

Potenciometrijsko određivanje kationskih površinskih aktivnih tvari pomoću FIA/SIA sustava vlastite izrade

Šafarik, Tatjana

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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:182:363804>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA KEMIJU

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

Tatjana Šafarik

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

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Milan Sak-Bosnar

Neposredni voditelj: dr. sc. Olivera Galović

Rujan 2015. u Osijeku

SAŽETAK

Danas je moderna analitička kemija nezamisliva bez metoda koje se zasnivaju na analizi injektiranjem u protok (FIA). FIA se definira kao jednostavna, svestrana analitička tehnika za automatske kemijske analize tekućih uzoraka, koja se zasniva na fizikalnoj i kemijskoj analizi dispergirane zone uzorka, formirane injektiranjem uzorka u tok otopine nosioca te detekcijom nastale promjene. Pogodna tehnika kojom se također vrše analize tenzida je potenciometrijska titracija. Naime, kationski tenzidi se titriraju s anionskim, i obrnuto. Korištenjem navedenih tehnika u ovom završnom radu određivale su se kationske površinski aktivne tvari. Površinski aktivne tvari nazivaju se još i tenzidi, po njihovom svojstvu da smanjuju površinsku napetost tekućine. Odnosno, to su bifunkcionalni organski spojevi koji se sastoje od hidrofilnog i hidrofobnog dijela. Najčešće se koriste u sredstvima za čišćenje, omekšavanje te u dekorativnoj kozmetici.

KLJUČNE RIJEČI : površinski aktivne tvari, kationski tenzidi, FIA, SIA, potenciometrijska titracija

ABSTRACT

Modern analytical chemistry is unimaginable without methods based on flow injection analysis (FIA). FIA can be defined as a simple, versatile analytical technique for the automatic chemical analysis of liquid samples, based on physical and chemical analysis of the dispersed sample zone which is formed by injecting the sample into the carrier stream and detecting the resulting current. Suitable technique that can also perform analysis of surfactants is the potentiometric titration, namely cationic surfactants are titrated with an anionic and vice versa. In the final paper determination of cationic surfactants was performed by using this techniques. Surface active substances are also called the surfactants because of their ability to reduce the surface tension of the liquid, they are bifunctional organic compound consisting of a hydrophilic and hydrophobic part. They are most commonly used in cleaning, softening and in decorative cosmetics.

KEYWORDS : surface active substances, cationic surfactants, FIA, SIA, potentiometric titration

1.Uvod.....	5
1.1. Površinski aktivne tvari.....	6
1.2. Klasifikacija površinski aktivnih tvari.....	6
1.2.1. Anionski tenzidi	6
1.2.2. Neionski tenzidi	7
1.2.3. Amfotermni tenzidi	7
1.2.4. Kationski tenzidi.....	8
1.2.4.1. Utjecaj kationskih tenzida na okoliš i čovjeka	10
1.2.4.2. Dermatološki problemi povezani s tenzidima	11
1.3. Tehnike analize tenzida	12
1.3.1. Potencijometrija	12
1.3.2. Potencijometrijska titracija	13
1.3.3. Analiza injektiranjem u protok (FIA)	14
1.3.3.1. Temeljni principi FIA sustava	16
1.3.4. Sekvencijska injekcijska analiza (SIA).....	17
2. Eksperimentalni dio	19
2.1. Reagensi i otopine	19
2.2. Aparatura	20
2.3. Tenzidni senzor	20
2.4. Postupak	21
2.4.1. Direktna potencijometrija	21
2.4.1.1. Nerstov izraz za odziv senzora na kationske tenzide	22
2.4.2. Potencijometrijska titracija	22
2.4.2.1 Reakcija između analita i titranta	22
3.Rezultati rasprava	23
3.1. Odziv tenzidnog senzora na kationske tenzide, konvencionalni postupak....	23
3.2. Odziv tenzidnog senzora na kationske tenzide, FIA/SIA postupak	24
3.3. Potencijometrijska titracija kationskih tenzida	25
4.Zaključak	29
5.Literatura	30

1. Uvod

Jedna je od većih prekretnica u razvoju analitičke kemije pojava automatiziranog analitičkog sustava, koji daje precizne podatke s minimumom operacija. Razvoj automatiziranih sustava potaknut je potrebom kliničkih laboratorija za brzom i preciznom analizom velikog broja uzoraka. Moderna je analitička kemija nezamisliva bez metoda koje se zasnivaju na analizi injektiranjem u protok (FIA). FIA se definira kao jednostavna, svestrana analitička tehnika za automatske kemijske analize tekućih uzoraka, koja se zasniva na fizikalnoj i kemijskoj analizi dispergirane zone uzorka, nastale injektiranjem uzorka u tok nosioca te detekcijom nastale struje. Nakon velikog uspjeha kojeg je FIA doživjela, Marshall i Ružička donose inovaciju u području analiza kontinuiranog protoka, koja zadržava njene glavne prednosti i reducira nedostatke, a to je sekvencijska injekcijska analiza (SIA). Glavne prednosti SIA tehnike su pojednostavljenje uređaja i smanjenje potrošnje reagenasa. Korištenjem navedenih tehnika u ovom se završnom radu vršilo određivanje kationskih površinski aktivnih tvari.

Površinski aktivne tvari nazivaju se još i tenzidi, po njihovom svojstvu da smanjuju površinsku napetost tekućine. Odnosno, to su bifunkcionalni organski spojevi koji se sastoje od hidrofilnog i hidrofobnog dijela. Najčešće se koriste u sredstvima za čišćenje, omekšavanje te u dekorativnoj kozmetici. Analiza tenzida najčešće ima dva osnovna cilja: kontrola kvalitete za komercijalne proizvode i kontrola zagađenja okoliša.

1.1. Površinski aktivne tvari

Površinski aktivne tvari posjeduju jedinstvenu strukturu zbog koje imaju karakteristična svojstva. Naime, prisutna su dva potpuno različita područja na molekuli. Jedan ili više hidrofobnih ugljikovodičnih lanaca povezanih na ionsku ili visoko polarnu hidrofilnu skupinu. Nenabijeni ugljikovodični lanac može biti linearan, razgranat, ciklički te aromatski. Te su dvije skupine potpuno neovisne jedna o drugoj. Zbog svoje neobične građe imaju i posebna svojstva, a to su adsorpcija i molekulsko samoudruživanje. Adsorpcija je tendencija molekula tenzida da se skupljaju na granici dvaju faza. Najčešće su to granica uljne i vodene faze te granica vodene faze i zraka [1]. Što se tiče svojstva samoudruživanja, to je tendencija tenzida da tvore organizirane nakupine, odnosno micle, dvosloje te tekuće kristale. Oba svojstva tenzida se temelje na tome da se hidrofilne skupine orijentiraju prema vodi, a hidrofobni lanci od vode.

1.2. Klasifikacija površinski aktivnih tvari

Tenzidi se mogu klasificirati prema hidrofilnoj skupini u molekuli, odnosno prema njenom ionskom naboju. Stoga postoje četiri skupine, a to su: anionski, kationski, neionski, amfotermni. S komercijalnog gledišta postoji klasifikacija tenzida i prema njihovoj upotrebi, a to su sredstva za omekšavanje, čišćenje, emulgiranje, dispergiranje i pjenjenje [2].

1.2.1. Anionski tenzidi

Anionski tenzidi se najčešće koriste, a sastoje od negativno nabijene hidrofilne skupine poput sulfata, sulfonata, karboksilata. Njihova primjena ovisi o kemijskoj strukturi tenzida. Zbog negativnog naboja koji se odbija od većine površina koje imaju slab negativan naboj koriste se u većini sredstava za čišćenje, također i u praškastim detergentima jer mijenjaju energetske odnose na graničnim površinama između čvrste podloge, nečistoće i vode.

Djeluju kao emulgatori jer sprječavaju ponovno taloženje nečistoće na opranu površinu stabilizirajući njezinu disperziju u vodi. Postoje anionski tenzidi koji stvaraju jaku pjenu pa se zbog toga koriste u sredstvima za pranje tepiha, dok se oni koji stvaraju slabu pjenu koriste u industriji za odmašćivanje. Svoju ulogu pronašli su i u tekstilnoj industriji kao pomoćna sredstva jer daju antistatičke efekte na sintetskim vlaknima [3]. Najčešći anionski tenzidi u detergentima za pranje rublja 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).

1.2.2. Neionski tenzidi

Neionski tenzidi su površinski aktivne tvari koje ne disociraju u vodi jer sadrže hidrofilnu skupinu koja nema mogućnost disocijacije poput alkohola, fenola, amida, etera i estera. Veliki postotak neionskih tenzida je hidrofilan zbog prisutnosti polietilenskog glikolnog lanca koji je nastao polikondenzacijom etilen oksida. Hidrofobni dio je najčešće alkilni lanac nastao iz masnih kiselina prirodnog podrijetla. Koriste se u emulzijskoj polimerizaciji, u proizvodnji fenol formaldehidnih smola, proizvodnji sredstava za zaštitu bilja, premaznih sredstava i adheziva, kao stabilizatori pjene ili kao pojačivači pjene (pjene za kupanje, šamponi) ovisno o tipu neionskog tenzida, te u tekstilnoj industriji, industriji celuloze i papira, metalnoj industriji [3]. Primjeri neionskih tenzida su : polialkilen oksid blok co-polimeri, polioksietilen esteri masnih kiselina, amin etoksilati.

1.2.3. Amfoterni tenzidi

Amfoterni tenzidi su površinski aktivne tvari s jednom ili više funkcionalnih skupina koje ovisno od uvjeta sredine u kojoj se nalaze mogu disocirati u vodenoj otopini tako da spoj dobije karakteristike anionskih ili kationskih tenzida. Neki amfoterni tenzidi su neosjetljivi na pH vrijednost otopine, dok su ostali kationski pri niskom pH, a anionski pri visokom pH, s amfoternim ponašanjem na srednjoj vrijednosti pH. Proizvodnja amfoternih tenzida je skupa i zbog toga im je uporaba ograničena na posebne grane proizvodnje poput

kozmetičke industrije, gdje niska toksičnost i visoka biološka kompatibilnost dolaze do izražaja. S obzirom na nisku toksičnost, koriste se u formulacijama proizvoda za osobnu njegu koji zahtijevaju minimalnu iritaciju, kao na primjer u sredstvima za čišćenje lica ili vlažnim maramicama i pjenama za kupanje beba. Stabilni su u koncentriranim otopinama elektrolita, pa se koriste u visoko alkalnim i kiselim sredstvima za čišćenje. Razvijaju kvalitetnu tešku, mokru pjenu, pa se koriste u različitim proizvodima gdje se zahtjeva pjena, kao na primjer šamponi ili sredstva za čišćenje sagova. Također se koriste i u pjenama za gašenje požara [3]. Budući da su općenito bazirani na strukturi aminokiseline, dobro su biorazgradivi. Primjeri sintetskih amfoternih tenzida su betaini i sulfobetaini, dok su primjeri prirodnih, aminokiseline i fosfolipidi.

1.2.4. Kationski tenzidi

Kationski su tenzidi površinski aktivne tvari s jednom ili više funkcionalnih skupina, koje u vodenim otopinama ioniziraju dajući pozitivno nabijene površinski aktivne organske ione, odnosno hidrofilni dio molekule sadrži pozitivan naboj. U većini se slučajeva radi o pozitivno nabijenom dušikovom atomu, iako postoje odgovarajući analozi koji sadrže sumpor, fosfor ili arsen, no oni se mnogo rjeđe koriste i proizvodnja je skuplja. Kvaterni amonijevi tenzidi zadržavaju svoj kationski karakter na bilo kojoj pH vrijednosti, osim ako se ne dogodi cijepanje veze. S obzirom na strukturu koju imaju, nisu dobri kao detergentski, niti kao sredstva za pjenjenje, stoga se najčešće koriste kao baktericidi te jednostavno poboljšavaju svojstva anionskih tenzida. Pozitivan im naboj omogućava da se adsorbiraju na negativno nabijene površine, dajući antistatički efekt koji je prijeko potreban u regeneratorima za kosu i omekšivačima tkanina. Također se koriste kao zgušnjivači s otopinama visoke koncentracije soli jer mogu formirati lamelarne micele, te njihove otopine pokazuju viskozno-elastična svojstva [3].

Adsorpcija na čvrste površine omogućuje različite vrste primjene kationskih tenzida u praksi. Čvrste površine izrađene od minerala i visokog postotka organskih tvari predstavljaju površine koje su hidrofilne i sadrže određeni stupanj polarnosti. Minerali sa visokim udjelom silikata sadrže površine sa velikim brojem hidroksilnih skupina, koje spremno izmjenjuju ione s kationskim tenzidima, ostavljajući iza sebe krutinu sa

hidrofobnim slojem. Slično tome veliki broj organskih tvari poput vune, pamuka, kože i kose sadrži negativno nabijene skupine koje najčešće potječu od karboksilatnih skupina, koje spremno reagiraju s pozitivno nabijenim tenzidima. Zbog istog fenomena su kationski tenzidi našli svoju najveću primjenu u omekšivačima rublja i kose. S obzirom da u reakciji nastaje tkanina koja postaje hidrofobna, lakše se suši i glača [4]. U komercijalnim omekšivačima prevladavaju tri najčešća tipa kationska tenzida a to su: dialkildimetilamonijeve soli, imidazolni spojevi te diamido kvaterne amonijeve soli. Svi se spremno adsorbiraju na tkanine već u razrijeđenim otopinama, a spremno se deadsorbiraju procesom pranja s deterгентom. Svoju su primjenu pronašli i u proizvodnji organskih glina. Organske gline nastaju izmjenom iona između gline (najčešće natrija ili magnezija) i kvarternih amonijevih soli, a koriste se za kontroliranje reologije ulja, zgušnjavanje boja (premaza), proizvodnji gela za nokte i slično. Najprikladniji tip gline je onaj koji ima visoki kapacitet izmjene kationa, odnosno ona koja se pretvara od hidrofilne topive u vodi u organsku topivu u organskim otapalima. Postotak polarnih skupina u glini i jednostavnost disperzije u organskim otapalima ovisi o prirodi supstituenata oko dušikova atoma. Zbog posebnih svojstava organska je glina pronašla svoje mjesto u bojama održavajući viskoznost boje, također sprječavajući da se tinta razlije u sitne kapljice u printerima [4]. Zbog svoje specifične adsorpcije na površine, kationski su tenzidi pronašli svoju primjenu i kao inhibitori korozije. Dodaju se kao aditivi u procesima galvanizacije. S obzirom da pokazuju baktericidna svojstva našli su važnu primjenu u zdravstvu, te kao agensi koji poboljšavaju topljivost lijekova.

Svi kationski tenzidi sadrže barem jedan dugi alkilni lanac koji tvori bazu hidrofobnog dijela molekule. Tradicionalni izvor hidrofobnog dijela definitivno su triacilgliceridi iz biljnih i životinjskih izvora. Ulja i masti visoke kvalitete usmjeravaju se u prehrambenu industriju, dok se oni lošije kvalitete koriste za izradu kationski aktivnih tvari. Primjeri kationskih tenzida su cetil trimetilamonij bromid (CTAB) ili cetil trimetilamonij klorid (CTAC), cetil piridin klorid (CPC), benzalkonium klorid (BAC), benzthionium klorid (BZT), oktadecildimetilamonijev bromid (DODAB). CPC je kvaterni amonijev spoj, čija je struktura prikazana na slici 1, koji se najčešće koristi u pastama za zube i vodicama za ispiranje usne šupljine. U kontaktu s bakterijama uzrokuje promjene u staničnoj membrani bakterije, inhibira funkciju stanice, uzrokuje curenje staničnog materijala, te u konačnici uzrokuje apoptozu stanice.



Slika 1. Struktura CPC-a [5]

1.2.4.1. Utjecaj kationskih tenzida na okoliš i čovjeka

Visoka toksičnost za mikroorganizme, a niska toksičnost za sisavce i čovjeka razlog je zašto su kationski tenzidi u tako širokoj upotrebi kao sredstva za dezinfekciju i sanitaciju. Međutim, zabilježeni su slučajevi kada jako visoka doza kationskih tenzida može imati kobne posljedice za živčani sustav, iako su takvi slučajevi vrlo rijetki [4]. Veću prijetnju ljudskom zdravlju predstavlja ozljeda uzrokovana izloženosti kože, oka ili ostalih sluznih membrana kationskim tenzidima. No s obzirom da su određene točne koncentracije tenzida u kozmetičkim i antibakterijskim proizvodima, ozljede su također vrlo rijetka pojava. Što se tiče okoliša, negativno nabijena tla i sedimenti vrše jaku apsorpciju pozitivno nabijenih tenzida inhibirajući biodegradaciju. Ova ista apsorpcija čini ih rijetko prisutnima u podzemnim vodama unatoč njihovoj dobroj topivosti. Isto tako sintetski izrađeni kationski tenzidi mogu biti poprilično toksični za vodene beskralješnjake, no njihovo vezanje na negativno nabijene sedimente smanjuje tu biodostupnost samim time i toksičnost [4]. Tenzidi također imaju i određene negativne učinke na površinske vode, a to su: smanjenje koncentracije kisika, smanjenje kvalitete vode zbog pjene koja nastaje, redukcija kapaciteta rijeke da se sama čisti, apsorbiraju se na krute čestice onemogućavajući sedimentaciju, utječu na prijenos plinova među bakterijskim stanicama te već spomenuta toksičnost na vodene životinje [4].

Konačna sudbina sintetski napravljenih kationskih tenzida je biodegradacija. Biodegradacija se opisuje kao uništavanje kemikalije metaboličkim aktivnostima mikroorganizma [6]. Razlikuje se primarnu i ultimativnu biodegradaciju. Primarna se odnosi na proces kada tenzidi više nisu površinski aktivni dok se ultimativna, često zvana i mineralizacija odnosi na proces kada se tenzidi degradiraju na ugljikov dioksid, vodu, dušikov oksid i sumporov dioksid. Degradacija površinski aktivnih tvari je primarna transformacija koja se odvija u okolišu i važan proces koji se zbiva u kanalizacijskom sustavu i sirovom otpadu. Tijekom biodegradacije mikroorganizmi iskorištavaju površinski aktivne tvari kao supstrate za proizvodnju vlastite energije i nutrijenata [6]. Biodegradacija ovisi o brojnim faktorima, a najvažniji od njih su fizikalno-kemijske karakteristike spoja, fizikalno-kemijski uvjeti u okolišu u kojem se odvija degradacija te o mikroorganizmima koji vrše degradaciju. Važan faktor koji utječe na razgradnju, osobito u kanalizacijskim sustavima, je temperatura. Brzina kojom se kemikalije raspadaju u kanalizaciji može se razlikovati za faktor pet tijekom ljetnih i zimskih dana u zapadnoj Europi [7]. Dobro topivi tenzidi se brzo razgrađuju dok oni lipofilni sporo, osim hidrofilnosti važno je da spoj ima vezu koja će se spremno pokidati. Kako bi se ubrzala biodegradacija postala je praksa da se u sintetski priravljene tenzide nasumično dodaje slaba veza koja će se spremno pokidati, najčešće između hidrofilne glave i hidrofobnog repa [7]. Još je jedan važan faktor razgranatost hidrofobnog repa. Što ima više grana, to je manja brzina degradacije, teže se veže na aktivno mjesto enzima zbog steričkih smetnji. Većina se tenzida može razgraditi u okolišu pod različitim uvjetima, međutim postoje vrste koje se ne mogu razgraditi pod anaerobnim uvjetima. Biodegradacijski se testovi koriste kako bi se evaluirala razgradivost tenzida. Otkriveno je da što je dulji alkilni lanac, to su tenzidi lakše razgradivi. Mnoštvo testova postoji kako bi se otkrila takozvana spremnost razgradnje. Osobito su važni testovi oni koji daju rezultate koji se odnose na ultimativnu biodegradaciju. Primjer jednog od njih je „Sturm test“, koji prikazuje konverziju u ugljikov dioksid kao funkciju vremena. Test se izvodi u zatvorenim bocama u kojima se nalazi uzorak mulja iz kanalizacijskog sustava. U dio se boca dodaje tenzid, a u dio ne. Plin koji se razvija se mjeri u odnosu na vrijeme te razlika među uzorcima daje rezultate povezane sa degradacijom [7].

1.2.4.2. Dermatološki problemi povezani s tenzidima

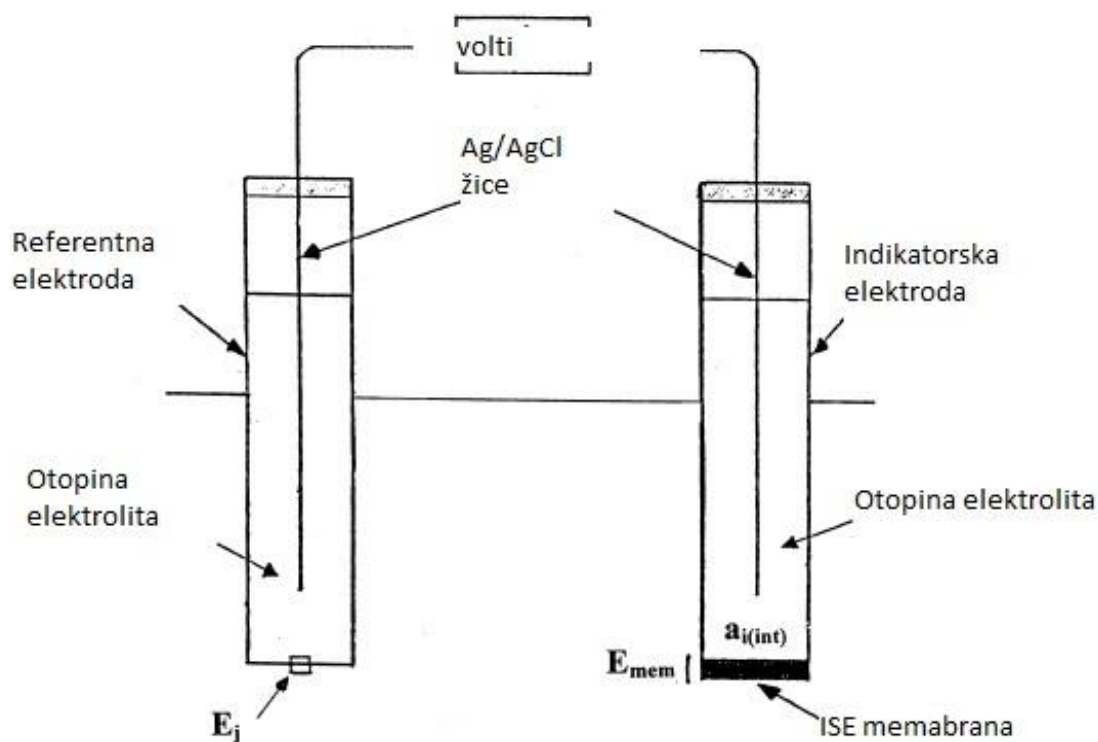
Dermatološki problemi uzrokovani tenzidima su važan problem današnjice. S obzirom na njihova specifična svojstva pojavljuju se u sredstvima osobne higijene, odnosno u otopinama koje se svakodnevno stavljaju na kožu izazivajući iritaciju kože, a nusprodukti mogu čak izazvati i alergijske reakcije. Dobro je poznat primjer alergijskih reakcija koje su pogodile Nizozemsku 1960. godine pod nazivom „Bolest margarina“ [7]. Kao uzročnik alergijama je otkriven novi tenzid koji se dodavao u margarin kao „agens protiv prskanja“, tenzid koji je održavao kapljice vode fino dispergirane kako nebi dolazilo do prskanja tijekom prženja. Agensi koji izazivaju alergije su elektrofili koji reagiraju sa nukleofilnim skupinama proteina tvoreći neprirodne derivate proteina koje tijelo ne prepoznaje. Tenzid iz margarina je sadržavao znatne količine neizreagiranog međuprodukta, derivata maleinskog anhidrida. Nakon cijelog tog slučaja provedena su brojna istraživanja o učincima tenzida na kožu [7]. Tenzidi za koje se smatra da su „najblaži“ prema koži su: amfipatski tenzidi, alkilni glukozidi, betaini i amidobetaini, stoga se oni najčešće koriste u kozmetici. Istraživanja su pokazala da za homologne serije tenzida stupanj iritacije ovisi o duljini ugljikovodičnog lanca. Komparativna istraživanja alkilnih glukozida s različitim brojem ugljikovih atoma, (usporedba se radila na spoju sa osam, deset, dvanaest, četrnaest i šesnaest ugljikovih atoma), maksimalna iritacija se pojavila u kontaktu glukozida sa dvanaest ugljikovih atoma [7]. Povećanjem duljine ugljikovodičnog lanca vodi do povećanja površinske aktivnosti tenzida (postiže se ravnoteža između hidrofilne i hidrofobne skupine), a samim time se povećava i stupanj iritacije.

1.3. Tehnike analize tenzida

1.3.1. Potenciometrija

Potenciometrija je metoda u kojoj se mjeri razlika potencijala između dvije elektrode elektrokemijske ćelije uz ravnotežne uvjete. Napon se mjeri na način da ćelijom ne teče struja, odnosno da je ona zanemarivo mala te da ne utječe na ravnotežno stanje, odnosno

sastav ostaje nepromjenjen. U potenciometrijskim mjerenjima razliku potencijala između dvije elektrode određuje potencijometar. Shema elektrokemijskog članka prikazana je na slici 2. Mjerenja se provode uz uporabu referentne i indikatorske elektrode [8]. Potencijal indikatorske elektrode ovisi o aktivitetu jedne ili više ionskih vrsta prisutnih u otopini, dok je potencijal referentne elektrode konstantan i potpuno neovisan o aktivitetu iona prisutnih u otopini. Idealna referentna elektroda mora pružati stabilan potencijal tako da bilo koja promjena potencijala u sustavu se odnosi na promjenu koncentracije analita odnosno promjenu potencijala indikatorske elektrode. Kao referentne elektrode koriste se vodikova, kalomelova i elektroda srebro/srebrov klorid. Standardna vodikova elektroda se sastoji od platine uronjene u otopinu vodikovih iona čiji aktivitet je 1 i tlak je jednak jednoj atmosferi. Potencijal joj je jednak 0 V pri svim temperaturama. Kalomelova elektroda se sastoji od žive uronjene u zasićenu otopinu živina (I) klorida i kalijeveg klorida točno poznate koncentracije. Najraširenije korištena elektroda je srebro/srebrov klorid, sastoji se od srebrove elektrode uronjene u zasićenu otopinu srebrova klorida i kalijeveg klorida točno određene koncentracije. Prednost srebrove elektrode nad kalomelovom je to što se može koristiti pri velikim temperaturama.



Slika 2. Shematski dijagram elektrokemijske ćelije za potenciometrijska mjerenja [8]

Indikatorske elektrode se razlikuju po načinu nastajanja potencijala na dodirnoj površini elektroda-otopina. Ova razlika potencijala posljedica je elektrokemijske reakcije na površini elektrode. Dvije su temeljne vrste indikatorskih elektroda: kovinske elektrode i selektivne (membranske) elektrode. Kod kovinskih elektroda razlika potencijala na dodirnoj granici elektroda-otopina posljedica je redoks-reakcije na elektrodi. Kod membranskih elektroda potencijal elektrode proizlazi iz promjene slobodne entalpije reakcije prijelaza iona, ionskom izmjenom, adsorpcijom, ekstrakcijom ili drugim načinom, kroz međusloj membrana-ispitivana otopina [9].

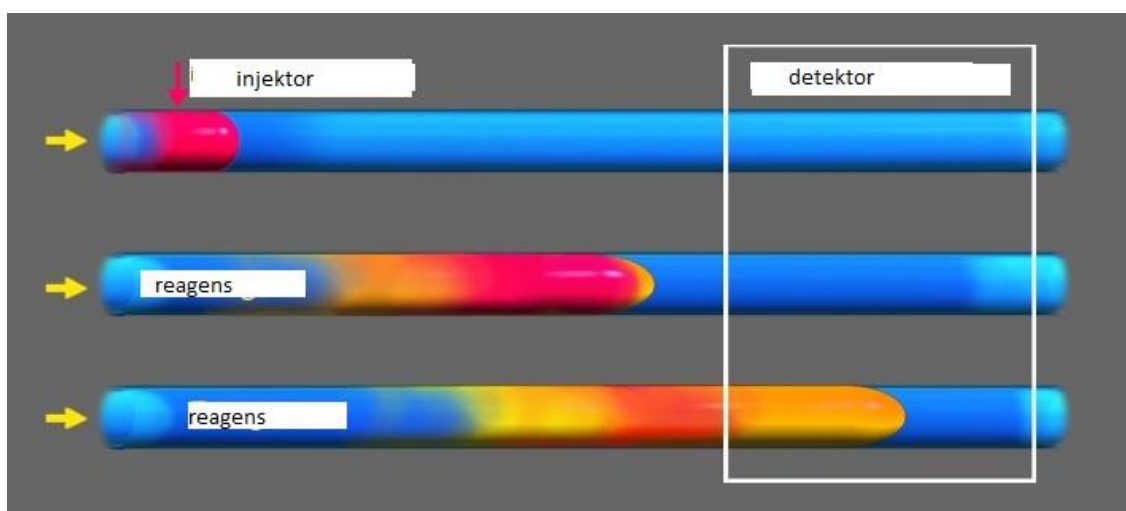
1.3.2. Potenciometrijska titracija

Jedna od direktnih primjena potenciometrije je potenciometrijska titracija. U potenciometrijskim titracijama mjeri se potencijal prikladne indikatorske elektrode kao funkcije dodanog volumena titranta. Potenciometrijske titracije pružaju podatke koji su pouzdaniji nego oni koje daju klasične titracije s indikatorima [10]. One pružaju dodatnu prednost nad direktnom potenciometrijom jer se mjerenje bazira na volumenu titranta koji uzrokuje brzu promjenu u potencijalu blizu točke ekvivalencije, a nisu ovisne o mjerenju apsolutne vrijednosti potencijala ćelije. Rezultati titracije najviše ovise o točnosti koncentracije titranta. Prednosti titracija je u njihovoj neovisnosti o efektima ionske jakosti otopine. Koristi se nekoliko metoda za određivanje završne točke titracije. Jedna od najizraženijih je mjerenje potencijala ćelije kao funkcije dodanog volumena titranta i vizualno procjenjivanje točke infleksije, mjesta gdje krivulja strmo raste. Drugi način je računanje prve derivacije podataka te se crta krivulja ovisnosti prve derivacije o prosječnom volumenu titranta te maksimum krivulje odgovara točki infleksije. Ako je krivulja simetrična točka maksimuma ujedno odgovara i točki ekvivalencije [10]. S obzirom da se tenzidi nalaze u proizvodima koji se koriste svakodnevno važna je njihova detaljna analiza zbog kontrole kvalitete. Jedna od metoda koje se koriste je i potenciometrijska titracija površinski aktivnih tvari. Indikator u takvim titracijama je tenzidno selektivna elektroda, koja se sastoji od PVC membrane ili štapića grafita koji sadrži nosioca iona. Najvažniji dio elektrode je membrana, koja se sastoji od ionskog asocijata, ionofora, te odgovarajućeg plastifikatora i PVC matrice. Ionofor je odgovoran za elektroaktivnost membrane. Potencijal nastaje interakcijom između nosioca iona u

membrani i analita u otopini uzorka. Tijekom titracije tenzid tvori netopivi kompleks koji vodi do promjene potencijala dajući krivulju S-oblika. Potencijal nastaje na površini između membrane i otopine, mjeri se tokom cijele titracije jer je potencijal referentne elektrode jednak nuli.

1.3.3. Analiza injektiranjem u protok (FIA)

Analiza injektiranjem u protoku je razvijena sredinom 1970-tih godina kao visoko učinkovita tehnika za automatiziranu analizu uzoraka [10]. Nastala je kao posljedica brzo rastućeg trenda, automatizacije kemijske analize. FIA je jedna od metoda kontinuiranog protoka, bazirana na injektiranju uzorka u struju nosioca. Na dodirnim površinama injektiranog uzorka i reagensa nastaje produkt koji prolazi preko detektora te uzrokuje promjenu u signalu koja se mjeri. Proces prolaska uzorka nošenog reagensom kroz ćeliju može se podijeliti u tri koraka koji su prikazani na slici 3.



Slika 3. Shematski prikaz kontinuiranog toka kod FIA sustava [11]

Prvi korak je injektiranje uzorka, točan volumen analita injektira se u struju otopine nosioca. Kako se struja uzorka (na slici prikazano crvenom bojom) kreće prema detektoru, disperzijom se uzorak mješa sa reagensom tvoreći produkt (prikazan žutom bojom) [11]. Trajanje miješanja određeno je brzinom protoka, volumenom kanala i njegovom geometrijom. Reakcijska smjesa prolazi kroz detektor dajući analitički izvještaj. Vremenski interval između injektiranja uzorka i njegove detekcije se može reproducirati.

Na taj se način svi uzorci analiziraju na isti način, omogućavajući usporedbu sa standardima. S obzirom na injektiranje uzorka, može se razlikovati injektiranje s obzirom na volumen i injektiranje s obzirom na vrijeme. Injektiranje s obzirom na volumen uključuje punjenje omče sa uzorkom, odbacivanje viška uzorka, volumen omče određuje koliki se volumen uzorka može injektirati. Omče su cijevi kojima putuju otopine. Injekcija koja se bazira na volumenu omče je osobito učinkovita kada se koriste mali volumeni uzorka. Injekcija koja se bazira na vremenu uključuje uređaj koji mjenja položaje tokova, s promjenom na jednom toku uzorak se dovodi do detektora a višak reagensa odbacuje. Nakon vremena koje je potrebno da odabrani volumen uzorka prođe kroz ćeliju, sklopka se uključuje na način da reagens prolazi kroz analitički put i ispire sustav. Ovakva je tehnika prikladna kada se koriste veće količine uzorka jer rezultira u manjoj disperziji u analitičkom putu. Većina sustava koristi peristaltičke pumpe. Peristaltička pumpa se sastoji od setova valjaka prikačenih na vanjsku stranu rotirajućeg bubnja. Cijevi rezervoara reagensa smještene su između valjaka i fiksirane ploče. Kako se bubanj okreće, tako valjci stižu cijevi, tjerajući sadržaj cijevi da se kreće u smjeru rotacije. Peristaltičke pumpe sposobne su omogućiti konstantnu brzinu protoka, koja je kontrolirana brzinom okretanja bubnja i unutarnjim promjerom cijevi. Jedino ograničenje peristaltičkih pumpi je to što proizvode pulsni tok, osobito pri velikim brzinama protoka, što može dovesti do oscilacija u signalu. Uzorak se injektira u struju nosioca, najčešće se koristi ubrizgavač poput onog koji se koristi u HPLC-u [12].

1.3.3.1. Temeljni principi FIA sustava

Tri glavna principa na kojima se temelji FIA su : injekcija uzorka, kontrolirana disperzija i ponovljivo vrijeme potrebno za prolaz zone uzorka od točke injekcije do detektora. Iako počiva na sva tri principa, njen glavni problem je kontrolirana disperzija. Specifično svojstvo procesa disperzije u analizi je to što je precizno, kontrolirano i lako ponovljivo kroz manipulaciju parametara toka i geometrijskih dimenzija cijevi [11]. Glavne sile u disperziji su difuzija i konvekcija, konvekcija dominira nad difuzijom toliko da ju se može i zanemariti. Konvekcija nastaje zbog laminarnog gibanja toka u kojem se centar fluida giba brže nego tekućina uz stijenke, stoga tvori parabolični prednji izgled. Dva tipa difuzije se mogu dogoditi a to su : radijalna odnosno okomita na smjer širenja fluida i

longitudinalna odnosno paralelna sa smjerom širenja fluida. Pod specifičnim uvjetima koji se primjenjuju u analizi djelujuće sile su uvijek pod kontrolom kako ne bi došlo do nasumičnih turbulencija.

Tradicionalne metode „mokre kemijske analize“ omogućavaju homogeno i trenutno mješanje uzorka s reagensom, dok se kod analiza u protoku omogućava postupna disperzija zone uzorka, te nastaje koncentracijski gradijent kako se uzorak giba prema detektoru. Odziv FIA tehnike je rezultat dva procesa: fizikalnog procesa disperzije uzorka i kemijskog procesa nastajanja kemijske vrste. Stoga je važno napraviti uređaj na način da je radijalna disperzija maksimalna a aksijalna kontrolirana [13]. Zone fluida se mogu manipulirati na način da nastaju različiti stupnjevi disperzije. Kako bi se kvantitativno izrazio opseg disperzije uvodi se izraz koeficijent disperzije. Definira se kao omjer koncentracija konstituenta prije i poslije disperzije. Volumen injektiranog uzorka je najvažniji faktor koji utječe na disperziju. Disperzija se smanjuje s povećanjem volumena uzorka. Samim time smanjenje disperzije kao rezultat ima i smanjenje brzine toka fluida. Disperzija uzorka se povećava drugim korjenom udaljenosti koju mora prijeći u otvorenoj, uskoj cijevi.

Može se povući paralela FIA sustava sa tradicionalnim analizama: cijevi služe kao rezervoari otopina i kao posude za prijenos, injekcijski ventil kao mikropipeta dok je pumpa zamjenila tehničara [13]. FIA je vrlo uspješna u pojednostavljenju kemijskih analiza, neki od glavnih razloga njena uspjeha su: automatizacija, redukcija troškova, visoka preciznost, velika brzina uzorkovanja, mala potrošnja uzoraka i reagensa te mala proizvodnja otpada, jednostavnost instrumentacije. Zbog svih navedenih prednosti primjenu je našla u svim područjima znanosti i industrije, osobito u medicini, farmaciji, kemiji i prehrambenoj industriji.

1.3.4. Sekvencijska injekcijska analiza (SIA)

Kod sekvencijske injekcijske analize mjeri se analitički signal niza tekućih segmenata uzorka i reagensa koji prolaze kroz detektor. To je tipično mjerenje toka no esencijalno kod SIA tehnike je znatno smanjenje potrošnje uzorka i reagensa. U najjednostavnijoj konfiguraciji zona uzorka i zona reagensa su injektirane jedna pokraj druge u struju

otopine nosioca. Tijekom promjene toka struje nosioca, zona uzorka i reagensa se dispergiraju jedna u drugoj, dok produkt nastaje na njihovoj dodirnoj površini. Temeljni princip sekencijske analize je mogućnost programiranja toka. Svaki mjerni krug počinje usisavanjem precizno odmjerenog volumena kroz višepozicijski ventil u navoj uređaja pomoću pumpe koja pokreće otopine u suprotnom smjeru od smjera u kojem se nalazi detektor. Potom se ventil okreće na mjesto reagensa i uvlači točno određen volumen reagensa u navoj. Na kraju se ventil okreće na poziciju detektora i pumpa pokreće segmentirane zone prema naprijed. S obzirom da se središnja linija toka giba duplo brže od same brzine ukupnog toka, a dijelovi fluida uz cijevi se gibaju sporije, jezgre zona prodiru jedna u drugu. Ako geometrija omče omogućava radijalno mješanje, zone analita i reagensa se pomješaju i daju produkt odnosno vrstu koja se detektira. Zone produkta se mogu provlačiti kroz detektor kontinuirano ili se zaustaviti u samom detektoru, što omogućava mjerenje brzine formacije reakcijskog produkta. SIA daje kinetičku informaciju te dopušta dulje vrijeme reakcije [14]. Najveća prednost SIA tehnike nad FIA je to što nisu potrebne nikakve fizičke rekonfiguracije puta kojim fluid teče. Sve promjene se vrše isključivo programski. Kod SIA sustava injektirana zona prolazi „ušće“ gdje se dva toka sinkronizirano spajaju, tako da je jednak volumen reagensa dodan svakom elementu prolazećoj struji nosioca. Rezultat je koncentracijski gradijent analita u podlozi reagensa. S obzirom da SIA izbjegava brze dostave uzorka detektoru, omogućava bolje mješanje i kompletniju reakciju. Ostvaruje to na već spomenuti način, brzim promjenama u toku nosioca sve dok željeni stupanj reakcije nije ostvaren. SIA je bolja verzija FIA sustava odnosno rješava sve njene nedostatke, sustav je pojednostavljen i postižu se znatne uštede što se tiče cijene i količine otopina.

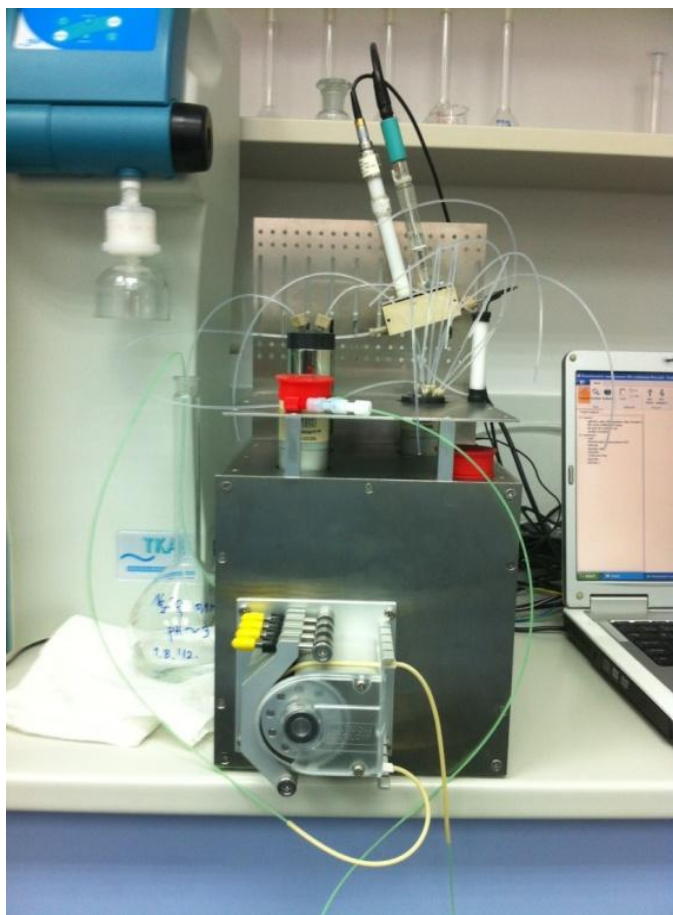
2. Eksperimentalni dio

2.1. Reagensi i otopine

Otopine korištene prilikom analize su: standardna otopina cetil piridinijevog klorida (CPC) ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ M), natrijev dodecil sulfat (NaDDS) ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ M) kao titrant, deionizirana voda, natrijev sulfat (Na_2SO_4) ($c = 0.01$ M).

2.2. Aparatura

Za izvođenje potenciometrijske titracije korišten je 794 Basic Titrino (Metrohm, Švicarska), kombiniran s Metrohm 806 Exchange units (Metrohm, Švicarska) kontrolirani s Tiamo softverom. Za ispitivanje odzivnih karakteristika koristio se isti sustav kao i za potenciometrijske titracije, a program kojim je sustav kontroliran je kućne izrade. Otopine su tijekom titracije miješane magnetskom mješalicom. Mjerenja su se radila s screen printed elektrodom, proizvođač je Drop Sense a komercijalna oznaka elektrode DRP 110, na elektrodu je nanescena otopina otopina kompleksa. Za mjerenje odziva elektrode u FIA sustavu korišten je FIA/SIA sustav kućne izrade kojim je upravljano programom kućne izrade a protočna ćelija je komercijalna, sustav je prikazan na slici 4.



Slika 4. FIA/SIA sustav kućne izrade

2.3. Tenzidni senzor

Za mjerenja je korištena screen printed elektroda, proizvođač je Drop Sense a komercijalna oznaka elektrode DRP 110, na elektrodu je nanescena otopina otopina kompleksa. 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.

2.4. Postupak

2.4.1. Direktna potenciometrija

Odziv tenzidnog senzora na kationske tenzide mjerio se direktnom potenciometrijom, mjereći potencijal CPC u vodi. Volumen deionizirane vode korišten za potenciometriju je bio 20 mL, koncentracija korištenog CPC $5 \cdot 10^{-5}$ M. Postupak je ponovljen nekoliko puta, pri sobnoj temperaturi bez podešavanja pH vrijednosti i ionske jakosti.

Direktna potenciometrija se radila i pomoću FIA/SIA uređaja kućne izrade. Priređene su otopine CPC različite koncentracije, $5 \cdot 10^{-5}$ M, $1 \cdot 10^{-4}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M, podešena je samo ionska jakost pomoću natrijeva sulfata (Na_2SO_4 , $c = 0.5$ M). Mjereni su potencijali različitih koncentracija otopina kationskog tenzida u FIA uređaju. Mjerenja su se vršila pri sobnoj temperaturi.

2.4.1.1. Nerstov izraz za odziv senzora na kationske tenzide

Elektromotorna sila tenzidnog senzora uronjena u otopinu kationskog tenzida definirana je Nernstovom jednačinom:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln a_{\text{CS}^+} \quad (1)$$

$$E = E^0 + \frac{2.303RT}{nF} \log a_{\text{CS}^+} \quad (2)$$

$$S = \frac{2.303RT}{nF} = \frac{0.59}{n} \quad (3)$$

$$E = E^0 + S \log a_{\text{CS}^+} \quad (4)$$

gdje je E^0 konstantni izraz za potencijal, S nagib danog senzora te a_{CS^+} aktivitet kationskog tenzida.

2.4.2. Potenciometrijska titracija

Prilikom mjerenja korištena je otopina analita koja je sadržavala: 5 mL CPC ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ M) i 20 mL deionizirane vode, kao titrant se koristila standardna otopina NaDDS ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ M). Ukupni volumen analita za sva mjerenja je bio 25 mL. Mjerenja su se vršila pri sobnoj temperaturi, bez podešavanja ionske jakosti i pH vrijednosti.

2.4.2.1 Reakcija između analita i titranta

Senzor koji se koristi pri potenciometrijskim titracijama precizno ukazuje na završnu točku titracije kationskog tenzida anionskim. Kationski tenzid (analit = CS^+) reagira tijekom titracije s anionskim (titrant = AS^-), tvoreći netopivi ionski par CS^+AS^- , koji disocira prema jednađbi :



Za navedenu ravnotežu produkt topljivosti se definira kao :

$$K_{sp} = a(CS^+)a_{\gamma}(AS^-) \quad (6)$$

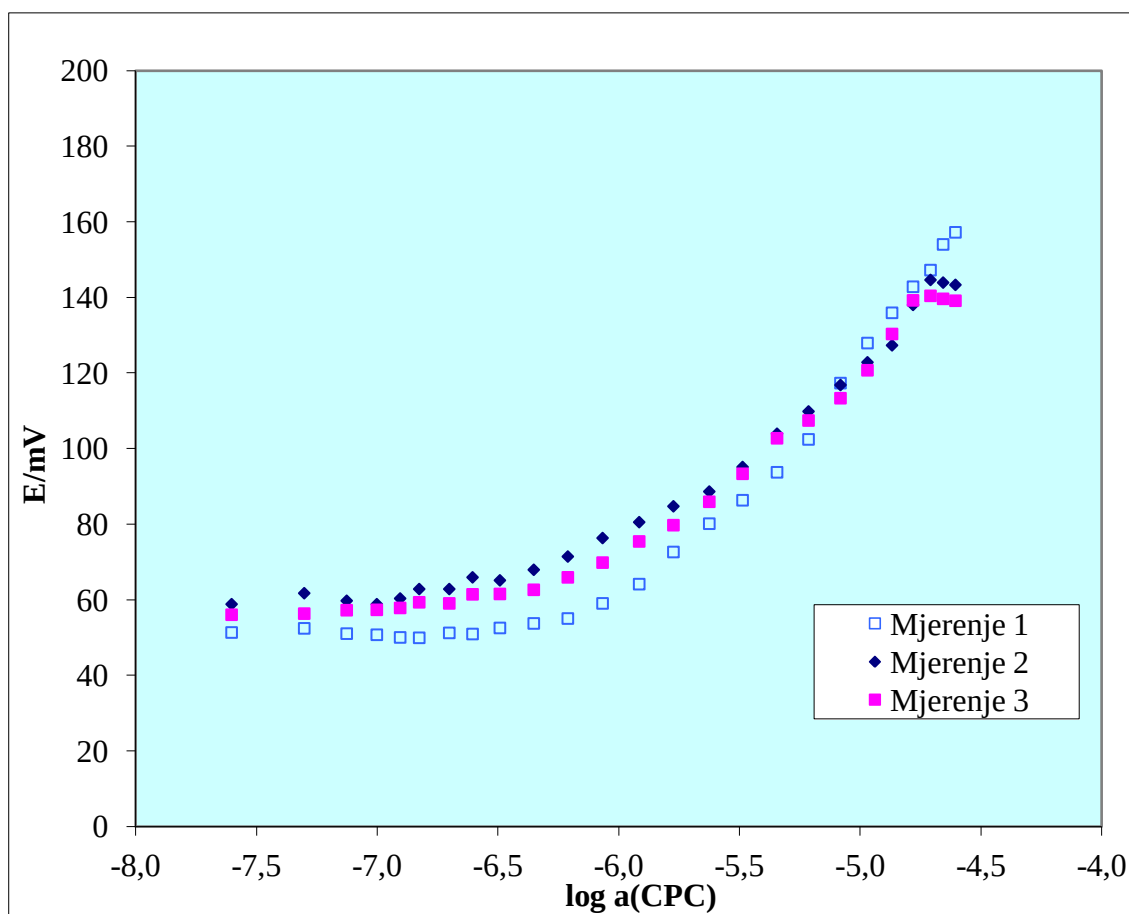
U kojem su $a(CS^+)$ i $a_{\gamma}(AS^-)$ aktiviteti odgovarajućih iona tenzida.

Prije točke ekvivalencije smanjenje potencijala senzora odgovara promjeni koncentracije kationskog tenzida prema jednađbi (4). Nakon točke ekvivalencije, kada je istaložen cijeli kationski tenzid opaža se promjena u potencijalu zbog povećanja koncentracije anionskog tenzida.

3. Rezultati i rasprava

3.1. Odziv tenzidnog senzora na kationske tenzide, konvencionalni postupak

Odziv tenzidnog senzora DDA-TPB na kationski tenzid CPC, mjeren pomoću direktne potenciometrije postupkom koji je opisan u prethodnom tekstu, prikazan je na slici 5.

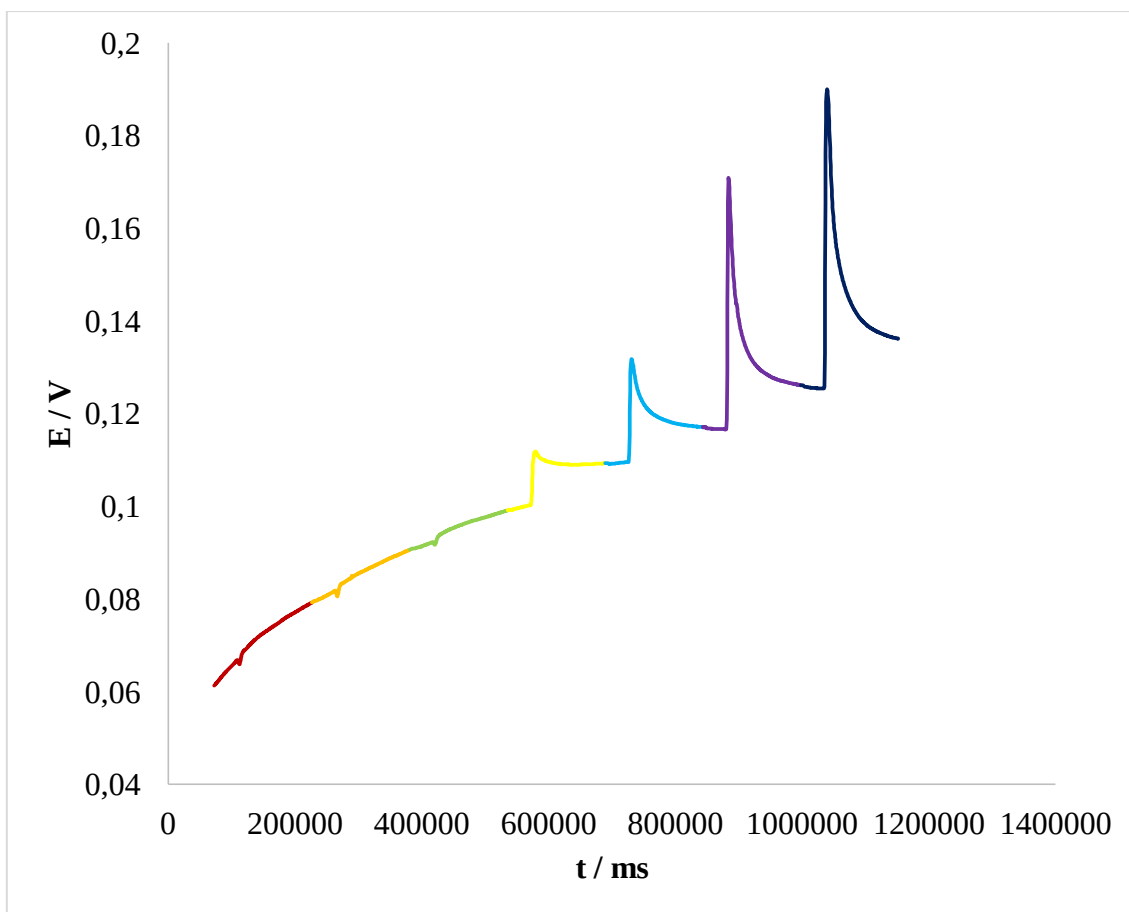


Slika 5. Odziv mikrosenzora na kationski tenzid CPC

Mjerile su se odzivne karakteristike senzora prema CPC ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ M) u 20 mL deionizirane vode dodavani su inkrementi CPC prema unaprijed zadanom vremenskom intervalu. Senzor daje odziv koji slijedi Nernstovu jednadžbu. Vrijednosti nagiba pravca i koeficijenta korelacije dobivene su pomoću linearne analize grafova s metodom linearne regresije. Dobiveni nagib pravca je 39.79, a koeficijent korelacije 0.9785. Odstupanja pri višim koncentracijama se javljaju zbog nastajanja micela tenzida.

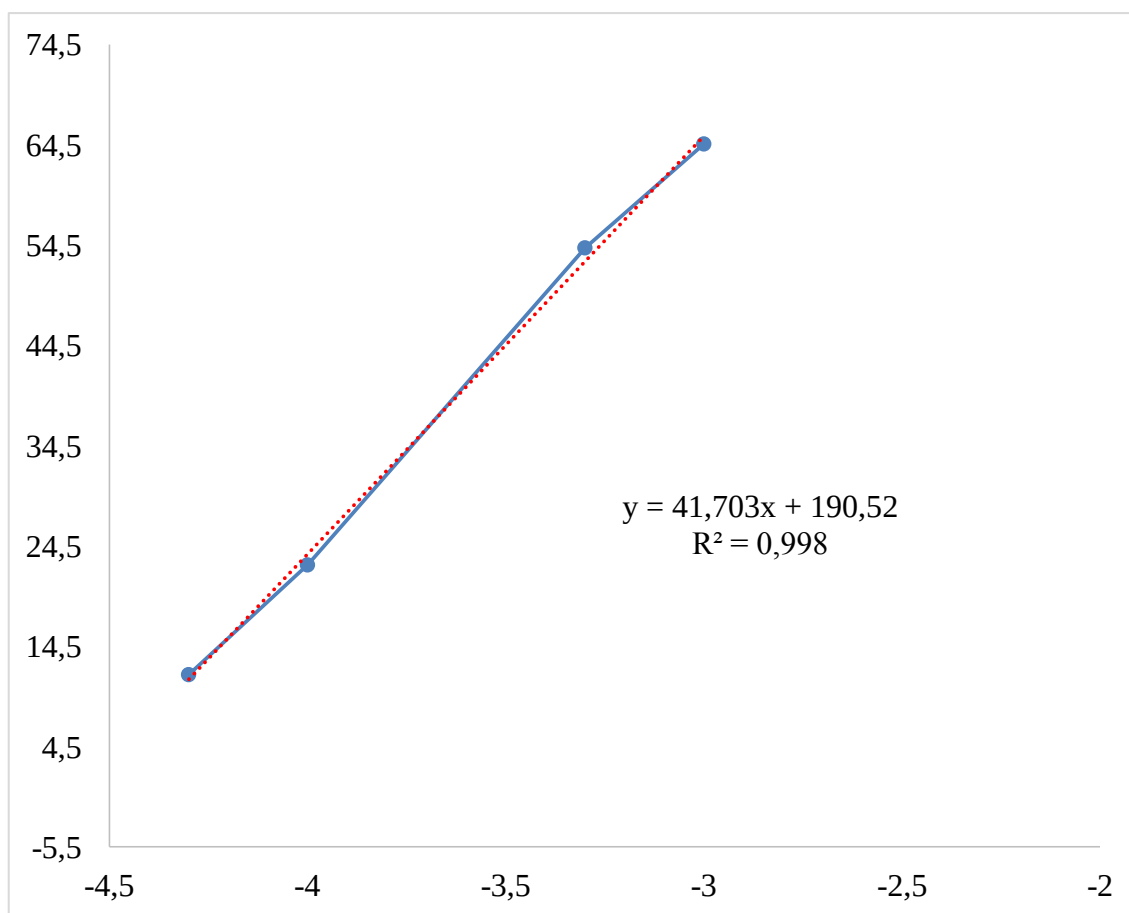
3.2. Odziv tenzidnog senzora na kationske tenzide, FIA/SIA postupak

Odzivne karakteristike senzora mjerene su pomoću FIA sustava, otopine CPC u rasponu koncentracija od $1 \cdot 10^{-6}$ M do $1 \cdot 10^{-3}$ M, injektirane su u otopinu nosioca 0.01 M Na_2SO_4 . Odziv senzora je prikazan na slici 6.



Slika 6. Potenciometrijski signal screen-printed mikrosenzora u otopinama CPC koncentracije: $1 \cdot 10^{-6}$ M (—), $5 \cdot 10^{-6}$ M (—), $1 \cdot 10^{-5}$ M (—), $5 \cdot 10^{-5}$ M (—), $1 \cdot 10^{-4}$ M (—), $5 \cdot 10^{-4}$ M (—), $1 \cdot 10^{-3}$ M (—)

Napravljeni su nizovi mjerenja i podaci su analizirani pomoću regresijske analize, dobivena je linearna ovisnost potencijala i logaritma koncentracije kationskih tenzida, prikaz na slici 7. Odlično detektira i najniže koncentracije CPC, u ovom slučaju $1 \cdot 10^{-6}$ M.

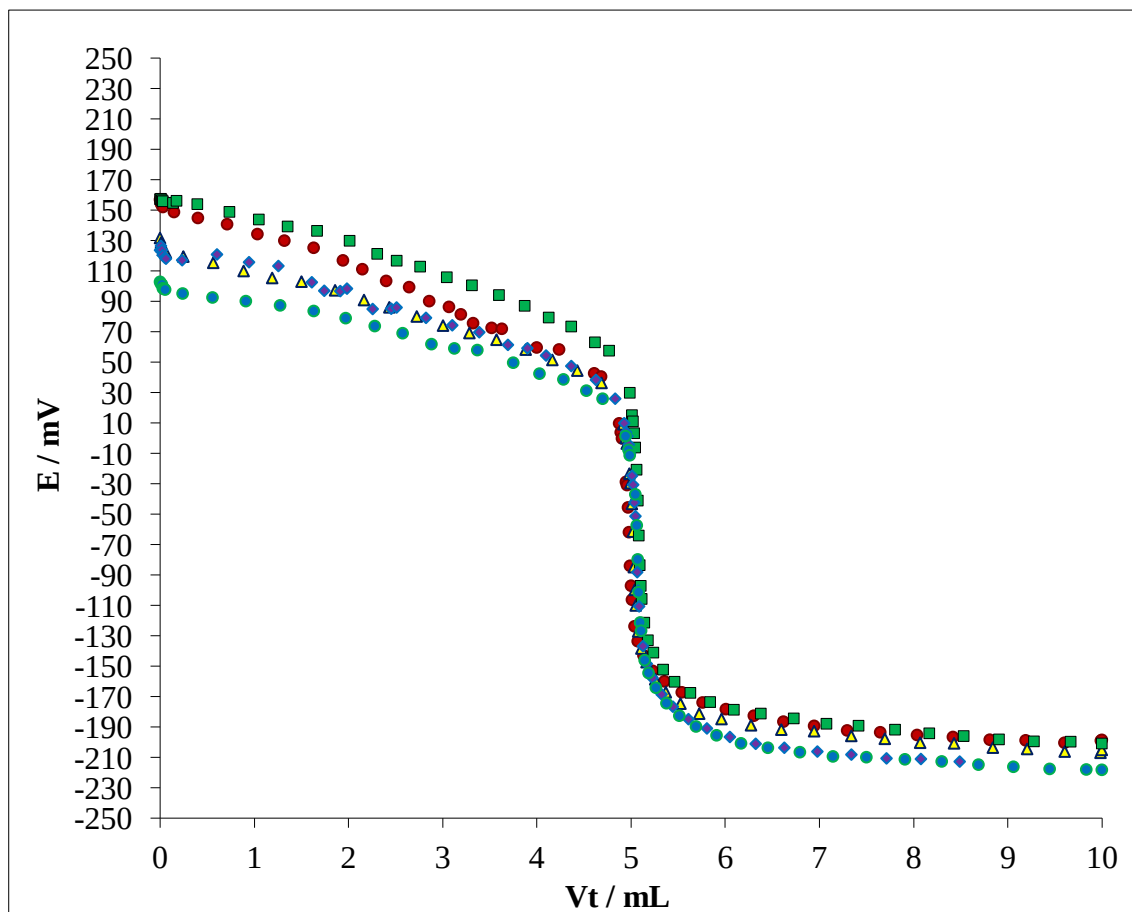


Slika 7. Grafički prikaz ovisnosti vrijednosti potencijala o logaritmu koncentracije CPC, dobiveni pomoću FIA metode

Pretpostavka je da su odstupanja od linearnosti doprinosi slučajnih pogrešaka prilikom pripreve otopina ili uvjeta mjerenja. Kada su se mjerenja vršila pri višim temperaturama od sobne odstupanja od linearnosti su bila veća zbog prolaska mjehurića zraka kroz aparaturu. Linearnom regresijom je izračunat nagib pravca koji iznosi 41.703 i koeficijent korelacije 0.998, koji daju dobro slaganje sa prethodnim mjerenjima vršenim pomoću konvencionalnih metoda.

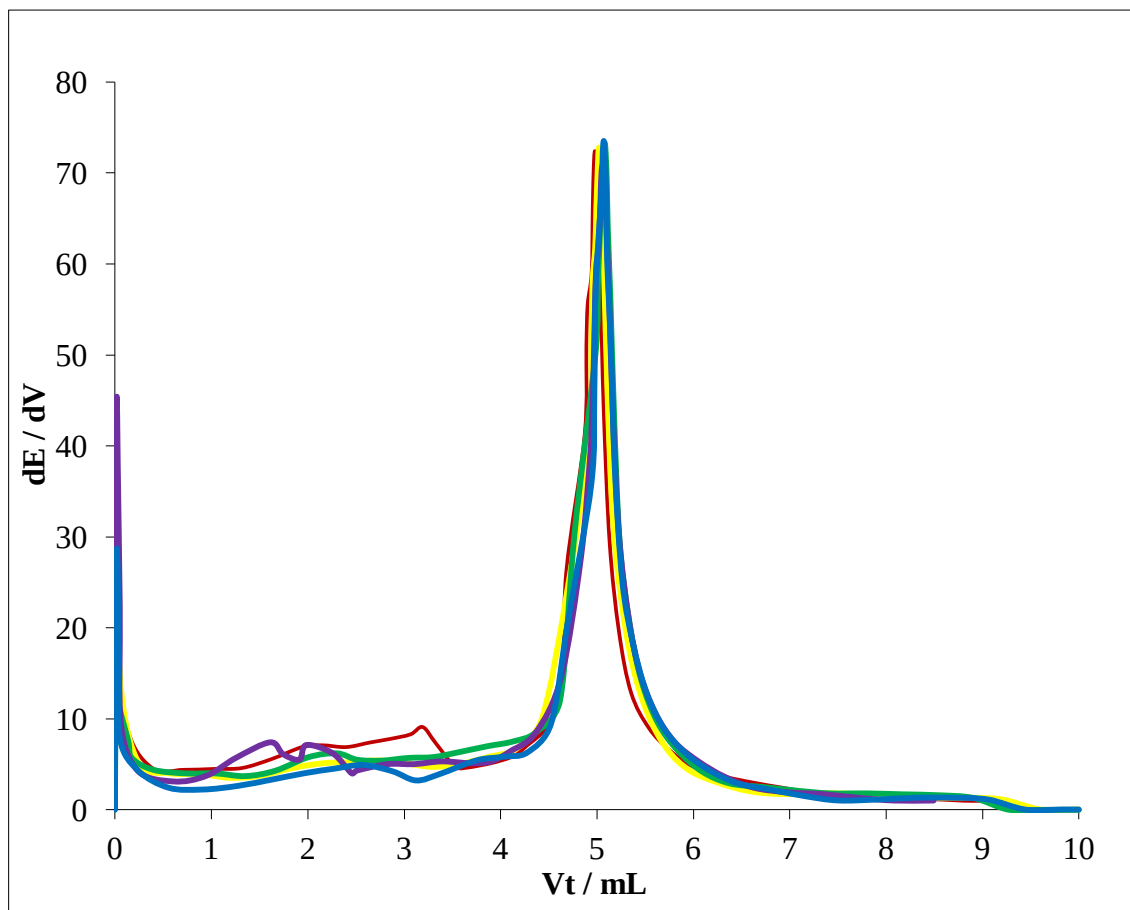
3.3. Potenciometrijska titracija kationskih tenzida

Standardna otopina NaDDS je korištena kao titrant u potenciometrijskoj titraciji s CPC. Potenciometrijska krivulja titracije prikazana je na slici 8.



Slika 8. Potenciometrijske titracijske krivulje CPC koristeći NaDDS kao titrant

Točka infleksije titracijske krivulje je dobro definirana i oštra, s odličnim skokovima potencijala na točki ekvivalencije. Točka ekvivalencije potenciometrijske titracije se može odrediti i iz grafa prve derivacije potencijala prikazanog na slici 9, maksimum krivulje je dobro definiran te odgovara točki ekvivalencije.



Slika 9. Prikaz ovisnosti prve derivacije potencijala o volumena titranta tijekom titracije CPC s NaDDS.

Poslije točke ekvivalencije, senzor odgovara na promjenu u naboju zbog prevladavanja anionskog tenzida, dolazi do smanjenja u potencijalu. Prema podacima i grafovima može se zaključiti da veličina točke infleksije odgovara topljivosti nastalog produkta. Regresijska analiza podataka je vršena nad pet mjerenja i podaci su prikazani u tablici 1.

Tablica 1. Statistika odzivnih karakteristika senzora

Parametri	NaDDS/mL	Točka ekvivalencije/mV
Srednja vrijednost	5,0443	-70,8200
SD	0,041043879	7,897278
RSD(%)	0,81366848	11,151197
Pouzdanost	0,03597589	6,9221422

4. Zaključak

Kationski tenzidi se nalaze u proizvodima koje koristimo svakodnevno, zato su važne metode njihove analize. Zbog očuvanja okoliša a i ljudskog zdravlja je važna kontrola kvalitete vode, sirovina i gotovih proizvoda. FIA je prekretnica u automatiziranim analizama, koja na brz, jednostavan i efikasan način vrši analizu velikog broja uzoraka. Potenciometrijska titracija je jedna od direktnih primjena potenciometrije, kojom se na učinkovit način mogu određivati različite vrste tenzida. Iz titracijskih grafova se može točno odrediti točka ekvivalencije. Detaljnom analizom rezultata koji su dobiveni konvencionalnom metodom, izračunat je nagib pravca krivulje koji iznosi 39.79 i koeficijent korelacije 0.9785. Linearnom regresijom je izračunat nagib pravca za rezultate dobivene pomoću FIA sustava, koji iznosi 41.703 i koeficijent korelacije 0.998, što daje dobro slaganje sa prethodnim mjerenjima vršenim pomoću konvencionalnih metoda. Obje metode daju dobar odaziv na otopine kationskih tenzida te podatci dobiveni pomoću obje metode pokazuju slaganje. Odstupanje od linearnosti se može pripisati slučajnim pogreškama prilikom mjerenja.

5. Literatura

- [1] J.L.Salager, Surfactants types and uses, Mérida-Venezuela Versión # 2 (2002.)
- [2] R.J.Farn, Chemistry and Technology of Surfactants, Blackwell Publishing Ltd, 2006.
- [3]
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 (1.8.2015.)
- [4] J.Cross, E.J.Singer, Cationic Surfactants: Analytical and Biological Evaluation, New York : Marcel Dekker, 1994.
- [5] http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0492441.htm (1.8.2015.)
- [6] B. Altenbaher i sur., Biorazgradnja uobičajenih tenzida u otpadnim vodama praonica - pregled, Tekstil 63 (3-4) 100-106 (2014.)
- [7] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman, Surfactants and Polymers in Aqueous Solution, John Wiley & Sons, Ltd., 2002.
- [8] J.Wang, Analytical Electrochemistry, John Wiley & Sons, Ltd., 2000., 84str.
- [9] http://www.periodni.com/enig/potenciometrijski_senzori.html (1.8.2015.)
- [11] www.flowinjection.com (1.8.2015.)
- [12] D.Harvey, Modern Analytical Chemistry, McGraw-Hill Higher Education, 2000., 665str.
- [13] <http://www.globalfia.com/tutorials/lesson-2> (1.8.2015.)