# Potenciometrijsko određivanje anionsko površinski aktivnih tvari pomoću FIA/SIA sustava vlastite izrade

**Mihalak, Anita**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*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:182:391808

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-28**

*Repository / Repozitorij:*

Repository of the Department of Chemistry, Osijek



Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Anita Mihalak

# POTENCIOMETRIJSKO ODREĐIVANJE ANIONSKIH POVRŠINSKI AKTIVNIH TVARI POMOĆU FIA/SIA SUSTAVA VLASTITE IZRADE

Mentor:

prof. dr. sc. Milan Sak-Bosnar

Neposredni voditelj:

dr. sc. Olivera Galović

Osijek, 2016.

## Sažetak

Razvojem znanosti dolazi do sve veće potražnje za bržim i efikasnijim metodama analize tvari. Potreba za korištenjem što manje količine uzorka s velikom preciznošću analize u vrlo kratkom vremenu, dovela je do razvoja mikrofluidike. Analiza injektiranjem u protok (*flow injection analysis*, FIA) prva je moderna mikrofluidička metoda i definirana je kao analitička metoda za automatsku analizu tekućih uzoraka koja se zasniva na disperziji zone uzorka nastale injektiranjem uzorka u tok otopine nosača. Daljnim razvojem ove metode nastaje sekvencijska injekcijska analiza (*sequential injection analysis*, SIA ), mikrofluidička metoda čija je glavna karakteristika dvosmjerni neprekinuti tok uzorka. U ovom završnom radu korištena je navedena metoda kako bi se analizirale anionske površinski aktivne tvari pomoću *screen-printed* mikrosenzora. Površinski aktivne tvari ili tenzidi smanjuju površinsku napetost tekućina i sastoje se od hidrofilnog i hidrofobnog dijela. Koriste se u sredstvima za čišćenje kao i proizvodima za osobnu higijenu. Vrlo je važno kontrolirati njihovu količinu kako u proizvodima u kojima se nalaze tako i u otpadnim vodama zbog naše sigurnosti i sigurnosti okoliša.



KLJUČNE RIJEČI: površinski aktivne tvari, anionski tenzidi, FIA, SIA, *screen-printed* mikrosenzor

## Abstract

Rapid development of science demands faster and more efficient methods of matter analysis. The need for using smaller amounts of sample and bigger precision of analysis in shorter periods of time led to development of microfluidics. Flow injection analysis (FIA) is the first modern microfluidic method and it is defined as analytical method for automatic analysis of liquid samples. It is based on dispersion of sample zone that was made by injecting the sample in the carrier flow and detection of the wanted feature. Further development led to sequential injection analysis (*sequential injection analysis*, SIA), microfluidic method that uses two-way continuous flow. Described method was used in this bachelor thesis to analyze anionic surfactants. Surface active agents or surfactants lower surface tension of liquids. They consist of hydrophobic and hydrophilic end of the molecule. Surfactants are used in cleaning products and products for personal hygiene. It is very important to monitor their amount in products that we use and their presence in waste water for our own safety and the safety of our environment.

KEY WORDS: surfactants, anionic surfactants, FIA, SIA, screen-printed microsensor

# Sadržaj

1. Uvod ..... 5
1.1. Mikrofluidika ..... 6
1.1.1. Svojstva fluida na mikroskopskoj razini ..... 6
1.1.1.1. Difuzija ..... 6
1.1.1.2. Disperzija ..... 6
1.1.1.3. Reynoldsov broj ..... 7
1.1.2. Osnovne komponente mikrofluidičkog sustava ..... 7
1.2. Analiza injektiranjem u protok (FIA) ..... 8
1.2.1. Razvoj FIA sustava ..... 8
1.2.2. Komponente FIA sustava ..... 9
1.2.2.1. Injekcijski i višepozicijski ventil ..... 9
1.2.2.2. Nosač ..... 10
1.2.2.3. Pokretanje protoka ..... 10
1.2.2.4. Detektori ..... 11
1.2.3. Princip rada FIA sustava ..... 11
1.2.3.1. Parametri FIA sustava ..... 12
1.2.3.2. Vrste protoka ..... 13
1.2.4. Sekvencijska injekcijska analiza (SIA) ..... 14
1.2.4.1. Programibilan protok ..... 14
1.3. Površinski aktivne tvari ..... 15
1.3.1. Anionske površinski aktivne tvari ..... 15
2. Eksperimentalni podaci ..... 16
2.1. Popis korištenih kemikalija ..... 16
2.2. Aparatura i postupak ..... 16
2.3. *Screen-printed* mikrosenzor ..... 17
3. Rezultati i rasprava ..... 18
1.1. Odziv tenzidnog senzora na anionske tenzide, FIA postupak ..... 18
1.2. Određivanje anionskih tenzida u realnim uzorcima, FIA ..... 20
4. Zaključak ..... 22
5. Popis literature ..... 23

# 1. Uvod

Razvojem znanosti dolazi do sve veće potražnje za bržim i efikasnijim metodama analize tvari. Potreba za korištenjem što manje količine uzorka s velikom preciznošću analize tvari u vrlo kratkom vremenu dovela je do razvoja mikrofluidike, metode analize gdje je ključno svojstvo fluida da se u mikrocijevima, kakve se koriste kod ove metode, ne gibaju turbulentno nego laminarno. Ovom metodom uvelike je smanjena količina potrebnog uzorka a samim time i trošak analize. Analiza injektiranjem u protok (*flow injection analysis*, FIA) prva je moderna mikrofluidička metoda razvijena od strane Ružičke i Hansena 70-ih godina prošlog stoljeća. FIA je definirana kao analitička metoda za automatsku analizu tekućih uzoraka koja se zasniva na disperziji zone uzorka nastale injektiranjem uzorka u tok. Daljnim razvojem ove metode nastaje sekvencijska injekcijska analiza (*sequential injection analysis*, SIA). Glavna razlika između te dvije metode je način disperzije uzorka i reagensa. SIA je mikrofluidička metoda čija je glavna karakteristika dvosmjerni neprekinuti tok uzorka i reagensa.

Površinski aktivne tvari ili tenzidi uvelike pomažu svakodnevnom životu ljudi no jednako tako prijete okolišu. Tenzidi smanjuju površinsku napetost tekućina i sastoje se od hidrofilnog i hidrofobnog dijela. Koriste se u sredstvima za čišćenje kao i proizvodima za osobnu higijenu. Vrlo je važno kontrolirati njihovu količinu kako u proizvodima u kojima se nalaze tako i u otpadnim vodama.

## 1.1. Mikrofluidika

Mikrofluidika podrazumijeva znanost i tehnologiju o sustavima kod kojih se cijevi vrlo malih dimenzija koriste za rukovanje malim količinama tekućine ($10^{-9}$ do $10^{-18}$ litara). Zbog mnogih prednosti, mikrofluidika svoju osnovnu primjenu nalazi u kemijskoj analizi tvari. Glavne prednosti su korištenje vrlo male količine uzorka ili reagensa, separacija i detekcija visoke rezolucije i osjetljivosti, nizak trošak i kratko vrijeme analize. Kompleksnije tehnike mogu se koristiti za sintezu i istovremenu analizu sintetizirane tvari.

### 1.1.1. Svojstva fluida na mikroskopskoj razini

Jedan od velikih doprinosa mikrofluidike jest uočavanje razlike u fizičkim svojstvima fluida koji se kreću kroz velike cijevi i mikrocijevi. Jedna od glavnih razlika jest turbulentnost ili nedostatak iste, laminarnost. Općenito, fluidi se u velikim razmjerima, miješaju konvekcijski kao primjerice mlijeko u kavi. Takva vrsta gibanja pokazuje da je kod makroskopskog fluida inercija često važnija od viskoznosti. U mikrosustavima vrijedi obrnuto pravilo, fluidi se ne miješaju konvekcijski. Kada dva protoka fluida u mikrocijevi dođu u kontakt oni teku paralelno, bez turbulencije, te se miješaju jedino difuzijom molekula na njihovoj dodirnoj površini. Takav način protoka poznat je kao laminarni protok. Iako je za postizanje takvih miješanja potrebno imati određene instrumente, ono se pokazalo kao velika prednost mikrofluidike.[1]

#### 1.1.1.1. Difuzija

Difuzija je proces širenja čestica iz područja visoke koncentracije u područje niske koncentracije tvari. Ona se odvija u tekućinama, plinovima i krutinama. Brzina promjene veličine mjeri se njezinim protokom, *J*. Protok se definira kao broj čestica, *N*, koje prolaze kroz zamišljenu plohu u danom vremenskom intervalu, podijeljen s njezinom površinom, *A*, i vremenskim intervalom, $\Delta t$.

$$J = \frac{N}{A\Delta t}$$

Difuzija je jedan od važnih parametara u mikrosustavu jer se vrijeme potrebno da molekula prijeđe određenu udaljenost smanjuje s kvadratom te udaljenosti za male molekule.[2]

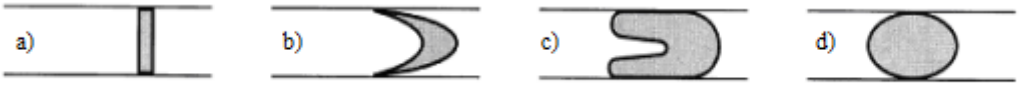
#### 1.1.1.2. Disperzija

Disperzija je pojava miješanja fluida koja proizlazi iz protoka fluida i molekularne difuzije. Ova pojava je važna za mikrofluidičke sustave jer se uzorak injektiran u protok širi kako prolazi kroz sustav.[2]

Disperzija uzorka u mikrofluidičkim sustavima može se odvijati na tri načina:

1. difuzijom
2. konvekcijom
3. konvekcijom i difuzijom.[4]

Sva tri načina prikazana su na Slici 1.




**Slika 1.** *a) injektirani uzorak; b) disperzija konvekcijom; c) disperzija konvekcijom i difuzijom; d) disperzija difuzijom*

### 1.1.1.3. Reynoldsov broj

Reynoldsov broj, $R_e$, je bezdimenzijska veličina pomoću koje se može predvidjeti način protoka fluida u različitim situacijama. Definira se kao omjer inercije i viskoznosti fluida prema formuli

$$R_e = \frac{\rho r_h v}{\eta}$$

gdje je $\rho$ gustoća tekućine, $r_h$ hidraulički polumjer kapilare, $v$ brzina protoka i $\eta$ viskoznost fluida. Pomoću Reynoldsova broja može se odrediti radi li se o laminarnom ili turbulentnom protoku fluida. Ako Reynoldsov broj ima malu vrijednost, od 20 do 2000, prevladava viskoznost fluida te se tada radi o konstantnom i mirnom protoku tj. laminarnom protoku. Ako Reynoldsov broj ima vrijednost iznad 4000 prevladava inercija i tada se radi o turbulentnom protoku koji uključuje spiralne kretnje, vrtloge i slično. Ako $R_e$ ima vrijednost između 2000 i 4000 može biti prisutan i jedan i drugi način protoka. Prema tome, u mikrofluidičkim sustavima Reynoldsov broj je manji od 2000.[2]

### 1.1.2. Osnovne komponente mikrofluidičkog sustava

Općenito se mikrofluidički sustav sastoji od nekoliko komponenti: sustava za dovođenje uzorka i reagensa u tekućem obliku, sustava za pokretanje tekućih uzoraka i njihovo miješanje, detektora te drugih dodatnih uređaja (npr. uređaji za pročišćavanje).. [12]

## 1.2. Analiza injektiranjem u protok (FIA)

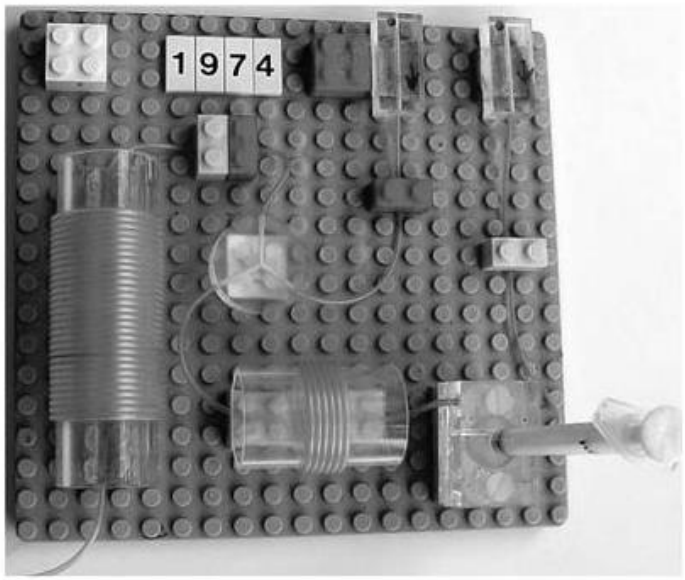
Analiza injektiranjem u protok zasniva se na injektiranju tekućeg uzorka u protok odgovarajućeg nosača (*carrier*). Injektirani uzorak stvara zonu uzorka (*sample zone*) koja se prenosi nosačem do odgovarajućeg detektora koji može mjeriti apsorbanciju, elektrodni potencijal ili neki drugi fizikalni parametar. Svi uzorci su sekvencijski obrađeni na potpuno isti način. Drugim riječima, sve ono što se događa s jednim uzorkom događa se i sa svim ostalima.[1] Za idealni FIA sustav, osim brzine protoka i kinetičkih parametara, treba u obzir uzeti i utjecaj temperature, viskoznosti, količine uzorka i promjera cijevi.[2]

### 1.2.1. Razvoj FIA sustava

Analiza koja uključuje protok tekućine pojavila se prije više od osamdeset godina dok se moderni sustavi pojavljuju tek pedesetih godina 20. stoljeća u obliku segmentirane protočne analize. Prvi takav sustav nastao je 1957. godine pod nazivom *continuous flow analysis* (CFA). [1] Tek dva desetljeća kasnije, 1974. godine Ružička i Hansen predlažu naziv *flow-injection analysis* i postavljaju temelje FIA sustava kakve poznajemo danas. No, oni nisu jedini znanstvenici koji su utjecali na razvoj FIA sustava. Betteridge i Fields 1978. godine analitičkoj zajednici ukazuju na nagli razvoj potencijalne primjene FIA sustava. Prvi su koristili kontrolirane disperzijske karakteristike FIA sustava kako bi proizveli pH gradijent i prikazali mogućnost dokazivanje više svojstava tvari istovremeno. Karlberg razvija FIA sustav koji uključuje ekstrakciju otapalom. Mindegaard i Zagatto predložili su korištenje zona spajanja (*merging-zones*) za dodatni dovod tekućine.

Jedan od glavnih razloga brzog napretka ove metode je mogućnost izrade ovakvih sistema u vlastitom laboratoriju. Mnogi znanstvenici su sami konstruirali svoje FIA sustave pomoću predmeta koji se inače ne nalaze u laboratoriju, kao što su Lego kockice (Slika 2). Ovaj ″uradi sam″ pristup koristi se i danas na mnogim fakultetima i institutima.[4]

Daljnji razvoj FIA sustava omogućila je automatizacija koja donosi povećanu preciznost te smanjuje količinu i utrošak uzorka. Automatizacija je također doprinijela razvoju uređaja koji se koriste za analize specifičnih uzoraka kao što je klinička analiza gdje se radi s velikim brojem vrlo sličnih uzoraka.[1]




**Slika 2.** *Model prvog Ružičkinog FIA sustava sastavljenog pomoću Lego kockica*

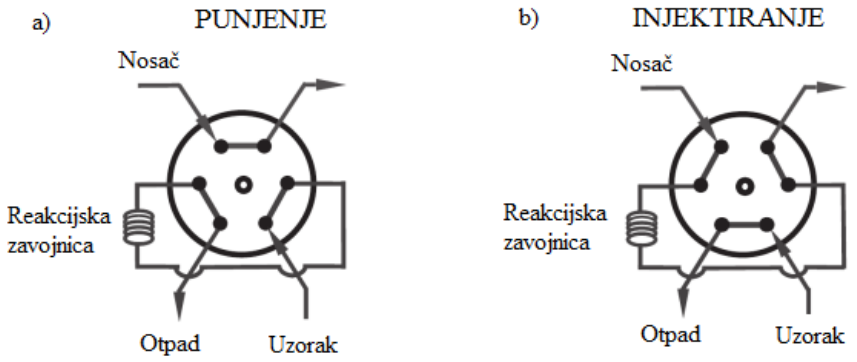
### 1.2.2. Komponente FIA sustava

Jednostavni FIA sustav sastoji se od jednog injektora uzorka (*sample injector*), reakcijskog razdjelnika (*reaction manifold*) i detektora. FIA sustavi mogu varirati od onih vrlo jednostavnih, koji analiziraju jedan uzorak i imaju jedan detektor do kompliciranih s nekoliko uzoraka i nekoliko detektora.

#### 1.2.2.1. Injekcijski i višepozicijski ventil

Injekcijski ventil (*injection valve*) obično sadrži devet dvostranih otvora napravljenih od otpornih materijala, kao što su teflon ili nehrđajući čelik, kako bi bio otporan na korozivna organska otapala. Svaki otvor označen je odgovarajućim brojem. Injekcijski ventil povezan je s višepozicijskim ventilom (*multiposition valve*).

Višepozicijski ventil je pomični dio uređaja i može se nalaziti u dva položaja, ovisno o tome ulazi li uzorak u petlju ili se on injektira u protok nosača (Slika 3). Na njemu se nalazi petlja s uzorkom (*sample loop*) koja je obično 10-100 μL osim u kapilarnim sustavima gdje je manja. Osim petlje, može se koristiti hidrodinamička injekcija. Unutarnje cijevi višepozicijskog ventila su također od teflona, PVC-a ili nekog drugog otpornog materijala, promjera 0,5 do 0,8 mm. Staklene cijevi se koriste za posebne vrste uzoraka. Duljina reakcijske zavojnice može biti manja od 1 m do čak 20 m.




**Slika 3.** *Višepozicijski ventil u položaju: a) punjenje petlje s uzorkom; b) injektiranje uzorka u protok nosača*

### 1.2.2.2. Nosač

Protok otopine nosača koji se kreće FIA sustavom služi kao transportni mehanizam za uzorak i obično se sastoji od jednog ili dva reagensa s odgovarajućim puferom. Kada je uzorak injektiran i nošen otopinom nosača nizvodno, on se miješa s nosačem i dolazi do kemijske reakcije. Disperzija uzorka je posljedica unutarnje geometrije cijevi. Uzorak se prenosi do detektora i analizira.

### 1.2.2.3. Pokretanje protoka

Najjednostavniji način pokretanja protoka je pomoću gravitacije. U ovakvom sustavu, čaša ili tikvica s nosačem je postavljena na veću visinu od ostatka aparature. Brzina protoka može se kontrolirati visinom na kojoj se nalazi posuda s nosačem, promjenom duljine i promjera cijevi ili dodatkom stezaljke na određenim mjestima na cijevi.

Najčešće korišten način pokretanja protoka je pomoću peristaltičke pumpe. Pumpe s 8 ili više valjaka su najprimjerenije.[3] Postoje dvije vrste peristaltičkih pumpi. Prva vrsta koristi valjke kako bi proizvela potisak. Druga vrsta koristi klipove na zupčaniku koji ravnomjerno pritišću cijevi a ne povlače ih u isto vrijeme te tako proizvode potisak.[6] Izbor cijevi koje se koriste na peristaltičkoj pumpi ovisi o vrsti tekućine koju pumpa treba pokretati. Česti materijali za izradu cijevi za pumpe su polivinil klorid (PVC) i silikonska guma no oni se ne smiju koristiti kada se radi s jakim organskim otapalima i koncentriranim mineralnim kiselinama. Nedostatak korištenja ovakvih cijevi je njihovo trošenje s vremenom. One gube elastičnost i moraju se zamijeniti svaka 2 do 4 tjedna.[3]

### 1.2.2.4. Detektori

U FIA sustavu može se nalaziti jedan ili više detektora koji se koriste za opažanje promjena u apsorbanciji, fluorescenciji, atomskoj emisiji ili apsorpciji, infracrvenoj apsorpciji, pH vrijednosti, elektrodnom potencijalu, električnoj provodljivosti, masi i ostalim svojstvima.

U eksperimentalnom dijelu rada korištene su tenzidne ion-selektivne elektrode, elektrokemijski senzori koji omogućavaju potenciometrijsko određivanje površinski aktivnih tvari (tenzida). Potencijal takve elektrode logaritamski ovisi o aktivitetu tenzidnog iona/molekule na kojeg je elektroda selektivna. Mjerenje tenzidnom ionsko-selektivnom elektrodom se izvodi u elektrokemijskoj mjernoj ćeliji koja se sastoji od dva galvanska polučlanka: tenzidne ionsko-selektivne elektrode i referentne elektrode. Najvažniji dio elektrode je membrana koja se najčešće sastoji od ionskog asocijata, tzv. ionofora, te odgovarajućeg plastifikatora i PVC matrice.

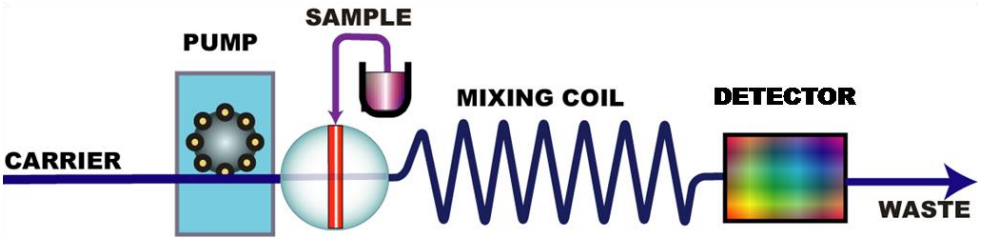
Ionofor je odgovoran za elektroaktivnost membrane.. Za referentnu elektrodu najčešće se koristi Ag/AgCl elektroda. Elektromotorna sila koja se uspostavlja na membrani senzora uronjenog u otopinu anionskog tenzida definirana je Nernstovim izrazom:

$$E = E^0 - S \log a(An^-)$$

gdje je $E^0$ konstanta, $S$ nagib i $a(An^-)$ aktivitet tenzidnog aniona.[7]

### 1.2.3. Princip rada FIA sustava

Kod najjednostavnijih FIA sustava jedan uzorak se injektira u protok nosača. Kako se uzorak kreće ″nizvodno″, on dispergira i zbog svojstava cijevi miješa se sa reagensom i nastaje vrsta koja se analizira kada dođe do detektora. Detektor bilježi zadano fizikalno svojstvo koje se protokom kroz protočnu čeliju mijenja i mjerenje prikazuje u obliku pika (*peak*). Visina i područje pika su proporcionalni koncentraciji i koriste se za određivanje nepoznate koncentracije uzorka u odnosu na uzorke poznatih koncentracija. Prosječna brzina protoka FIA sustava je jedan mililitar po minuti, volumen oko 100 µL po uzorku i brzine uzorkovanja oko dva uzorka po minuti. Primjer jednostavnog FIA sustava prikazan je na Slici 4. [3]

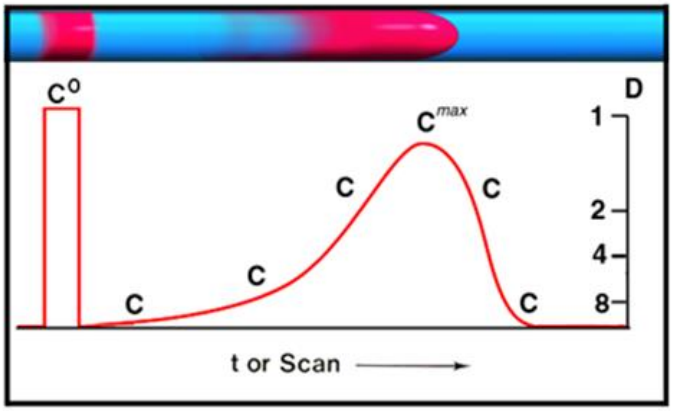


Slika 4. *Jednostavni FIA sustav*

### 1.2.3.1. Parametri FIA sustava

Svi FIA sustavi imaju zajednička tri temeljna parametra pri analizi uzorka:

1. Injektiranje uzorka - inicijalni unos uzorka četvrtastog oblika koji služi kao početna točka za koncentraciju ($c_0$) i početno vrijeme.
2. Kontrolirana disperzija - odvija se spontano kako se zona uzorka kreće ″nizvodno″ kroz sustav. Ovaj proces stvara koncentracijski gradijent gdje se najveća koncentracija ($c_{max}$) očitava kao pik. Razrijeđenost uzorka nosačem procjenjuje se koeficjentom disperzije koji je definiran kao omjer početne i konačne koncentracije ($D = c \ \ / c^{max}$).
3. Reproducibilan vremenski interval - vremenski interval od injektiranja uzorka, $T^0$, do maksimuma pika, $T^{max}$. Ovaj interval je reproducibilan ako je vrijeme od $T^0$ do $T^{max}$ jednako za svaki uzorak.




**Slika 5.** *Koncentracija analizirane tvari pri vremenu T*

Važno je izabrati odgovarajući volumen uzorka kako se ne bi pojavila dva pika istovremeno. Uzorak je potrebno injektirati tako da bude pravilno raspoređen u svakom svom segemntu da reagens može ravnomjerno reagirati s njim. Primjer pika nastalog pri maksimalnoj koncentraciji ($c^{max}$) i vremenu $T^{max}$ prikazan je na Slici 5.

Na Slici 5 vidljivo je da disperzijski koeficjent raste s razrjeđenjem uzorka. Postoje tri vrste disperzije: ograničena, srednja i velika.

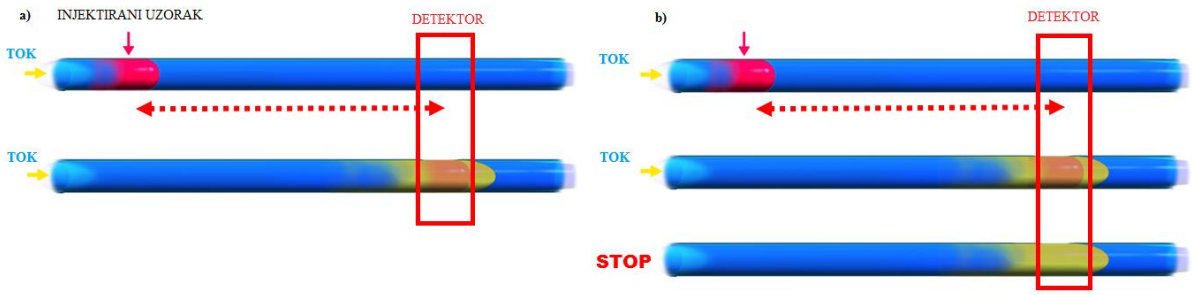
Ograničena disperzija javlja se kada je put koji uzorak mora proći od injektiranja do detektora mali. Pik koji nastaje je gotovo četvrtast i nastaje ustaljeno stanje. Disperzijski koeficjent tada iznosi 1 do 2. Ova vrsta disperzije pogodna je za mjerenja pH vrijednosti i provodljivosti.

Srednja disperzija se primjenjuje kada je potrebno povećati osjetljivost reakcije. Postiže se namještanjem odgovarajućeg volumena uzorka i koncentracije reagensa kao i duljine puta koji uzorak prijeđe. Disperzijski koeficjent poprima vrijednosti od 2 do 10.

Velika disperzija postiže se smanjenjem volumena uzorka i povečanjem puta koji uzorak treba prijeći. Ovaj se efekt može postići i dodatkom komore za miješanje (*mixing chamber*) u protok. Vrijednost koju disperzijski koeficjent ima je od 10 do 10000. Primjenjuje se kada je potrebno veliko razrjeđenje uzorka.

### 1.2.3.2. Vrste protoka

Sve kemijske reakcije ovise o vremenu pa je reproducibilnost vremena potrebnog za rukovanje uzorkom ključna za analizu pomoću FIA sustava. Postoje dvije vrste protoka, kontinuirani (Slika 6.a)) i zaustavljeni (Slika 6.b)).




**Slika 6.** *a) kontinuirani protok uzorka kroz detektor; b) zaustavljeni protok uzorka na detektoru*

Kod kontinuiranog protoka (*continuous flow*) vrijeme u kojemu može doći do kemijske reakcije je određeno brzinom linearnog protoka i ograničeno je duljinom puta koji uzorak prijeđe od injektiranja do detektora. Iako duži put znači više vremena, u obzir treba uzeti da se uzorak razrijeđuje zbog povećane disperzije.

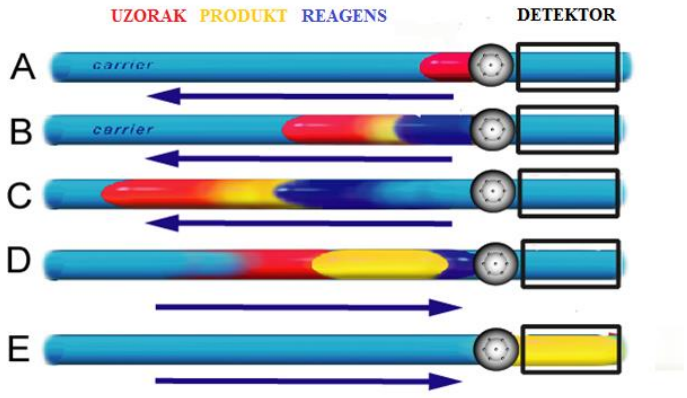
Zaustavljeni protok (*stop flow*) omogučuje dulje vrijeme u kojemu može doći do kemijske reakcije bez neželjenog razrjeđenja. Ovom metodom povećava se osjetljivost analize, troši se manje reagensa i time nastaje manje otpada nego kod korištenja kontinuiranog protoka. Prednost zaustavljenog protoka je dodatna minijaturizacija sustava jer se smanjuje duljina puta između mjesta gdje se injektira uzorak i detektora.[3]

### 1.2.4. Sekvencijska injekcijska analiza (SIA)

Sekvencijska injekcijska analiza (*sequential injection analysis*) je brz, precizan i učinkovit automatiziran način analize tekućih uzoraka. Metoda dijeli mnoge sličnosti s analizom injektiranja u protok (FIA) te se zbog toga smatra kao napredna verzija istog. SIA rješava sve nedostatke FIA metode jer je sustav pojednostavljen i postižu se znatne uštede kod cijene i količine otopina. Najveća prednost SIA metode analize je to što nisu potrebne nikakve fizičke rekonfiguracije puta kojim fluid teče. Sve promjene se vrše isključivo programski. Glavna razlika između te dvije metode je način disperzije uzorka. U jednostavnom obliku SIA sustava uzorak i reagens su injektirani jedan pored drugoga u protok nosača. Zatim dolazi do obrata protoka i međusobne diperzije uzorka i reagensa te nastaje produkt reakcije. Osnovni princip na kojem se SIA sustav zasniva je programibilan protok. Rezultat je koncentracijski gradijent analita u podlozi reagensa. S obzirom da SIA izbjegava brze dostave uzorka detektoru, omogučuje bolje miješanje i kompletniju reakciju.

#### 1.2.4.1. Programibilan protok

Prilikom analize uzorka SIA metodom koristi se programibilan, dvosmjerni neprekinuti protok. Takva vrsta protoka kontrolira se računalom. Kao što je prikazano na Slici 7 uzorak (A) i reagens (B) su sekvencijalno injektirani u protok nosača pomoću višepozicijskog ventila (*Multiposition Valve* - MPV). Na dodirnom mjestu uzorka i reagensa stvara se reakcijski produkt (C) te obrtanjem protoka (D) oni se dodatno miješaju. Tako nastali reakcijski produk se prenosi do detektora (E) i analizira se određeno svojstvo.




**Slika 7.** *Programibilan protok SIA sustava*

Vremenski interval između injektiranja i detekcije je reproducibilan budući da se protok sekvencijski injektiranog uzorka i reagensa kontrolira pomoću računala. Na taj način su svi

uzorci obrađeni na isti način te je moguće usporediti nepoznate vrijednosti sa standardiziranima.[8]

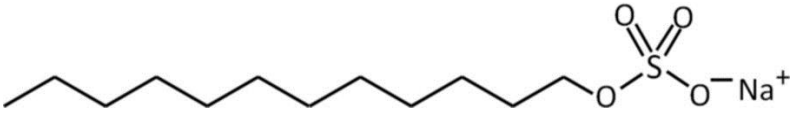
## 1.3. Površinski aktivne tvari

Površinski aktivne tvari ili tenzidi su organski spojevi koji smanjuju površinsku napetost tekućine. Sastoje se od hidrofilnog dijela koji se orijentira prema vodi i hidrofobnog dijela koji se orijentira od vode. Hidrofobni dio se još naziva i rep i u pravilu je dugačak ugljikovodični lanac, najčešće sastavljen od 8 do 20 ugljikovih atoma. Hidrofilni dio molekule se naziva glava te on može biti električki nabijen (pozitivno ili negativno) ili neutralan.[9] Površinski aktivne tvari se dijele na nekoliko načina. Prema ionskom naboju hidrofilne skupine u molekuli postoje četiri vrste: anionski, kationski, neionski i amfotermni tenzidi. Prema upotrebi se dijele na sredstva za omekšavanje, čišćenje, emulgiranje, dispergiranje i pjenjenje.[10]

### 1.3.1. Anionske površinski aktivne tvari

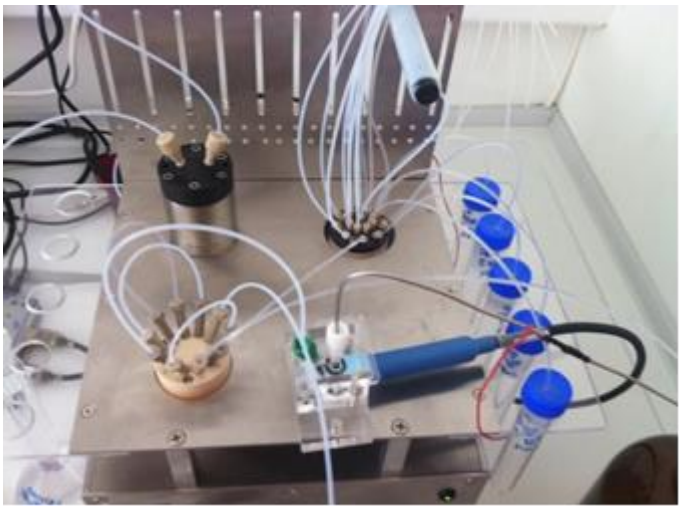
Anionske površinske aktivne tvari sadrže negativno nabijene hidrofilne skupine kao što su sulfati, sulfonati i karboksilati. Koriste se u većini sredstava za čišćenje jer djeluju kao emulgatori koji spriječavaju ponovno taloženje nečistoće na opranu površinu, stabilizirajući time njezinu disperziju u vodi. Anionski tenzidi koji stvaraju jaku pjenu služe za čišćenje tepiha dok se oni koji stvaraju slabu pjenu koriste u industriji za odmaščivanje. U kozmetici se koriste u sredstvima za osobnu higijenu (pastama za zube, šamponima, micelarnim vodicama za čišćenje lica...). Najčešće korišteni anionski tenzidi su: alkil benzen sulfonati (LAS i TPS), sekundarni alkan sulfonati (SAS), α-olefin sulfonati, α-sulfo esteri masnih kiselina (SES), alkil sulfati (AS), alkil eter sulfati (AES).[9, 11]

Primjer anionskog tenzida je natrij dodecil sulfat (SDS), sintetička organska tvar kemijske formule $CH_3(CH_2)_{11}SO_4Na$. SDS je natrijeva sol estera dodekanola i sumporne kiseline te se može pripraviti iz kokosovog i palminog ulja. Sastoji se od hidrofilnog repa načinjenog od 12 ugljikovih atoma i hidrofilne glave koju čini sulfatna skupina kao što je prikazano na Slici 8. [12]




**Slika 8.** *Natrijev dodecil sulfat (SDS)*

# 2. Eksperimentalni podaci



## 2.1. Popis korištenih kemikalija

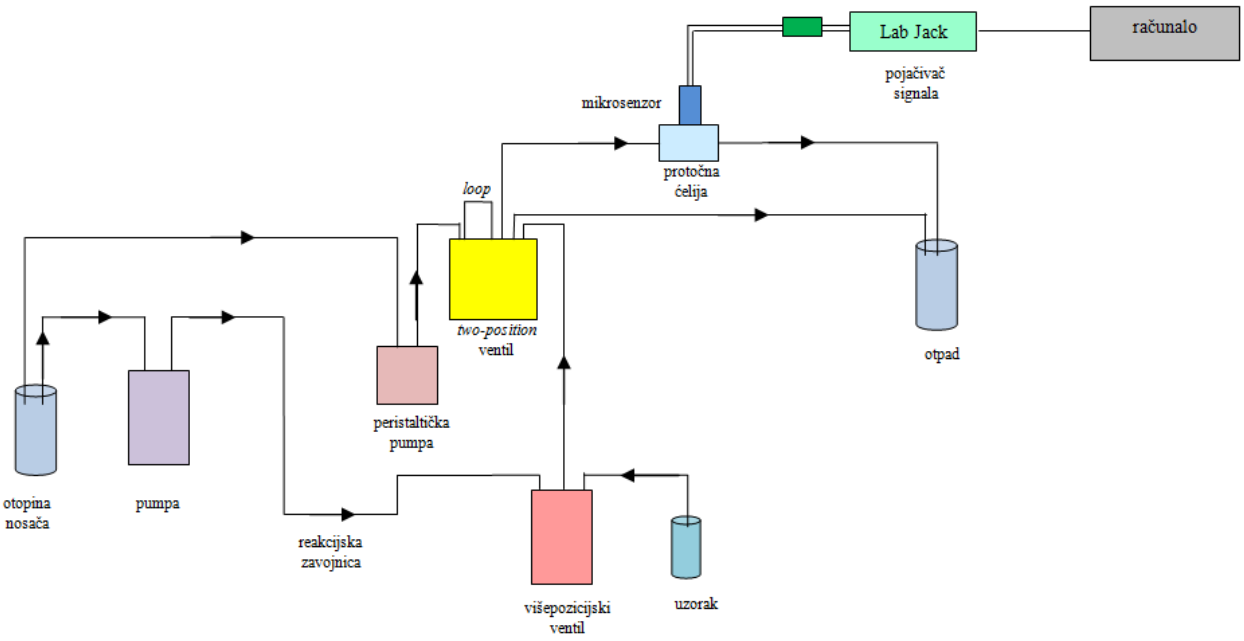
Prilikom analize korištena je standardizirana otopina natrij dodecil sulfata (NaDDS) ( c = 0,07927 M), otopina natrij dodecil sulfata (NaDDS) (c = $1 \cdot 10^{-6}$ M - $1 \cdot 10^{-3}$ M), deionizirana voda, natrijev sulfat ($Na_2SO_4$) (c = 0.01 M), natrijev sulfat ($Na_2SO_4$) (c = 0.5 M), klorovodična kiselina (HCl) (c = 1 M) .

## 2.2. Aparatura i postupak

Mjerenja su izvedena pomoću FIA sustavu vlastite izrade (Slika 9.) te su vođena računalnim programom također vlastite izrade. Metoda je kreirana optimiranjem parametara analize. Volumen uzorka korišten za mjerenje je 70 μL, brzina protoka iznosila je 33 μL/s, vrijeme povratka signala na baznu liniju iznosilo je 10 – 60 sekundi, a ovisilo je o koncentraciji analiziranog uzorka. Prije početka mjerenja protočna ćelija sa *screen-printed* mikrosenzorom (SPMS) isprana je s 2500 μL otopine nosača ($Na_2SO_4$ 0,01 M, pH=3). Svim analiziranim uzorcima podešena je ionska jakost otopinome natrijeva sulfata_ i pH (pH=3) otopinom klorovodične kiseline.



**Slika 9.** *FIA analizator vlastite izrade*

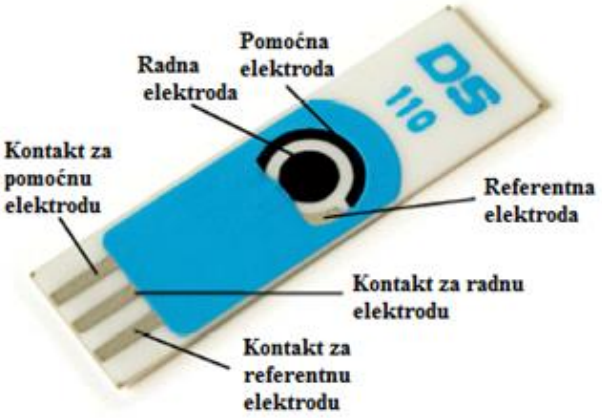



**Slika 10.** *Shematski prikaz FIA analizatora vlastite izrade.*

Prije početka mjerenja FIA sustav se ispere i ispuni otopinom nosača i otopinama uzoraka za analizu. Otopina nosača uvlači se u sustav pomoću pumpe, prolazi kroz reakcijsku zavojnicu, protočnu ćeliju i ispušta u posudu za otpadnu tekućinu. Cjevčice višepozicijskog ventila ispune se otopinama uzoraka za analizu. Unaprijed određenim redoslijedom za analizu se uzima 250 µL uzorka i pogura se s 500 µL otopine nosača kroz petlju (*loop*) koji je volumena 70 µL, a potom se (70 µL uzorka) iz petlje pogura do protočne ćelije s mikrosenzorom; brzinom od 33 µL/s. Zatim se višepozicijski ventil okreće prema sljedećem uzorku, uzima 70 µL uzorka i s 500 µL otopine nosača uzorak se gura prema protočnoj ćeliji s mikrosenzorom (Slika 10.). Ovaj postupak ponavlja se dok se ne analiziraju svi uzorci.

## 2.3. *Screen-printed* mikrosenzor

Za mjerenja je korištena modificirana *screen-printed* elektroda (SPMS) (DROP SENSE, tip: DS 110, Španjolska). Radna i pomoćna elektroda su napravljene od ugljika dok je referentna elektroda od srebra. Membrana elektrode se temelji na PVC-plastificiranoj tenzidno selektivnoj membrani napravljena od ionskog asocijata DDA-TPB i *o*-nitrofenil oktil eterom (*o*-NPOE) kao materijalom za plastifikaciju.

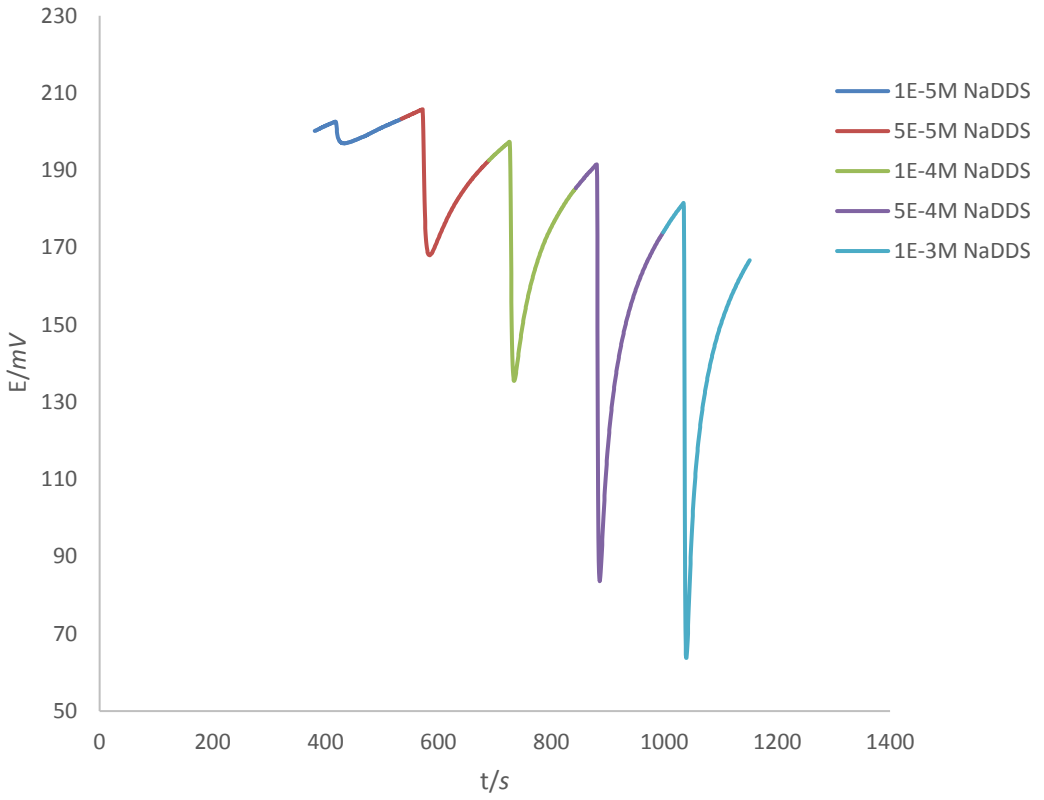



**Slika 11.** *Screen-printed elektroda*

# 3. Rezultati i rasprava

## 1.1. Odziv tenzidnog senzora na anionske tenzide, FIA postupak

Odziv tenzidnog senzora mjeren je potenciometrijski pomoću screen-printed mikrosenzora, metodom injektiranja u protok otopine NaDDS u koncentracijama $1 \cdot 10^{-5}$ M do $1 \cdot 10^{-3}$ M. Uzorci otopina za kalibraciju injektirani su u stalan tok otopine nosača (0,01M $Na_2SO_4$, pH=3). Odziv senzora prikazan je na Slici 12 i u Tablici 1.

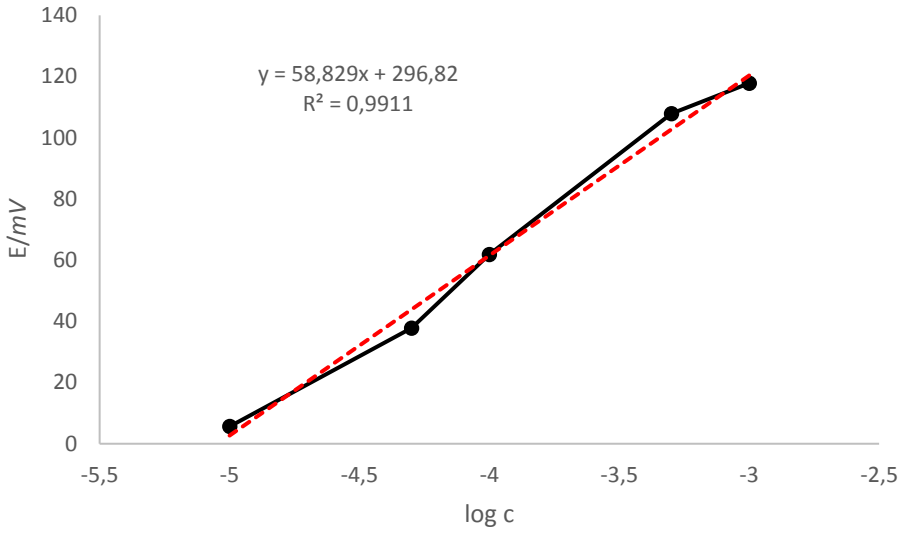



**Slika 12.** *Potenciometrijski signal screen-printed mikrosenzora u otopinama NaDDS koncentracije: $1 \cdot 10^{-5}$ M (—), $5 \cdot 10^{-5}$ M (—), $1 \cdot 10^{-4}$ M (—), $5 \cdot 10^{-4}$ M (—), $1 \cdot 10^{-3}$M (—)*

**Tablica 1.** *Visine pikova za pojedine koncentracije standardnih otopina NaDDS dobivene potenciometrijskim mjerenjem screen-printed mikrosenzorom metodom injektiranja u protok*

| uzorak standarda c(M) | log c | visina pika (mV) |
|---|---|---|
| 1,00E-05 | -5 | 5,630 |
| 5,00E-05 | -4,3 | 37,810 |
| 1,00E-04 | -4 | 61,903 |
| 5,00E-04 | -3,3 | 107,918 |
| 1,00E-03 | -3 | 117,812 |

Na Slici 13 prikazana je grafička ovisnost vrijednosti potencijala o logaritmu koncentracije NaDDS. Nizovi mjerenje i vrijednosti dobivene mjerenjima analizirani su korištenjem regresijske analize. Nagib pravca izračunat linearnom regresijom iznosi 58,823 a koeficijent korelacije 0,9911. Niži koeficijent korelacije posljedica je stvaranja mjehurića zraka u sustavu do kojeg dolazi pri promjenama u uvjetima u kojima su mjerenja vršena (temperatura).




**Slika 13.** *Grafički prikaz ovisnosti vrijednosti potencijala o logaritmu koncentracije NaDDS, dobiveni mjerenjem potenciometrijskog signala screen-printed mikrosenzorom*

## 1.2. Određivanje anionskih tenzida u realnim uzorcima, FIA

Udio anionskih tenzida u realnim uzorcima izmjeren je prvo standardnom MBAS metodom. Rezultati dobiveni potenciometrijskim mjerenjem pomoću *screen-printed* mikrosenzora uspoređeni su s rezultatima dobivenim standardnom metodom (Tablica 2).

**Tablica 2.** *Usporedba rezultata dobivenih potenciometrijskim mjerenjem pomoću screen-printed mikrosenzora i MBAS metodom*

| MBAS | | FIA |
|---|---|---|
| uzorak | mg/L | mg/L |
| 1 | 14,19 | 5,00 |
| 2 | 23,72 | 18,93 |
| 3 | 135,85 | 139,04 |
| 4 | 309,41 | 428,63 |
| 5 | 333,61 | 271,47 |

Razlika pojedinih rezultata između dvije metode je značajna i može se objasniti utjecajem interferirajućih komponenti prisutnih u uzorku, a koje mogu u manjoj ili većoj mjeri utjecati na odziv korištenog *screen-printed* senzora. Treba naglasiti i da je potenciometrijska titracija u pravilu puno točnija i preciznija metoda u odnosu na direktnu potenciometriju na kojoj se bazira mjerenje na FIA uređaju. Primjena FIA-analize u određivanju anionskih tenzida u realnim sustavima bila bi znatno efikasnija kada bi se ispitivani uzorak prethodno podvrgnuo nekoj od separacijskih metoda, kojom bi se uklonile interferirajuće supstance, tj. izolirali anionski tenzidi.

# 4. Zaključak

Prednosti kemijskih svojstava tenzida rezultirali su njihovom industrijskom proizvodnjom i širokom primjenom. No oni osim korisnih svojstava posjeduju i određenu toksičnosti te mogu uzrokovati značajno zagađenje okoliša. Upravo zato važno je razvijati analitičke metode kojima bi se kontrolirala njihova prisutnost u otpadnim vodama. Jedna od najmodernijih metoda analize je FIA koja na brz, jednostavan i efikasan način vrši analizu velikog broja uzoraka.

U radu su pomoću FIA metode uspješno određene koncentracije anionskih tenzida u otpadnim vodama. Rezultati su potvrđeni usporedbom s rezultatima dobivenim standardnom MBAS metodom. Odstupanje u rezultatima posljedica je utjecaja interferirajućih komponenti prisutnih u uzorku.

## 5. Popis literature

[1] G.M. Whitesides; The origins and the future of microfluidics, Nature, Vol 442 (Srpanj 2006) str. 368 - 373

[2] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch; Fundamentals of Analytical Chemistry 9th Edition, Brooks/Cole, Belmont, CA (2014)

[3] J. Ružička, E.H. Hansen; Flow Injection Analysis 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc., SAD/Kanada (1988)

[4] G. Wood Ewing; Analytical instrumentation handbook, MARCEL DEKKER, INC, New York (1997)

[5] E.A.G. Zagatto, C.C. Oliveira, A. Townshend, P.J. Worsfold; Flow analysis with spectrophotometric and luminometric detection, Elsevier, Massachusetts/Oxford/Amsterdam (2012)

[6] J. Ružička, E.H. Hansen; Flow injection analysis: Part 1. A new concept of fast continuous flow analysis, Analytica Chemica Acta, Vol 78 (1975) str. 145 - 157

[7] M. Sak Bosnar; Odabrana poglavlja analitičke kemije.ppt

(http://www.kemija.unios.hr/old_web/nastava/nastavni_materijali/odabrana_poglavlja_analiticke%20kemije/ODABRANA_POGLAVLJA_ANALITICKE_KEMIJE.ppt (15.04.2016.))

[8] J. Jakmunee; Flow injection analysis (FIA) and Sequential injection analysis (SIA).ppt

[9] J.L. Salager; Surfactants types and uses, Mérida-Venezuela Versión # 2 (2002.)

[10] R.J. Farn; Chemistry and Technology of Surfactants, Blackwell Publishing Ltd (2006.)

[11]

https://www.google.hr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CBsQFjAAahUKEwj49YrwoPfHAhXKCiwKHQuEDv8&url=https%3A%2F%2Fwww.fkit.unizg.hr%2F_download%2Frepository%2FTENZIDI__5_klasifikacija%2Cproizvodanja%2Cprimjena.ppt&usg=AFQjCNFozquZZ9INXK_UCLtn7X9eOTdrJQ&bvm=bv.102537793,d.bGg&cad=rja (30.08.2016.)

12

http://chemicalland21.com/specialtychem/perchem/SODIUM%20LAURYL%20SULFATE.htm (06.09.2016.)

SLIKE

Slika 1 J. Ružička, E.H. Hansen; Flow Injection Analysis 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc., SAD/Kanada (1988)

Slika 2 E.H. Hansen; Flow Injection Analysis: Its Origins and Progress, Comprehensive Analytical Chemistry, Vol 54 (2008) str. 3 - 21

Slika 3 I.D. McKelvie; Principles of Flow Injection Analysis, Comprehensive Analytical Chemistry, Vol 54 (2008) str 81-106

Slika 4, Slika 5, Slika 6 J. Jakmunee; FLOW INJECTION ANALYSIS (FIA).ppt

Slika 7 Flow injection analysis (FIA) and Sequential injection analysis (SIA).ppt

Slika 8 https://www.google.hr/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&ved=0ahUKEwj8xZPN-4rPAhWCvRQKHcrxArQQjhwIBQ&url=http%3A%2F%2Fjes.ecsdl.org%2Fcontent%2F160%2F1%2FD1%2FF4.expansion.html&psig=AFQjCNHMnZlYDPl2w-UKEQnPvRpgJ7Y-wA&ust=1473808739385227 (11.09.2016.)

Slika 10 Shema FIA sustava vlastite izrade, autor O. Galović