Primjena sepktroskopije u analitičkoj kemiji

Bikić, Antonela

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:582936

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek







Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Antonela Bikić

Primjena spektroskopije u analitičkoj kemiji

Završni rad

Mentorica: doc. dr. sc. Olivera Galović

Osijek, 2020.

Sažetak

Cilj ovog rada je navesti primjenu spektroskopije u analitičkoj kemiji. Ne tako davno, određivanje struktura molekula bilo je zamorno i dugotrajno. Izum suvremenih tehnika omogućuje utvrđivanje cjelovite strukture uzorka u vrlo kratkom vremenu. Spektroskopija koristi apsorpciju, emisiju ili rasipanje elektromagnetskog zračenja materijom u svrhu kvalitativnih i kvantitativnih ispitivanja materije ili fizikalnih procesa. Spektroskopija se koristi u mnogim granama znanosti jer omogućuje određivanje strukture molekule, jačine kemijske veze ili strukture biomolekula. Spektroskopija se može koristiti i za identificiranje nepoznatih spojeva, otkrivanje poznatih spojeva, mjerenje koncentracije poznatih spojeva u uzorcima. Mnoge analitičke metode u kemiji, biokemiji i farmaciji temelje se na korištenju spektroskopije.

ključne riječi: spektroskopija, apsorpcija, emisija, elektromagnetsko zračenje, identifikacija uzorka, spektroskopske metode

Abstract

The aim of this work is to state application of spectroscopy in analitical chemistry. A while ago, determination of molecular structures was tiresome and time consumig. The invention of modern techniques makes possiblethe determination of the complete sample structure in a very short time. Spectroscopy uses the absorption, emission, or scattering of electromagnetic radiation by matter for the purpose of qualitative and quantitative studies of matter or studies of physical processes. Spectroscopy is used in many branches of science because it enables the determination of molecular structures, strength of chemical bond or structure of biomolecules. Spectroscopy can be applied for identification of unknown compounds, detection of known compounds, measuring the concentration of known compounds in samples. Many analitical methods in chemistry, biochemistry and pharmacy are based on using of spectroscopy.

keywords: spectroscopy, absorption, emission, electromagnetic radiation, identification of sample, spectroscopic methods

Sadržaj

1. Uvod....1
2. Literaturni pregled....2
2.1. Spektroskopija....2
2.2. Spektar elektromagnetskog zračenja....4
2.3. Beer – Lambert-ov zakon....7
2.4. Najčešće korištene spektroskopske tehnike....9
2.5. Primjena spektroskopije....13
2.5.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija....13
2.5.1.1. Određivanje magnezijeva stearata u farmaceutskim proizvodima....14
2.5.1.2. Određivanje koncentracije kadmija (Cd) i olova (Pb) u često korištenim dječjim sirupima u Nigeriji....15
2.5.1.3. Određivanje koncentracije teških metala u kupusu (Brassica oleracea L.)....16
2.5.2. Atomska fluorescentna spektroskopija....17
2.5.2.1. Određivanje selenija (Se) u biološkim uzorcima....17
2.5.2.2. Primjena u mljekarstvu....18
2.5.2.3. Određivanje selenija (Se) u povrću....19
2.5.3. Rendgenska fluorescentna spektroskopija....20
2.5.3.1. Određivanje željeznih meteorita....20
2.5.3.2. Analiza boje umjetničkih djela....22
2.5.3.3. Analiza legura....22
2.5.4. Optička emisijska spektroskopija s induktivno spregnutom plazmom....23
2.5.4.1. Određivanje prisutnosti metala u prirodnim vodama....24
2.5.4.2. Analiza biomase iz biljke Miscanthus giganteus....25
2.5.4.3. Određivanje koncentracije bora (B) u nodularnom lijevu....26
2.5.5. Plamena emisijska spektroskopija....26
2.5.5.1. Određivanje natrija (Na) i kalija (K) u oralnim rehidracijskim pripravcima....27
2.5.5.2. Određivanje litija (Li) u serumu....27
2.5.5.3. Određivanje bora (B) u borosilikatnom staklu....28
3. Zaključak....30
4. Literatura....31

1. Uvod

Spektroskopija je znanost koja proučava spektre dobivene zbog strukturnih ili energijskih promjena u atomima i molekulama tvari. Te energijske ili strukturne promjene nastale su nakon međudjelovanja atoma ili molekula tvari s elektromagnetskim zračenjem kako bi se dobili podaci o kvalitativnim i kvantitativnim sastavima pojedine materije ili u svrhu proučavanja fizikalnih procesa. Kao tvari se koriste atomi, molekule, ioni atoma ili molekula ili čvrste tvari. Ovisno o valnoj duljini, odnosno frekvenciji spektra, mjeri se intenzitet apsorbiranog, emitiranog ili raspršenog zračenja. Nastali spektri su karakteristični za točno određenu tvar. Spektroskopija se najviše upotrebljava u analitičkoj kemiji jer se koristi za identifikaciju nepoznatih kemikalija.

Uređaji za određivanje spektra se sastoje od nekoliko važnih dijelova. Prvi dio je izvor zračenja, zatim selektor valnih duljina kao što su filteri i monokromatori, držač uzoraka, detektor te sustav za obradu i prikaz podataka. Za vidljivi dio spektra se koristi lampa sa volframovim filamentom u kvarcu, dok se za ultraljubičasto područje koristi deuterijska lampa pod pritiskom. Kod selektora valnih duljina se kao monokromatori koriste prizme ili rešetke. Filtri mogu biti apsorpcijski i interferencijski. Apsorpcijski filtri apsorbiraju veći dio spektra, a ostatak propuštaju, dok interferencijski propuštaju dominantni dio, a ostatak reflektiraju. Kao detektori se koriste, prvenstveno ljudsko oko, zatim fotomultiplikatori (u području ultraljubičastog i infracrvenog zračenja), fotografska ploča koja je jedan od prvih detektora zračenja te CCD (engl. *charge-coupled devices*) koji je jedan od najbolje razvijenih elemenata za detekciju elektromagnetskog zračenja. Razvojem složenijih metoda koje se primjenjuju u spektroskopiji, dolazi i do razvoja sve složenijih spektroskopskih uređaja.

Moderni spektroskopski uređaji se svakim danom sve više nadograđuju te se na njima radi kako bi postali kompaktniji, univerzalniji, brži, pouzdaniji, a sve češće i jeftiniji. Razvojem i nastankom modernih spektroskopskih metoda, moguća je široka primjena u različitim područjima ljudske djelatnosti.

2. Literaturni pregled

2.1. Spektroskopija

Spektroskopija je grana fizike koja proučava fizički sustav promatranjem učinaka povezanih s emisijom i apsorpcijom elektromagnetskog zračenja. Najčešća podjela spektroskopije je prema spektralnom području. Spektroskopske metode se dijele i prema materiji u interakciji s elektromagnetskim zračenjem na molekulsku spektroskopiju i atomsku spektroskopiju, a prema vrsti energijskih prijelaza na apsorpcijske, emisijske i fluorescencijske. Apsorpcija je proces prijenosa energije elektromagnetskih valova na atom ili molekulu pri čemu taj atom ili molekula prelazi iz stanja niže energije u stanje više energije. Emisija je proces suprotan apsorpciji. Elektroni se pobuđuju zagrijavanjem na visoku temperaturu pomoću plamena ili električnog pražnjenja. Vraćanjem elektrona u osnovno stanje dolazi do emisije zračenja [1].

Elektromagnetski valovi omogućavaju komunikaciju s okolinom: vid, osjet topline, komunikacijski uređaji (radio, mobitel, TV). Interakcijom s tvari, elektromagnetsko zračenje daje informaciju o strukturi i dinamici molekula. Izvori elektromagnetskog zračenja mogu biti prirodni i umjetni. Prirodni su atomi, molekule, kozmičke zrake, zvijezde itd. Umjetni izvori su antene, svjetiljke, rtg cijevi [1].

Elektromagnetsko zračenje je vrsta energije koja se giba velikom brzinom. Energija se prenosi elektromagnetskim valovima. Elektromagnetskim zračenjem se šire električni i magnetski valovi, odnosno čestica fotona [1]. Fotoni nemaju masu, gibaju se brzinom svjetlosti (300 000 km/s) te sadrže određenu količinu energije. Energija fotona ovisi o frekvenciji zračenja (1):

$$E = h \, x \, \nu \qquad (1)$$

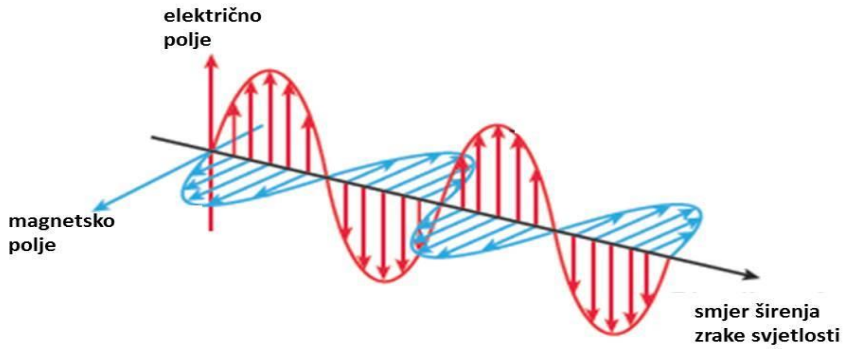
gdje je:

E – energija fotona

h – Planckova konstanta, $6{,}63 \times 10^{-34}$ Js

ν - frekvencija

Elektromagnetsko zračenje ima i valna i čestična svojstva. Putujući kroz prostor ima valna, a u interakciji s tvarima čestična svojstva. Ako se promatra kao val, sastoji se od okomito oscilirajućeg magnetskog i električnog polja (*Slika 1*). Oba polja su međusobno okomita te okomita na smjer širenja.



Slika 1. Elektromagnetsko zračenje sastavljeno od okomito oscilirajućeg magnetskog i električnog polja [2]

Oscilirajuće električno polje je karakterizirano valnom duljinom, frekvencijom i amplitudom (visinom vala). Valna duljina (λ) je definirana udaljenošću između dva valna maksimuma (izražena u cm). Frekvencija (ν) je definirana brojem oscilacija polja u sekundi (izražena u Hz). Viša frekvencija odgovara nižoj valnoj duljini i obrnuto (2):

$$V = c/\lambda \quad c = \lambda \, x \, \nu \tag{2}$$

gdje je:

c – brzina svjetlosti $3x10^{10}$ cm/s

λ – valna duljina u cm

ν – frekvencija u Hz

Pojava fotoelektričnog efekta je dokaz za čestičnu prirodu svjetlosti. Fotoelektrični efekt je pojava izbijanja elektrona iz metala pod djelovanjem elektromagnetskog zračenja. Izbačeni elektroni se nazivaju fotoelektroni.

Svaki foton ima energiju (1), minimalna energija koja je potrebna za odvajanje elektrona od površine metala se često naziva izlazni rad (3):

$$\Phi = h\,\nu_0 \qquad (3)$$

gdje je:

Φ – izlazni rad

h – Planckova konstanta, 6,63 x 10^{-34} Js

ν_0 – početna frekvencija

Kinetička energija izbačenog fotoelektrona (E_k) se definira kao razlika dovedene energije i izlaznog rada što je prikazano jednadžbom4:

$$E_k = h\nu - \Phi \qquad (4)$$

Ako je dovedena energija po iznosu manja od izlaznog rada ($h\nu < \Phi$), tada je energija fotona nedovoljna da bi iz metala izbacio fotoelektron [3].

2.2. Spektar elektromagnetskog zračenja

Fotoni se razvrstavaju u različita spektralna područja prema energiji koju imaju. Kada bijelo svjetlo (vidljivi dio elektromagnetskog zračenja) prolazi kroz neku obojenu tvar, dio zračenja se apsorbira. Dio koji nije apsorbiran prolazi kroz tvar te prikazuje koja je komplementarna apsorbiranom području valnih duljina i to je boja koja se vidi. Kod neprozirnih tvari boja koja se vidi predstavlja reflektirani dio upadnog zračenja (bijelog svijetla) [3].

ljubičasta boja: 400 – 420 nm

indigo: 420 – 440 nm

plava boja: 440 – 490 nm

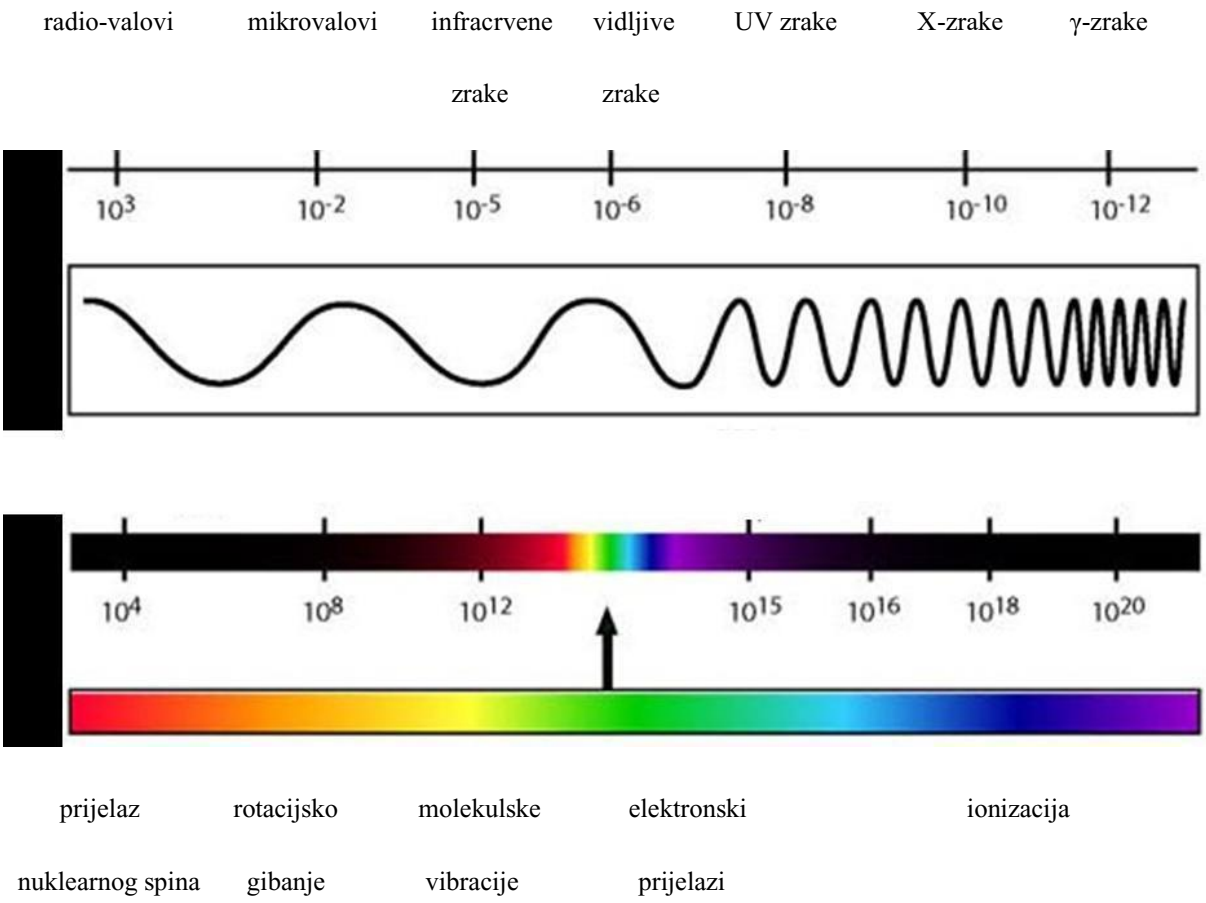
zelena boja: 490 – 570 nm

žuta boja: 570 – 585 nm

narančasta boja: 585 – 620 nm

crvena boja: 620 – 780 nm

Spektar elektromagnetskog zračenja predstavlja skup svih mogućih frekvencija, od nule do beskonačnosti (*Slika 2*).



Slika 2. Spektar elektromagnetskog zračenja [4]

Materija, kao i elektromagnetsko zračenje, pokazuje svojstva i čestice i vala. Energija molekule je „kvantizirana“. Kada se molekuli dovede energija, ona ju može koristiti za rotaciju u prostoru, za pojačanu vibraciju veza (poput opruge), za popunjavanje slobodnih orbitala na višem energetskom nivou itd. Koja od navedenih pojava će se događati, ovisit će o količini energije koju je molekula primila iz razloga što je svaka od tih formi kvantizirana i zahtjeva točno određenu količinu energije [3].



Slika 3. Energetski nivoi dozvoljenih vibracijskih stanja [5]

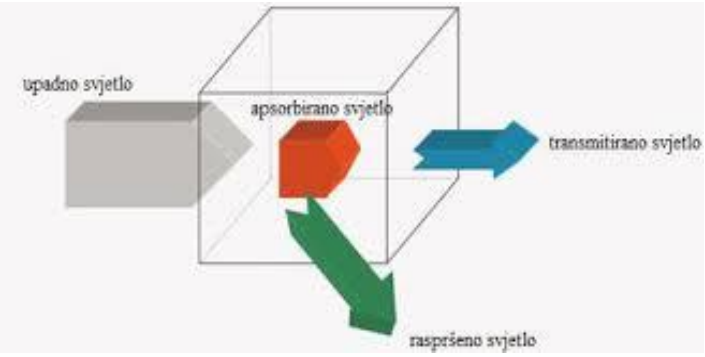
Veza u molekuli može vibrirati jedino na točno određenim energetskim razinama. Ako foton posjeduje točno određenu energiju koja odgovara energiji višeg nivoa vibracije (ΔE), veza u molekuli će apsorbirati određenu količinu energije i doći će do vibracijskog pobuđivanja. Energija fotona će privremeno biti pohranjena u obliku energije vibracije, sve dok se ne otpusti natrag u okolinu, najčešće u obliku topline [3].

Svaka vrsta spektroskopije koristi različiti dio elektromagnetskog spektra te time uključuje i drugačiju vrstu pobude:

1. NMR (engl. *Nuclear Magnetic Resonance*) – spektroskopija: područje radio – valova (10^7 – 10^9 nm) uzrokuje izvrtanje jezgre atoma pod utjecajem magnetskog polja elektromagnetskog zračenja.
2. IR (engl. *Infrared*) – spektroskopija: infracrveno područje (800 – 10^6 nm) uzrokuje pojačanu vibraciju veza u molekuli.
3. UV/VIS (engl. *Ultraviolet/visible*) – spektroskopija: područje bliskog ultraljubičastog i vidljivog dijela spektra (200 – 800 nm) uzrokuje pobuđivanje valentnih π-elektrona kao i neveznih elektrona te njihov prijelaz u više energetske nivoe.
4. CD – ORD (engl. *Circular dichroism – Optical rotatory dispersion*) – spektroskopija: najčešće područje bliskog ultraljubičastog i vidljivog dijela spektra; različita apsorpcija lijevozakrečućeg i desnozakrečućeg cirkularno polariziranog svjetla od strane kiralne molekule.
5. Spektrometrija masa: ne koristi elektromagnetsko zračenje kao izvor energije, već se molekula ionizira bombardiranjem elektronima visoke energije, te se ioni razdjeljuju i detektiraju.

2.3. Beer – Lambert-ov zakon

Svjetlosni snop koji pada na uzorak može biti raspršen, apsorbiran i transmitiran (Slika 4). Apsorpcijom svjetlosti, energija svjetla se apsorbira u volumenu uzorka. Transmitirana svjetlost prolazi kroz uzorak jednakim smjerom kao i upadno svjetlo. Raspršeno svjetlo ide u suprotnom smjeru od upadne svjetlosti [1].



Slika 4. Prikaz apsorpcije, transmisije i raspršenja upadnog snopa svjetlosti [6]

Beer – Lambertov zakon prikazuje odnos funkcije koja je mjerena apsorpcijskom metodom (A) i funkcije koja se mjeri, koncentracije (c). Međudjelovanjem čestica koje apsorbiraju i fotona dolazi do smanjenja snage snopa svjetlosti s P_o na P (5):

$$A = log\ (P_o/P) = \varepsilon\ x\ b\ x\ c \qquad (5)$$

gdje je:

A – apsorbancija zadane valne duljine svjetlosti

ε – molarni apsorpcijski koeficijent (L mol^{-1} cm^{-1}), karakterističan za svaku pojedinu molekulsku vrstu; ovisi o valnoj duljini svjetlosti

b – duljina puta svjetlosti kroz uzorak (cm)

c – koncentracija tvari u otopini (mol L^{-1})

P_o – intenzitet upadnog (početnog) zračenja

P – intenzitet propuštenog zračenja kroz uzorak

Beer – Lambertov zakon vrijedi samo za zračenje određene valne duljine, dakle monokromatsko zračenje [1].

Eksperimentalna ispitivanja se izvode mjerenjem transmitancije (T). Transmitancija je mjera količine neapsorbiranog zračenja. Predstavlja omjer intenziteta propuštenog zračenja kroz uzorak i intenziteta upadnog (početnog) zračenja (6):

$$T = P / P_{o.} \tag{6}$$

gdje je:

T - transmitancija

P_o – intenzitet upadnog (početnog) zračenja

P – intenzitet propuštenog zračenja kroz uzorak

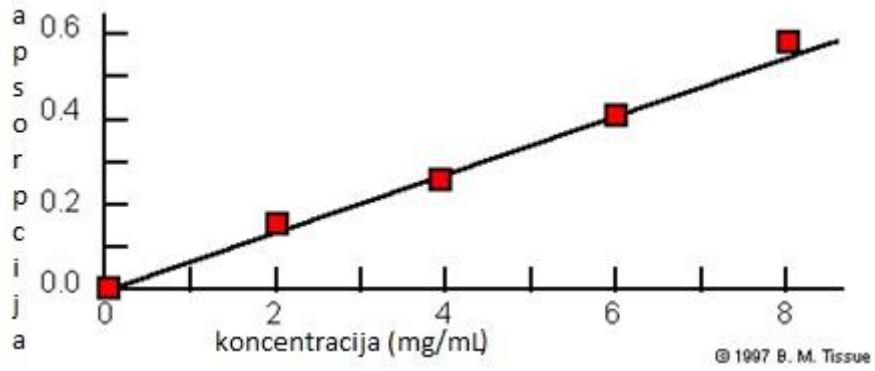
Mjerenje koncentracije analita ne ovisi o apsorpciji otapala ili refleksiji. Nepoznata koncentracija analita se izračunava iz Beer – Lambertovog zakona koristeći baždarnu krivulju. Baždarna krivulja se dobije tako da se pripremi niz otopina sastojka koji se određuje i koje su poznate koncentracije ($c_{1,}\ c_{2,\ldots..}c_n$). Izmjere se njihove apsorbancije ($A_{1,}\ A_{2,}\ A_{3\ldots.}A_n$) u odnosu na slijepu probu i potom se konstruira krivulja koja prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji analita (7) te se koncentracija nepoznatog uzorka odredi očitavanjem apsorbancije na krivulji pri maksimalnoj valnoj duljini.

$$A = f\,(c) \tag{7}$$

gdje je:

A – apsorbancija

c – koncentracija analita

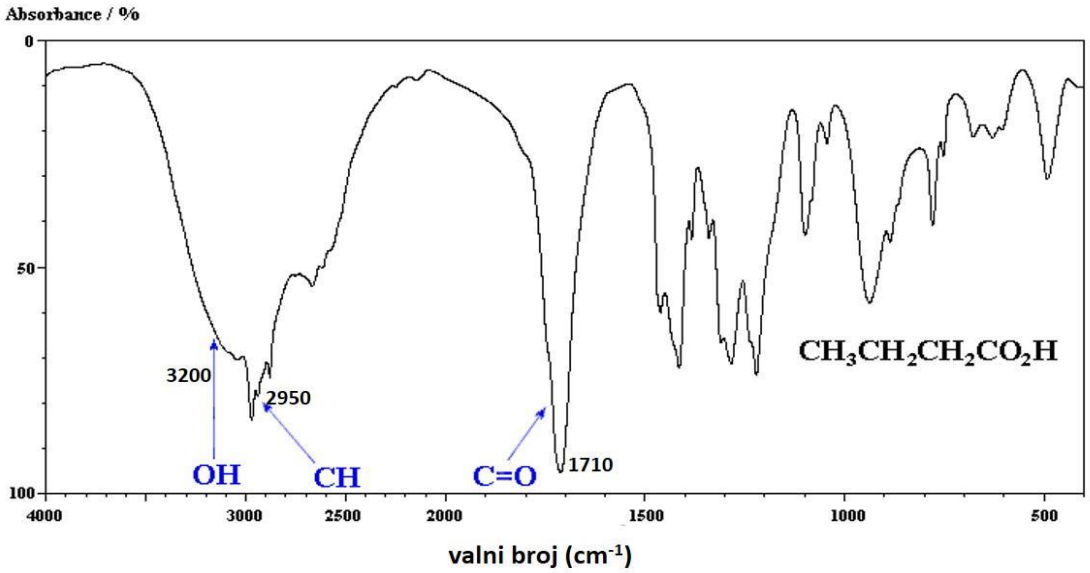


Slika 5. Baždarni pravac [7]

2.4. Najčešće korištene spektroskopske tehnike

IR (engl. *Infrared*) – spektroskopija se koristi za određivanje funkcijskih skupina u organskom spoju. IR analiza pripada molekulskoj apsorpcijskoj spektroskopiji.

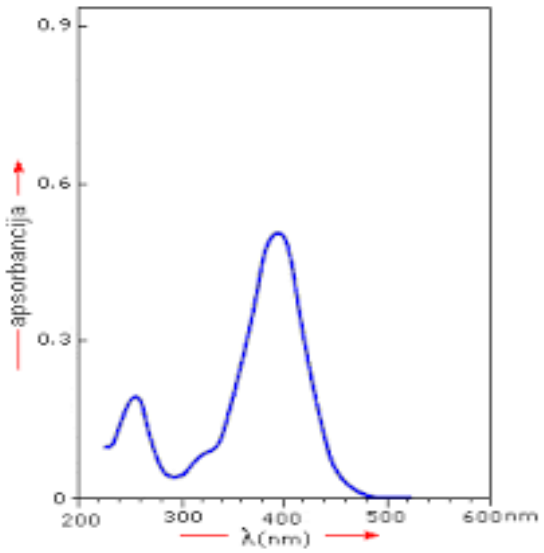
IR područje spektra označava područje u spektru koja korespondira frekvenciji točno ispod frekvencije vidljivog dijela spektra (crvena boja), odnosno iznad najviše frekvencije mikrovalova: $\lambda \sim 8x10^{-5}$ do $1x10^{-2}$ cm. IR – spektrometri djeluju u sredini IR područja: $\lambda = 2{,}5x10^{-4}$ do $25x10^{-4}$ cm. IR fotoni uzrokuju pojačanu vibraciju grupe atoma ovisno o prirodi njihovih međusobnih veza. Različite vibracije odgovaraju različitim energijama, pa tako molekule apsorbiraju IR zračenje pri točno određenim valnim duljinama, odnosno frekvencijama.



Slika 6. IR-spektar butanske kiseline [8]

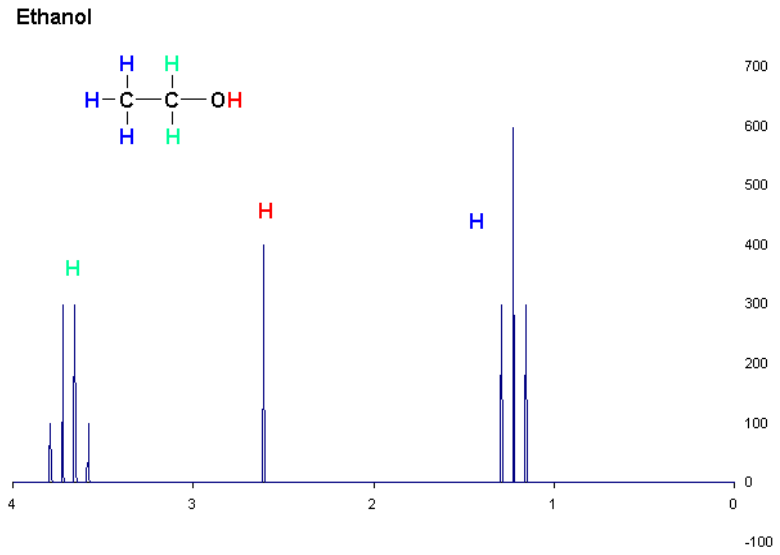
UV/VIS (engl. *Ultraviolet/visible*) – spektroskopija daje informaciju o prisutnome π-konjugiranom elektronskom sustavu molekule. UV/VIS spektrometri djeluju unutar područja λ 200 – 800 nm. Energija apsorbiranog UV/VIS zračenja dovodi do prijelaza valentnih elektrona u više prazne energetske orbitale u molekuli. No taj prijelaz nije omogućen svim tipovima elektrona. Razlikujemo 3 tipa elektrona koji zahtijevaju različitu količinu energije za prijelaz u više energetske nivoe: σ, π i n- elektroni. σ-elektroni su sastavni dio zasićenih σ-veza, potrebna im je puno viša energija za pobuđivanje nego što iznosi energija UV-zračenja i zato spojevi koji imaju zasićene veze ne apsorbiraju UV zračenje. π-elektroni se nalaze u nezasićenim π-vezama ugljikovodika, te su primjerice prisutni u aromatskim spojevima te trienima i dienima. n-elektroni nisu vezni elektroni, dakle nisu uključeni u veze između atoma, nalaze se u spojevima koji sadrže atome s neveznim elektronskim parovima kao što su kisik, dušik ili halogen.

UV/VIS spektroskopija je metoda u kojoj uzorak ostaje sačuvan. Moguće je izvođenje mjerenja pri vrlo niskim koncentracijama analita. Koristi se i za mjerenje brzina reakcije (ako jedan od reaktanata ili produkata apsorbira UV/VIS zračenje).



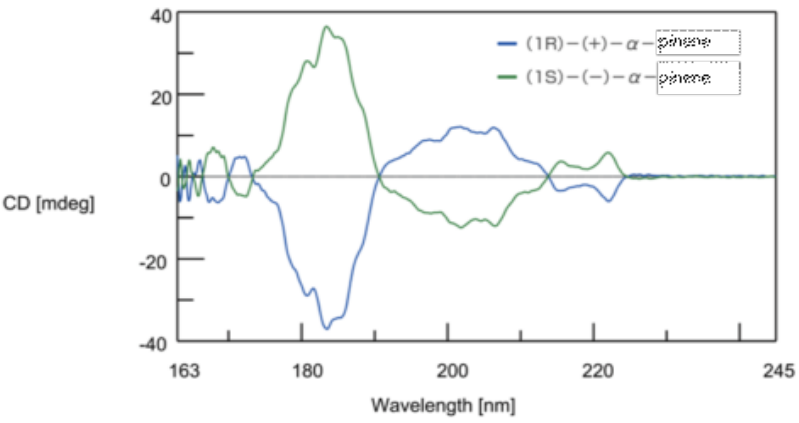
Slika 7. UV/ VIS spektar [9]

NMR (engl. *Nuclear Magnetic Resonance*) spektroskopija se koristi za određivanje strukture spojeva jer daje specifično uređenje svih ugljikovih i vodikovih atoma u molekuli. Pomoću NMR se mjere promjene magnetskog momenta jezgre u vanjskom magnetnom polju. NMR analiza je izvediva s vrlo malim količinama uzorka koji se pri tome ne oštećuju, a slična je IR spektroskopiji. Zasniva se na interakciji magnetskog momenta jezgre koja ima nespareni spin s vanjskim magnetskim poljem (temelji se na apsorpciji i emisiji elektromagnetskog zračenja pod utjecajem magnetskog polja).



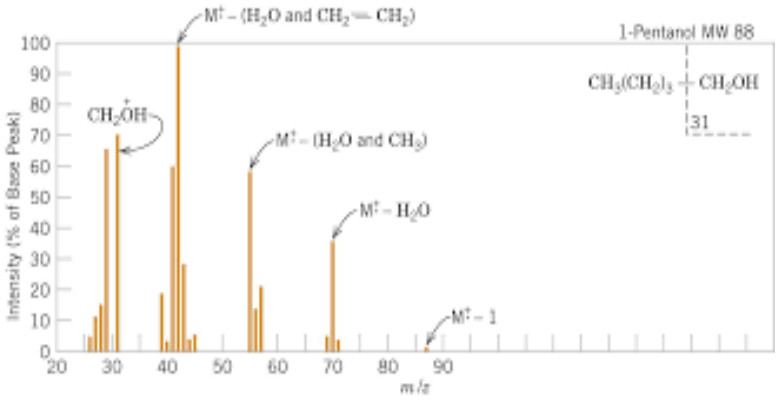
Slika 8. ^{1}H-NMR spektar etanola [10]

CD-ORD (engl. *Circular dichroism – Optical rotatory dispersion*) spektroskopija se primjenjuje za identifikaciju kiralnih spojeva i njihove konfiguracije te se koristi za pretpostavljanje sekundarne strukture bioloških molekula (peptida, proteina, nukleinskih kiselina i sl.).



Slika 9. Primjer CD-ORD spektra [11]

Spektroskopija masa se primjenjuje za određivanje molekulske mase i molekulske formule spoja i daje zaključak o kojoj strukturi i funkcijskim skupinama se radi. To je tehnika koja ne koristi elektromagnetsko zračenje.



Slika 10. Primjer masenog spektra [12]

2.5. Primjena spektroskopije

2.5.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija

Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) je kvantitativna metoda koja se primjenjuje za mjerenje koncentracije metala u otopinama. Atomska apsorpcijska spektroskopija se uglavnom koristi za mjerenje samo jednog elementa. Primjena ove metode je važna pri provjeri prisutnosti nekih štetnih tvari u, primjerice, lijekovima. Iako se koncentracije metala u otopinama mogu odrediti i drugim metodama, atomska apsorpcijska spektroskopija je zbog svoje jednostavnosti i niske cijene analize jedna od najčešće primjenjivanih metoda [13].

Kod atomske apsorpcijske spektroskopije elektromagnetsko zračenje putuje od izvora zračenja prema selektoru valnih duljina gdje se odabire željena valna duljina. Nakon odabira željene valne duljine, zračenje zatim prolazi kroz uzorak. Propušteno zračenje se mjeri pomoću detektora, a dobivene vrijednosti se očitaju na procesoru signala.

Otopina u kojoj se priprema baždarni standard bi trebala imati sastav sličan sastavu otopine ispitivanog uzorka. Slijepa proba mora imati najviši stupanj čistoće. Instrument je potrebno kalibrirati, dakle signal uzorka nepoznatih vrijednosti se uspoređuje sa signalom uzorka poznatih vrijednosti, tj. standardnom otopinom. Nakon što se izmjeri apsorbancija uzoraka, iz jednadžbe kalibracijskog pravca se izračuna koncentracija uzorka.

Kod pripreme većine uzoraka za analizu pomoću ove metode potrebno je dodati reagens ili primijeniti dovoljnu količinu energije koja bi uzrokovala kidanje veza ili raspad kristalne strukture krutih tvari. Dok je kod nekih uzoraka dovoljno samo razrjeđenje prikladnom otopinom, te djelomično ili potpuno otapanje uzorka.

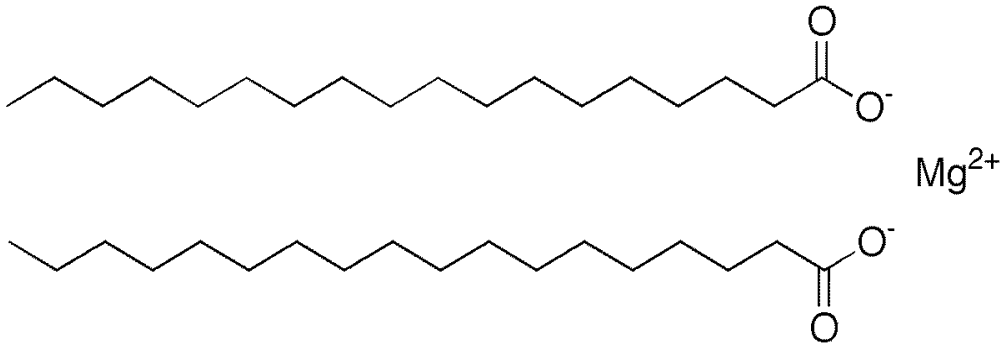
2.5.1.1. Određivanje magnezijeva stearata u farmaceutskim proizvodima

Primjenom atomske apsorpcijske spektroskopije, Sugisawa i suradnici su ispitali ravnomjernost raspodjele magnezijeva stearata u lijekovima [14]. Korišteno je 6 tableta s grubom površinom i 10 tableta s glatkom površinom koje su pojedinačno analizirane. U navedenim formulacijama, udio magnezijeva stearata u tabletama je iznosio od 0,22 do 0,8 %.

Dodatkom razrijeđene nitratne kiseline, uzorci su stavljeni u ultrazvučnu kupelj s tresilicom 15-20 minuta. Nakon što su se uzorci ohladili, centrifugirani su pri 3000 okretaja u minuti oko 10 minuta. Supernatant je analiziran plamenom atomskom apsorpcijom pri valnoj duljini od 285,21 nm.

Plamena tehnika se upotrebljava kako bi se iz tekućeg uzorka dobili atomi koji mogu apsorbirati svjetlost. U atomskoj apsorpciji dolazi do atomizacije, prevođenja uzorka u plinovite atome ili ione. Izvor zračenja emitira spektar, zračenje prolazi kroz uzorak koji apsorbira dio zračenja. Količina apsorbiranog zračenja je proporcionalna koncentraciji elementa u plamenu. Primjenom plamene atomizacije, otopina uzorka se prevodi u aerosol pomoću raspršivača te uvodi u plamen, gdje se atomizira visokom temperaturom plamena.

Atomskom apsorpcijskom spektroskopijom je dobivena niska vrijednost limita određivanja (engl. *Limit of Quantitation,* LOQ) koja je iznosila 4,5 %. Za radno područje je dobivena izvanredna linearnost metode ($r \geq 0{,}999$). Standardno odstupanje je pokazivalo niske vrijednosti (0,1 – 0,7 %) što pokazuje da je ta metoda vrlo precizna. Za vrlo niske koncentracije magnezijevog stearata nije dobivena zadovoljavajuća točnost, odstupanje je bilo 10 % u odnosu na vrijednost u lijekovima, ali se može zaključiti kako je metoda primjereno točna.



Slika 11. Magnezijev stearat [15]



Slika 12. Uređaj za mjerenje atomskom apsorpcijskom spektroskopijom [16]

Prednost navedene metode je što u 40 minuta može biti analizirano i do 10 uzoraka bez da dođe do usporavanja proizvodnje. Nedostatak metode, u konkretnom primjeru, je taj što nije primjenjiva za lijekove koji imaju različite oblike magnezijevih spojeva.

2.5.1.2. Određivanje koncentracije kadmija (Cd) i olova (Pb) u često korištenim dječjim sirupima u Nigeriji

Atomska apsorpcijska spektroskopija se primjenjuje i za određivanje razine kadmija i olova u često korištenim dječjim sirupima u Nigeriji. Orisakwe i suradnici su htjeli ispitati pomoću atomske apsorpcijske spektroskopije predstavlja li razina teških metala u dječjim sirupima zdravstveni rizik [17].

Pedeset uzoraka dječjih sirupa koji su prisutni na Nigerijskom tržištu su podijeljeni u dvije skupine: uvezeni proizvodi i lokalno proizvedeni. Svaki uzorak se 45 minuta grijao na ploči u Erlenmeyerovoj tikvici pri 200 °C, a zatim u mufolnoj peći pri 500 °C dok volumen nije

došao do suhog uzorka. Dodano je 20 mL deionizirane vode, promiješano te filtrirano. Kadmij i olovo su određeni atomskom apsorpcijskom spektroskopijom. Limit detekcije za olovo je iznosio 0,01 ppm, a za kadmij 0,001. U dječjim sirupima proizvedenim u Nigeriji koncentracije olova su se kretale od 0,01 u klorokinu do 1,08 mg L^{-1} u *Magcidu* (suspenzija magnezijeva sulfata). U *Magcidu* je pronađeno oko 2,45 mg L^{-1} kadmija, što je ujedno i najviša razina. Najniže razine su pronađene u *Emzolynu* (difenhidramin) i *Colipanu* (hioscin-N-butilbromid). Kadmij je detektiran kod svih sirupa, dok je oko 41,2 % sirupa proizvedenih u Nigeriji sadržavalo razine olova ispod granice detekcije. Razine olova u uvezenim proizvodima su se kretale od 0,01 mg L^{-1} u *Cadiphenu* (klorfeniramin, gvaifenezin), koji je proizveden u Indiji, do 0,09 mg L^{-1} u *Maxiquinu* (kinin, rezorcinol) koji je proizveden u Engleskoj. U *Chloramphenicolu* je pronađeno oko 0,60 mg L^{-1} kadmija, a u *Zentel albendazoleu* 0,88 mg L^{-1}. Najnižu razinu kadmija je imao *Bellis Cough Syrup* (sirup tratinčice). Oko 68,8 % uvezenih proizvoda je sadržavalo razinu olova ispod granice detekcije.

Uvezeni sirupi su imali manje razine kadmija i olova nego sirupi koji su proizvedeni u Nigeriji. Primjenom nekih sirupa proizvedenih u Nigeriji moguće je djecu izložiti teškim metalima.

2.5.1.3. Određivanje koncentracije teških metala u kupusu (Brassica oleracea L.)

Atomska apsorpcijska spektroskopija se, također, primjenjuje za određivanje koncentracije teških metala u kupusu. Kao uzorci korišteni su bijeli kupus (*Brassica oleraccea L. var. Capitata f. alba*), crveni kupus (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*) i kelj (*Brassica oleracea L. var. sabauda*). Nakon što su uzorci osušeni i usitnjeni u tarioniku, žareni su dok nisu postali pepeo svijetlosive boje. Nakon hlađenja, pepeo je preliven s 5 mL 20 % klorovodične kiseline (HCl). Dodatkom destilirane vode u odmjerne tikvice dobiju se otopine koje se prije ispitivanja uzoraka prebacuju u kivete.

Atomskom apsorpcijskom spektroskopijom je očitana najveća koncentracija kadmija u uzorku kelja (0,19 mg kg^{-1}). Najveća dopuštena količina kadmija u lisnatom povrću iznosi 0,20 mg kg^{-1}. Crveni kupus sadrži najnižu koncentraciju kadmija (0,095 mg kg^{-1}). Sljedeći ispitivani element je krom. Najveća koncentracija kroma je očitana u uzorku bijelog kupusa (1,075 mg kg^{-1}). Normalna koncentracija kroma u biljkama iznosi od 0,002 do 1 mg kg^{-1}. Budući da su

izmjerene vrijednosti toksičnih metala, kroma i kadmija, povišene, ali i dalje su prihvatljivih vrijednosti. Dakle, ne bi trebali imati štetne posljedice niti na biljke, niti na čovjeka [18].

2.5.2. Atomska fluorescentna spektroskopija

Atomska fluorescentna spektroskopija je metoda koja se temelji na emisiji zračenja ultraljubičastog i vidljivog dijela spektra. Atomi se pobuđuju vanjskim izvorom kao što su plamen ili laser te prelaze na višu energijsku razinu. Povratak u osnovno stanje može ići preko nekoliko međustanja. Kod uređaja koji se koriste za ovu metodu postoje dva selektora valnih duljina, jedan je za odabir ekscitacijske, a drugi za odabir emisijske valne duljine. Odabrana valna duljina elektromagnetskog zračenja prolazi kroz uzorak te se mjeri emitirano zračenje, obično pod pravim kutom kako bi se izbjegla detekcija zračenja izvora i smanjilo raspršenje.

Za razliku od apsorpcijske spektroskopije, fluorescentna spektroskopija je znatno osjetljivija jer joj se osjetljivost može povećati pojačanjem signala detektora. Moguće je analizirati i određivati anorganske, organske i biokemijske vrste. Kod izravnih metoda uzorak reagira s kelatnim reagensom te nastaje kompleks sa svojstvom fluorescencije. Neizravne metode ovise o smanjenju fluorescencijskog intenziteta reakcijom između reagensa i uzorka.

2.5.2.1. Određivanje selenija (Se) u biološkim uzorcima

Yuanyuan Ma i suradnici su metodu atomske fluorescentne spektroskopije primjenjivali za brzo i čisto određivanje selenija (Se) u biološkim uzorcima [19].

Izvagani uzorak od 0,1 g je prebačen na kvarcnu tkaninu, koja se zatim presavije te platinskom žicom pričvrsti za kvarcni štapić koji je spojen s čepom tikvice u koju se doda kap glicerola. Prije toga, tikvica od 500 mL je napunjena kisikom te se doda 10 mL 10 % klorovodične kiseline (HCl) koja služi kao apsorbens. Uzorak se zapali i odmah stavi u tikvicu te pričeka nekoliko sekundi dok izgaranje nije potpuno završeno. Sadržaj tikvice se miješa 2 minute te ostavi stajati oko pola sata kako bi se osigurala potpuna apsorpcija hlapljivog produkta izgaranja. Apsorpcijska otopina se prebaci u odmjernu tikivicu od 25 mL

s 10 % klorovodične kiseline te se tako izravno analizira ukupni selenij pomoću atomske fluorescentne spektroskopije.

Na osjetljivost i stabilnost signala za određivanje selenija pomoću atomske fluorescentne spektroskopije utjecala je koncentracija otopine natrijeva borhidrida ($NaBH_4$) te koncentracija klorovodične kiseline. Prvo je uočeno da se intenzitet fluorescencije povećavao, a zatim smanjivao povećanjem koncentracije natrijeva borhidrida. Koncentracija koja je > 5 % bi dovela do nestabilnih fluorescentnih signala dok bi one < 2 % rezultirale slabijom osjetljivošću. Kao optimalno sredstvo je odabrana 2 % otopina natrijeva borhidrida u 0,5 % natrijeva hidroksida (NaOH). Održavajući koncentraciju natrijeva borhidrida nepromijenjenom, intenzitet fluorescencije se povećavao porastom koncentracije klorovodične kiseline (10 %), a zatim se održavao konstantnim. Visoka koncentracija takve otopine dovodi do viših praznih vrijednosti te do veće potrošnje reagensa.

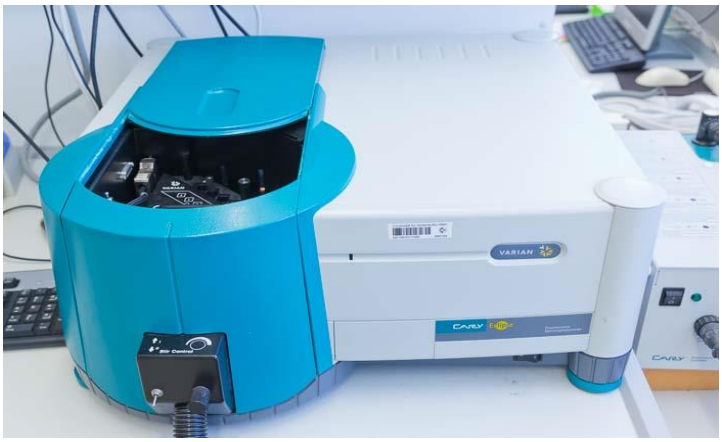
2.5.2.2. Primjena u mljekarstvu

Uzorci koji se analiziraju atomskom fluorescentnom spektroskopijom se dijele na uzorke s primjesama i one bez primjesa. Uzorci bez primjesa u proteinima su aromatske aminokiseline (fenilalanin, tirozin i triptofan), vitamini (A, B_2), piridoksal i ostali spojevi koji se u hrani nalaze u niskim koncentracijama. U svojoj strukturi barem po jednu molekulu triptofana sadrži šest glavnih proteina mlijeka (α-laktalbumin, β-laktoglobulin, αs1-, αs2-, β-, κ-kazein). Fluorescencija triptofana omogućuje praćenje promjena u strukturi proteina. Budući da neki uzorci ne fluoresciraju, dodatkom primjesa koji imaju svojstvo fluorescencije se omogućava određivanje uzoraka atomskom fluorescentnom spektroskopijom. Ovom metodom se utvrđuju razlike između homogeniziranog i sirovog, toplinski obrađenog mlijeka. Važna primjena atomske fluorescentne spektroskopije je u određivanju bakterija u sirovom mlijeku. Uzorak mlijeka se filtrira te se dodaju specifični reagensi poput boje, enzima i pufera kojim će se izdvojiti svi sastojci osim bakterija. Nakon što se uzorak obasja laserskom zrakom dolazi do fluorescencije deoksiribonukleinske kiseline (DNK) obojenih bakterijskih stanica, a detektor pri tome očita fluorescentni svjetlosni impuls. U jednom satu je moguće analizirati 150 uzoraka budući da je obrada i analiza automatizirana [20].

2.5.2.3. Određivanje selenija (Se) u povrću

Koncentracija selenija u povrću se određivala atomskom fluorescentnom spektroskopijom. Od uzoraka su korišteni krumpir, mrkva, luk, peršin, salata. Izvagano je 0,150 – 0,200 g svakog od uzoraka. Uzorku se doda 0,5 mL sumporne kiseline (H_2SO_4) i 1,5 mL dušične kiseline (HNO_3) te se zagrijava 60 minuta na 130 °C. Nakon što se otopina ohladila, doda se 2 mililitra vodikova peroksida (H_2O_2) te se zagrijava 10 minuta na 115 °C, zatim se doda 0,1 mL 40 % fluorovodične kiseline (HF) te zagrijava 10 minuta na 115 °C. Na kraju se doda još 2 mililitra vodikova peroksida te zagrijava. Nakon što se otopina ohladi na sobnu temperaturu dodaje se vanadij (V) oksid (V_2O_5) dok otopina ne postane plava. Određivanjem koncentracije selenija u povrću pomoću fluorimetra, dobivena je niska koncentracija. Niska razina selenija u prehrambenom lancu se odražava na nisku razinu selenija u ljudskom organizmu [21].

U fluorimetru se prvo propušta zračenje koje uzrokuje fluorescenciju kroz primarni monokromator. Intenzitet emitiranog zračenja se mjeri pod pravim kutom u odnosu na upadno zračenje i razmjeran je koncentraciji analita. Emitirano zračenje prolazi kroz drugi monokromator i dolazi do detektora gdje se očitava signal [3].



Slika 13. Fluorimetar [22]

2.5.3. Rendgenska fluorescentna spektroskopija

Rendgenska fluorescentna spektroskopija se primjenjuje za određivanje glavnih ili sporednih elementnih sastojaka metalurških ili geoloških uzoraka. Rendgenska fluorescentna spektroskopija je metoda emisije fluorescentnih rendgenskih zraka koje su rezultat pobuđivanja atoma određenog uzorka rendgenskim zrakama. Ta metoda se u kemijskim i mineraloškim istraživanjima koristi još od početka 20. stoljeća. Najpopularnija je metoda za određivanje kvantitativnog i kvalitativnog sastava elemenata.

2.5.3.1. Određivanje željeznih meteorita

Analizirana su tri uzorka za koje se sumnjalo da su meteoriti pomoću rendgenske fluorescentne spektroskopije kako bi se otkrila njihova struktura i sam sastav. Rezultati su uspoređeni s dosadašnjim meteoritskim nalazima kako bi uzorci bili identificirani. Analizom se utvrđuje njihov elementarni i mineraloški sastav. Tijekom analize, uzorci su usitnjeni u tarioniku kako bi se dobio prah. Kao referentni meteoriti korišteni su Campo del Cielo i Muonionalustra. Prvi meteorit označava grupu meteorita koji su pronađeni u Argentini. Pripadaju IAB željeznim meteoritima. IAB je naziv za grupu meteorita koji se posve sastoje od nikal – željeza (Ni - Fe), poneki sadrže silikate (SiO_4) i troilite (FeS) koji su usko povezani sa skupinom primitivnih ahondrita. Drugi meteorit skupine IVA pronađen je u blizini granice Švedske i Finske. IVA je naziv za grupu meteorita koji pokazuje uzorak elemenata u tragovima iznimno niskih vrijednosti germanija (Ge) i galija (Ga) [23].

U prvom uzorku je prevladavao krom te odmah za njim i željezo (10 %). Preostali elementi kao što su mangan, kobalt, nikal, bakar, arsen, selen, stroncij, srebro, kadmij, antimon i olovo su pronađeni u tragovima. U drugom uzorku je slična elementarna kompozicija, osim što je umjesto kroma prevladavao mangan (88 %) te željezo (12 %). Treći uzorak ima gotovo jednaku elementarnu kompoziciju kao drugi uzorak osim što postotak mangana iznosi 84 %, a postotak željeza 16 %. Koncentracija nikla nije prelazila 0,1 %. Uz rendgensku fluorescentnu spektroskopiju koristila se i rendgenska difrakcija, metoda čiji je primarni cilj fazno identificiranje materijala kako bi mogla dati informacije o strukturi i dimenzijama jedinične

ćelije. Rezultati dobiveni rendgenskom difrakcijom nisu ukazivali na prisutnost mineralnih faza karakterističnih za meteorite.

Rezultati su pokazali da niti jedan od uzoraka nema elementarni sastav kakav imaju željezni meteoriti koji se ponajviše sastoje od nikla i željeza.



Slika 14. Prikaz meteorita iz grupe Campo del Cielo [24]



Slika 15. Prikaz meteorita Muonionalustra [25]

2.5.3.2. Analiza boje umjetničkih djela

Analiza boje umjetničkih djela rendgenskom fluorescentnom spektroskopijom se temelji na tome da slike apsorbiraju rendgensko zračenje. Te slike sadrže bazu, pripravni sloj, sloj boje, zaštitni sloj te pigmente. Kvantitativno se može odrediti kemijski sastav.

Analizirana je slika sv. Nikole koja se nalazi u jednoj romaničkoj crkvi nedaleko od Beča. Na slici se nalazi jabuka koja je bila crvene boje, ali je s vremenom pocrnjela. Jabuka je pocrnjela zbog velikog udjela olova. Povećanjem koncentracije olova smanjuje se koncentracija kalcija i željeza. Navedeni pigmenti su se koristili za nastajanje zidnih slika u srednjem vijeku. Olovo reagira sa sumporovodikom i pigmentima koji sadrže sumpor pri čemu nastaje crno-smeđi olovni sulfid. Dakle, područja koja imaju više olova brže pocrne od onih područja u kojima se nalazi manje olova što je dokazano rendgenskom fluorescentnom spektroskopijom [26].

2.5.3.3. Analiza legura

Pri analizi legura rendgenskom fluorescentnom spektroskopijom korišteno je 28 legura. Uzorci su pobuđeni rendgenskom cijevi s molibdenskom anodom. Anodni napon od 38 kV uzrokuje pobuđivanje elemenata K-linije, s rednim brojem do 51 (Sb) te težih elemenata L-linije (Au, Pb). Detektor je tipa Si (Li), poluvodički. Analizu dobivenog spektra omogućuje sistem analizatora i pojačala koji se sastoji od određivanja intenziteta pojedinih vrhova spektra te njihove identifikacije.

Kod 22 uzorka, od ukupno 28, glavni sastojak je bakar. Koncentracije bakra se kreću od 43,3 % do 97,6 %. Olovo (0,1 – 36,6 %), kositar (0,8 – 24,9 %) i željezo (0,1 – 3,4 %) su pronađeni u svim uzorcima, osim u jednom. U tri uzorka su pronađeni još antimon (0,6 – 3,3 %), srebro (0,4 – 1,8 %) i arsen (0,2 – 3,8 %).

Dakle, analizom 28 legura pokazano je da se sastoje od devet elemenata (Cd, Ag, Sb, As, Fe, Pb, Zn, Sn, Cu). Uzorci se mogu razlikovati ovisno o koncentracijama osnovnih elemenata ili ovisno o prisutnosti slabije zastupljenih elemenata. Prilikom analize nije potrebno ukloniti površinski sloj jer je sastav površine približno jednak sastavu legure [27].



Slika 16. Uređaj za mjerenje rendgenskom fluorescentnom spektroskopijom [28]

2.5.4. Optička emisijska spektroskopija s induktivno spregnutom plazmom

Optička emisijska spektroskopija s induktivno spregnutom plazmom je jedna od najvažnijih tehnika instrumentalne analize elemenata. Primjenjuje se u forenzičkoj analizi, analizi hrane i pića te uzoraka tla i vode.

Optička emisijska spektroskopija s induktivno spregnutom plazmom pripada atomskoj emisijskoj spektroskopiji. Temelji se na otkrivanju emitiranih valnih duljina koje su karakteristične za različite elemente. Plazma je vodljiva, neutralna plinska smjesa jer sadrži jednak i velik broj kationa i aniona. Temperatura plazme iznosi od 6 000 do 10 000 K [29].

Plin koji se najčešće koristi je argon (Ar). Ioni argona i elektroni su glavne vodljive čestice. U malim količinama su prisutni i kationi iz uzorka. Ioni argona mogu apsorbirati dovoljno snage iz vanjskog izvora za održavanje temperature na razini na kojoj ionizacija beskonačno održava plazmu. Tu se postižu temperature do 10 000 K [29].

Metodom optičke emisijske spektroskopije s induktivno spregnutom plazmom za raspoznavanje elemenata se koriste valne duljine svjetlosti, dok se intenzitet svjetlosti upotrebljava za određivanje koncentracije.



Slika 17. Uređaj za analizu elemenata u tragovima optičkom emisijskom spektroskopijom s induktivno spregnutom plazmom [30]

2.5.4.1. Određivanje prisutnosti metala u prirodnim vodama

Pomoću optičke emisijske spektroskopije s induktivno spregnutom plazmom je moguće odrediti prisutnost metala u prirodnim vodama [31]. Prisutnost iona metala u prirodnim vodama s niskom koncentracijom je još uvijek jedan od najvažnijih zadataka u praćenju okoliša.

Standardne matične otopine Pb (II), Cu (II), Zn (II), Fe (III), Al (III), Ni (II) su pripremljene otapanjem odgovarajućih soli u dušičnoj kiselini (HNO_3, 1 mol L^{-1}) i dalje razrjeđivanje u dvostruko deioniziranoj vodi. Silika gel Silokhrom S – 120 je korišten kao matrica za pripravu adsorbenata.

Adsorbensi se mogu koristiti za prekoncentraciju metala u analizi prirodnih voda s niskim koncentracijama određenih iona metala. Učinkovitost kompleksiranja adsorbensa u analizi voda pomoću optičke emisijske spektroskopije s induktivno spregnutom plazmom ovisi i o kvantitativnoj adsorpciji metala iz razrijeđene otopine te o potpunoj desorpciji adsorbiranih metala u najmanjem mogućem volumenu. Desorpcija metala je proučavana upotrebom 10 mL klorovodične kiseline i dušične kiseline u koncentraciji koja je varirala od 0,1 do 6 M. Pokazano je da stupanj desorpcije Pb (II), Cu (II), Zn (II), Fe (III), Al (III) i Ni (II) u statičkim uvjetima ne ovisi o vrsti kiseline. U dinamičkim uvjetima, rezultati su pokazali da je kvantitativna desorpcija Pb (II), Cu (II), Zn (II), Fe (III), Al (III) i Ni (II) postignuta

propuštanjem 5 mL 1 M dušične kiseline brzinom 1 mL min^{-1}. Niska koncentracija nije utjecala na određivanje metala pomoću optičke emisijske spektroskopije s induktivno spregnutom plazmom.

Razvijena metoda je primijenjena za određivanje Pb (II), Cu (II), Zn (II), Fe (III), Al (III) i Ni (II) u prirodnim vodama optičkom emisijskom spektroskopijom s induktivno spregnutom plazmom.

2.5.4.2. Analiza biomase iz biljke Miscanthus giganteus

Optičkom emisijskom spektroskopijom s induktivno spregnutom plazmom su određeni makro- i mikroelementi koji se nalaze u razgrađenom uzorku biomase. Analiza je provedena na tri uzorka biomase koja je razgrađena mikrovalnom digestijom. Do razgradnje je došlo direktnim prijenosom topline na uzorak. Važno je optimizirati eksperimentalne parametre kao što su snaga, vrijeme, izbor reagensa i temperatura. Kao reagensi su korišteni dušična kiselina (HNO_3, 65 %) i vodikov peroksid (H_2O_2, 30 %). Ostali uvjeti na instrumentu su podešeni tako da je vrijeme iznosilo 15 minuta, temperatura u unutarnjem dijelu instrumenta je bila 200 °C, u vanjskom dijelu 120 °C, a snaga je iznosila 900 W. Analizirani makroelementi su: Ti, Na, Si, K, P, Mg, Fe, Ca i Al. Analizirani mikroelementi su: Zn, V, Sb, Pb, Ni, Mo, Mn, Hg, Cu, Cr, Co, Cd i As.

Analizom je uočeno da su od makroelemenata najviše zastupljeni redom: K, Ca, Mg, P, Si, Na, Fe, Al i T. Visoke koncentracije ukazuju na kontaminaciju goriva s pijeskom ili zemljom. Od mikroelemenata redom su zastupljeni: Mn, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, Mo i Hg. Prisutnost mikroelemenata u biomasi može predstavljati problem za okoliš jer je u onečišćenim područjima pronađena velika koncentracija kadmija i drugih toksičnih elemenata koji se nalaze u biomasama [32].

2.5.4.3. Određivanje koncentracije bora (B) u nodularnom lijevu

Optičkom emisijskom spektroskopijom s induktivno spregnutom plazmom se određuje koncentracija bora u nodularnom lijevu. Nodularni lijev je vrsta lijevanog željeza s kugličastim grafitom koji se primjenjuje u gradnji različitih komponenti.

Analizirano je devet uzoraka nodularnog lijeva. Uzorci su prevedeni u vodene otopine jer ova metoda zahtijeva raščinjavanje uzorka. Uzorci su prvo usitnjeni (1 g) te preneseni u kvarcnu tikvicu (100 mL). U kvarcnu tikvicu se dodaje klorovodična kiselina (HCl, 10 mL), dušična kiselina (HNO_3, 5 mL), fosforna kiselina (H_3PO_4, 10 mL) i sumporna kiselina (H_2SO_4, 5 mL). Nakon otapanja slijedi uparavanje do nastanka para SO_3 te se doda još klorovodične kiseline (5 mL). Pripremljeni uzorci su razrijeđeni deioniziranom vodom do 100 mL. Koncentracija bora u svih devet uzoraka se povećavala. Najmanja koncentracija je iznosila 0,0042 kg m^{-3}, a najveća koncentracija je iznosila 0,075 kg m^{-3}. Dobivene vrijednosti se podudaraju s očekivanim vrijednostima koncentracije bora u nodularnom lijevu koje iznose 0,005 kg m^{-3} i 0,075 kg m^{-3}. Ova metoda je pokazana kao uspješna pri određivanju koncentracije bora u metalurškim uzorcima jer je pogodna za niske koncentracije elemenata [33].

Optička emisijska spektroskopija s induktivno spregnutom plazmom je prikladna za pronalaženje elemenata u tragovima. Metoda je širokog opsega (do 6 redova veličina, od μg L^{-1} do g L^{-1}), prilagodljiva i brza. Još jedna od prednosti te metode je ta što su cijene instrumenata umjerene.

2.5.5. Plamena emisijska spektroskopija

Plamena emisijska spektroskopija se primjenjuje za određivanje alkalijskih i zemnoalkalijskih metala u otopini. Najvažnija primjena ove metode je mjerenje koncentracije kalcija, litija te kalija i natrija koji su prisutni u nekim tkivima i biološkim tekućinama. Navedene elemente je teško odrediti na bilo koji drugi način te je plamena emisijska spektroskopija najpogodnija metoda za njihovo određivanje. Metoda je prikladna zbog svoje brzine te nije osjetljiva na prisutnost ostalih elemenata koji se nalaze u uzorku, a ne sudjeluju u ispitivanju. Moguće je i kvalitativno dokazivanje jer svaki element emitira vlastiti karakteristični linijski spektar.

Plamena emisijska spektroskopija mjeri atome pobuđene plamenom (2000 – 3000 K), a ne energijom izvora zračenja kao što je slučaj kod atomske apsorpcijske spektroskopije. Nakon pobude atomi lako gube dobivenu energiju i vraćaju se u osnovno stanje te emitiraju energiju (zračenje) koje se mjeri. Intenzitet tog zračenja u funkciji je koncentracije elementa koji se mjeri [34].

2.5.5.1. Određivanje natrija (Na) i kalija (K) u oralnim rehidracijskim pripravcima

Plamena emisijska spektroskopija je primijenjena pri određivanju natrija (Na) i kalija (K) u oralnim rehidracijskim pripravcima [35].

Standardna otopina natrijevog klorida (NaCl) od 105 μg L^{-1} se razrijedi do koncentracija 10^4, $2x10^4$, $3x10^4$, $4x10^4$, $5x10^4$, $6x10^4$ i $7x10^4$ i 10^5 μg L^{-1}. Od svake koncentracije su uzeti alikvoti te je izmjeren intenzitet plamena. Standardna otopina kalijevog klorida (KCl) od, također, 105 μg L^{-1} se razrijedi do jednakih koncentracija kao i standardna otopina natrijevog klorida. Intenzitet plamena je izmjeren jednako kao i kod natrijevog klorida. Intenzitetom plamena od 6 različitih uzoraka oralnih rehidracijskih pripravaka je dobivena koncentracija kalija i natrija. Premda je sadržaj kalijevog klorida i natrijevog klorida u svih šest uzoraka bio jednak, jedan od uzoraka je sadržavao više natrija od ostalih. Taj isti uzorak, koji sadrži više natrija u odnosu na ostale, također sadrži i veću količinu kalija.

2.5.5.2. Određivanje litija (Li) u serumu

Preporučljivo je održavati razinu litija u serumu između 0,5 – 1, 0 mEq L^{-1}. Najčešće korištena metoda za određivanje razine litija je plamena emisijska spektroskopija. Određivanje litija navedenom metodom se provodi pri valnoj duljini od 670,8 nm.

Pri određivanju litija u serumu, serum se nije mogao razrijediti više od 10 puta te su proteini morali biti uklonjeni. Etanol (96 %) je korišten kao sredstvo za deproteinizaciju. Plamenom emisijskom spektroskopijom je dobivena razina litija u serumu od 0,3 – 1,8 mEq L^{-1}, što je potpuno jednako preporučljivoj razini litija. Nedostatak metode u ovom primjeru je taj što je potrebno uklanjanje proteina [36]. Litij se u serumu može odrediti i atomskom apsorpcijskom

spektroskopijom, ali je ova metoda prikladnija jer može točnije analizirati u niskom koncentracijskom području.

2.5.5.3. Određivanje bora (B) u borosilikatnom staklu

Plamenom emisijskom spektroskopijom se određuje postotak bora u borosilikatnom staklu. Analizirati se mogu stakla koja sadrže najmanje 1 % bora. Uzorak stakla (50 – 100 g) se stavi u plastičnu vrećicu, razbije čekićem i prenese u centrifugalni prsten gdje bude smrvljen u prah od kojeg se 10 – 20 g iskoristi za analizu. Dvostruki alikvoti od 0,25 g se izvažu u tikvice od 70 mL te se doda 2 – 3 mL vode i 3 mL fluorovodične kiseline (HF, 48 %). Uzorci stoje na sobnoj temperaturi dok se potpuno ne otope te se prenesu u tikvicu od 100 mL koja se napuni vodom do ukupnog volumena. Mjerenja se izvode u rasponu valnih duljina od 460 nm do 560 nm. Rezultati dobiveni mjerenjem su prikazani u Tablica 1 [37].

Tablica 1. *Prikaz dobivenih rezultata određivanja bora u borosilikatnom staklu*

Uzorak	Emisija plamena (% B)
1	4,03
2	4,10
3	4,01
4	3,92
5	4,04
6	3,98
7	3,95

Relativna standardna devijacija ove metode iznosi 5,1 %. Metoda je ponovljena na nekoliko uzoraka, te je potvrđena preciznost same metode što je vidljivo iz rezultata navedenih u Tablica 1.

Plamenoj emisijskoj spektroskopiji ne smeta prisutnost drugih elemenata u uzorku. Prednost te metode je ta što je vrlo lako snimiti cijele spektre. Još jedna prednost je analiza u niskom koncentracijskom području. Valne duljine su posebne za različite elemente i stoga je raspoznavanje pojedinih elemenata vrlo jednostavno. Plamena emisijska spektroskopija ima

prednost nad plamenom apsorpcijskom spektroskopijom jer se tom metodom ne mogu dobiti cjeloviti spektri budući da su primijenjeni izvori zračenja rastavljeni na dijelove.



Slika 18. Instrument za plamenu emisijsku spektroskopiju [38]

3. Zaključak

U ovom radu je navedeno nekoliko primjera primjene spektroskopije u analitičkoj kemiji, iako je ta primjena puno veća i šira. Spektroskopija ima široku primjenu u brojnim granama prirodnih znanosti, ali najšira primjena je upravo u analitičkoj kemiji. Primjena spektroskopije je uvelike olakšala određivanje kompletne strukture ispitivanog uzorka jer njome dobijemo informacije o građi i sastavu tvari, ali isto tako daje podatke o temperaturi i tlaku te može dati informacije o dinamici promatranog sustava. Osim što je spektroskopija olakšala određivanje strukture uzorka, primjenjuje se zbog bržeg dobivanja rezultata, ali i točnosti. Nije jednostavno odlučiti koja će se od spektroskopskih metoda primijeniti jer je danas nužno određivanje većeg broja parametra te provjera, odnosno potvrđivanje rezultata na sličnim instrumentima. Neke metode su točnije i posebno pogodne za vrlo niske koncentracije elemenata, neke su brže i jednostavnije za primjenu te ovisno o onome što je potrebno odrediti tako se odlučuje koja će se od spektroskopskih metoda primijeniti.

4. Literatura

[1] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, 1999.

[2] https://ldap.zvu.hr/~msusak/Elektromagnetsko%20zracenje_web.pdf (17.8.2020.)

[3] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, David Harris, Belmont, 2007.

[4] https://www.phy.uniri.hr/files/nastava/stranice_kolegija/fizicki_praktikum_IV_ECTS_6/8%20Spektroskopija.pdf (17.8.2020.)

[5] https://www.google.com/search?q=vibracijska+stanja&tbm=isch&hl=hr&chips=q:vibracijska+stanja,online_chips:vibracijska+spektroskopija&rlz=1C1CHBD_enHR849HR849&hl=hr&sa=X&ved=2ahUKEwiQz4-229rrAhULMuwKHZ5JC0MQ4lYoBHoECAEQGQ&biw=1349&bih=625 (17.8.2020.)

[6] https://repozitorij.kemija.unios.hr/islandora/object/kemos%3A260/datastream/PDF/view (18.8.2020.)

[7] https://www.chromedia3.org/chromedia?waxtrapp=fotjtbEsHiemBpdmBlIEcCAtB&subNav=qhorbbEsHiemBpdmBlIEcCAtBF (18.8.2020.)

[8] http://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch13/ch13-ir-4-fg.html (18.8.2020.)

[9] https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/Odredjivanje_struktura_organskih_spojeva_nastavni_tekst.pdf (8.9. 2020.)

[10] https://en.wikipedia.org/wiki/File:1H_NMR_Ethanol_Coupling_shown.GIF (8.9.2020.)

[11] https://www.jasco-global.com/principle/principles-of-cd-ord-4-applications-of-cd-and-ord-measurements/ (8.9.2020.)

[12] https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/IS_MS_spektrometrija_2013_2014.pdf (8.9.2020.)

[13] N. Lewen, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **55** (2011), 653 – 661.

[14] K. Sugisawa, T. Kaneko, T. Sago, T. Sato, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **49** (2009), 858 – 861.

[15] https://en.wikipedia.org/wiki/Magnesium_stearate (5.9.2020.)

[16]https://repozitorij.gfv.unizg.hr/islandora/object/gfv%3A217/datastream/PDF/view (11.9.2020.)

[17] O. E. Orisakwe, J. K. Nduka, Science of The Total Environment **407** (2009), 5993 – 5996.

[18] C. Radulescu, C. Stihi, I. V. Popescu, I. D. Dulama, E. D. Chelarescu, A. Chilian, Romanian Journal of Physics **58** (2013), 1337 – 1354.

[19] M. Yuanyuan, Z. Kun, D. Taicheng, Michrochemical Journal **148** (2019), 743 – 747.

[20] B. Matijević, M. Blažić, Časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka **58** (2008), 151 – 169.

[21] P. Smrkolj, V. Stibilj, Analytica Chimica Acta **512 (**2004), 11 – 17.

[22] http://www.ludwiglab.at/equipment/fluorimeter/ (5.9.2020.)

[23] M. Loubser, S. Verryn, South African Journal of Geology **111** (2008), 229 – 238.

[24] https://www.gotapura.com/808766/ARGENTINA-METEORITE-METEORITE-IRON/ (3.9.2020)

[25]http://www.arizonaskiesmeteorites.com/AZ_Skies_Links/Muonionalusta/index.html (3.9.2020.)

[26] L. Mašković, R. Samardžić, Journal of Criminalistic and Law **3** (2014), 103 – 115.

[27] V. F. Hanson, *Museum Objects in X-Ray Spectrometry,* Eds. H. K. Herglotz and L. S. Birks, Marcel Dekker Inc., New York, 1978, 413 – 481.

[28]https://www.indiamart.com/proddetail/x-ray-spectrometer-19171931833.html (11.9.2020.)

[29] S. Rončević, *Instrumentalna analitika 1 (skripta)*, Kemijski odsjek, PMF, Zagreb, 2014.

[30]https://www.msesupplies.com/products/icp-oes-testing-service-icp-oes-analysis?variant=23496611332154 (3.9.2020)

[31] S. L. Didukh-Shadrina, V. L. Losev, A. Samoilo, A. K. Trofimchuk, P. A. Nesterenko, International Journal of Analytical Chemistry **3** (2019), 1 – 13.

[32] D. Amorello, S. Barreca, M. Bruno, A. Pettignano, Microchemical Journal **129** (2016), 305 – 309.

[33] A. Štrkalj, Z. Glavaš, Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske **65** (2016), 349 – 352.

[34] G. R. Chatwal S. K. Anand, *Instrumental Methods of Chemical Analysis*, Himalaya Publishing House, Delhi, 2005.

[35] A. Nayak, V. Sivajothi, World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Science **3** (2014), 869 – 875.

[36] B. G. Blijenberg, B. Leijnse, Clinica Chimica Acta **19** (1967), 97 – 99.

[37] R. W. Morrow, Analytical Letters **5** (1972), 371 – 376.

[38]http://m.ba.jnskzindustrial.com/analytical-instruments/flame-photometer.html (5.9.2020.)