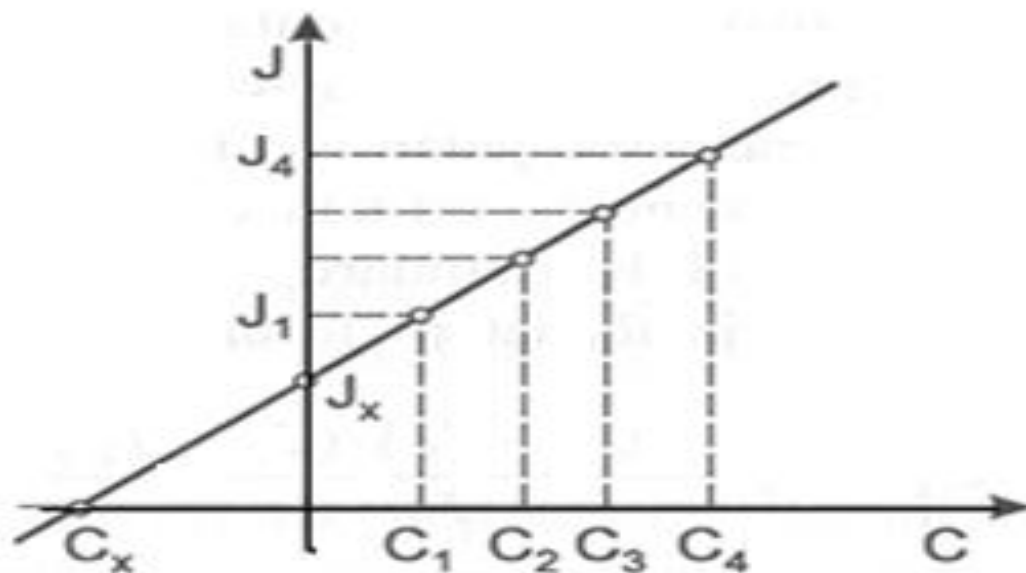
$$C_x = \frac{J_1 \cdot C_1}{J_2 - J_1}$$

$$C_x = \frac{J_1 \cdot C_2}{J_3 - J_1}$$

$$J_1 = k \cdot C_x$$

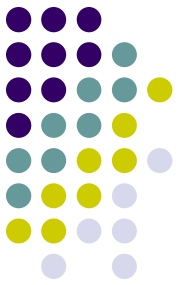
$$J_2 = k \cdot (C_1 + C_x)$$

$$J_3 = k \cdot (C_2 + C_x)$$



Одређивање концентрације методом стандардног додатка

Рачунски поступак за добијање непознате концентрације заснива се на пропорционалности између вредности фотострује и концентрације.



Метода ограничавајућих раствора

- За овај поступак су потребна два раствора чије су концентрације нешто више, односно нешто ниже од концентрације испитиваног раствора.

•Садржај анализираног елемента се израчунава по формули:

$$C_x = C_1 + \frac{(C_2 - C_1) \cdot (J_x - J_1)}{J_2 - J_1}$$

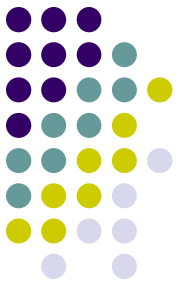
C_x -непозната концентрација анализираног елемента

C_1 и C_2 -концентрације анализираног елемента у стандардним растворим 1 и 2

J_x -фотоструја за испитивани раствор

J_1 и J_2 -фотострује измерена за растворе 1 и 2

Метода радијационог пуфера



- Ова метода се заснива на утицају различитих супстанци на интензитет зрачења испитиваног елемента у пламену.
- При томе супстанца која се прво додаје изазива највећи ефекат на интензитет зрачења, док следећи додаци утичу у мањем степену или не утичу на интензитет зрачења.

Метода разблаживања



- Ова метода се користи код анализе биолошких материјала (урин, крв, плазма,...)
- Анализирани раствор се разблажује 25 до 50 пута, чиме се знатно смањује разлика анализираних стандардних раствора у погледу површинског напона, вискозности итд.

