

# PRIMENA FIA METODA

---

Voda

## **Fizičkohemijska analiza voda**

**Osnovne fizičkohemijske analize voda - određivanje :**

**pH, Eh, specifična provodljivost,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ , Mn, Fe (ukupno),  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  
utrošak  $\text{KMnO}_4$  i  $\text{Na}^+$  ( $\text{K}^+$ ).**

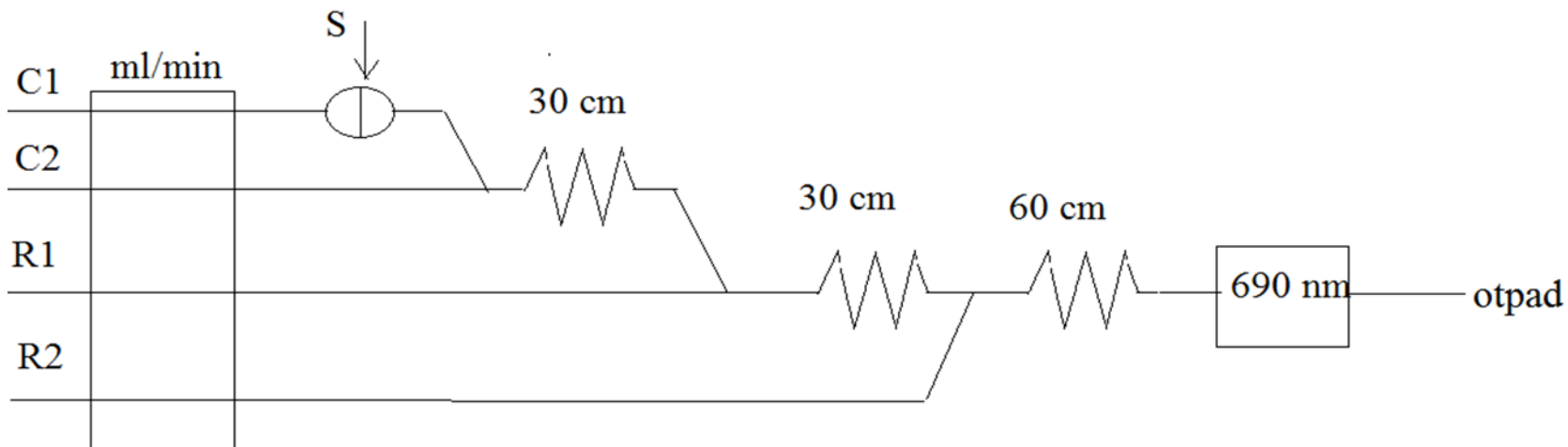
**svakako se treba pridržavati i reda određivanja**

# Fosfati (ORTOFOSFATI, FOSFOR)

- **Najčešća određivanja u vodi**
- **Zasnivaju se na specifičnoj reakciji između ortofosfata i reagenasa**
- **Obojeni proizvod se meri spektrofotometrijski**
- **Uglavnom kiseli uslovi, polifosfati hidrolizuju u ortofosfate, pa se kao takvi određuju**
- **Uzorci vode se konzerviraju dodatkom sumporne kiseline, čuvaju u mraku na -4 C, ako je potrebno filtriraju**

# METODA 1

Ortofosfati reaguju sa amonijum molbdatom gradeći kompleks koji se zatim redukuje sa  $\text{SnCl}_2$  u molibdensko plavo



R1, rastvor amonijum molibdata,  $\text{H}_2\text{SO}_4$

R2, rastvor  $\text{SnCl}_2$  i hidrazin hlorid,  $\text{H}_2\text{SO}_4$

C1, C2 rastvori nosača

S, uzorak

Nosač može biti destilovana voda ili sumporna kiselina

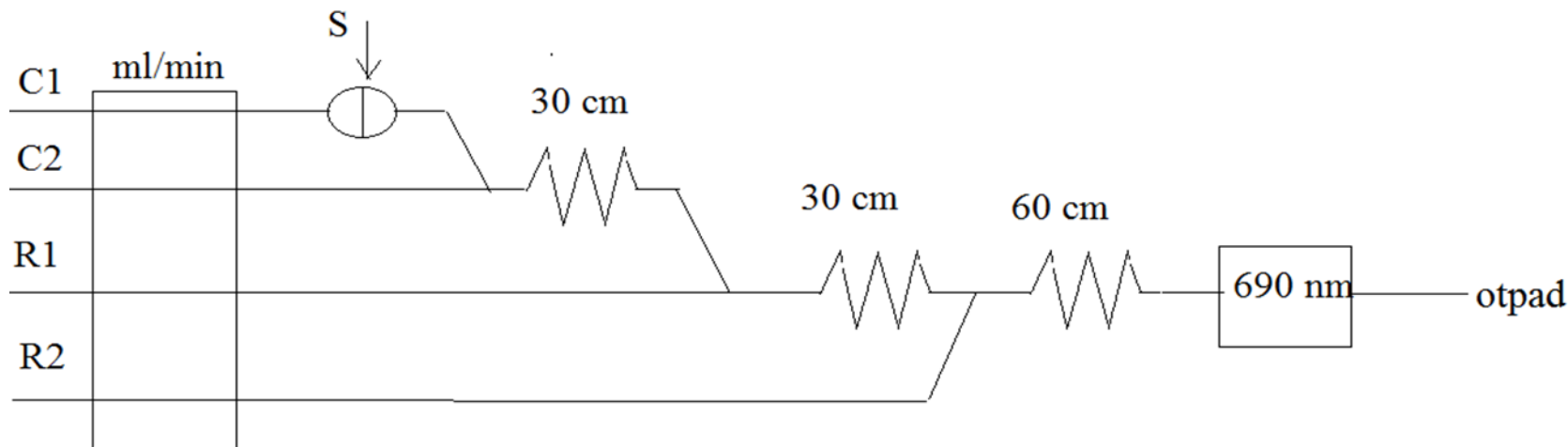
# Interference

- Sulfid u koncentraciji preko 2 mg/L ( uklanja se iz zakišljenih uzoraka azotom)
- Silikati u koncentraciji preko 5 mg/L (ali je r-ja silikata sa molibdatom spora pa nema smetnji u FIA sistemu)
- Se, Cr, Cu, V, F, koji se mogu naći u vodama nisu u koncentracijama da ometaju

## METODA 2

Ortofosfati reaguju sa amonijum molibdatom i kalijum antimonil tartaratom gradeći kompleks

Redukuje se sa askorbinskom kiselinom



R1, amonijum molibdat i kalijum antimonil tartarat u sumpornoj kiselinu; R2, askorbinska kiselina

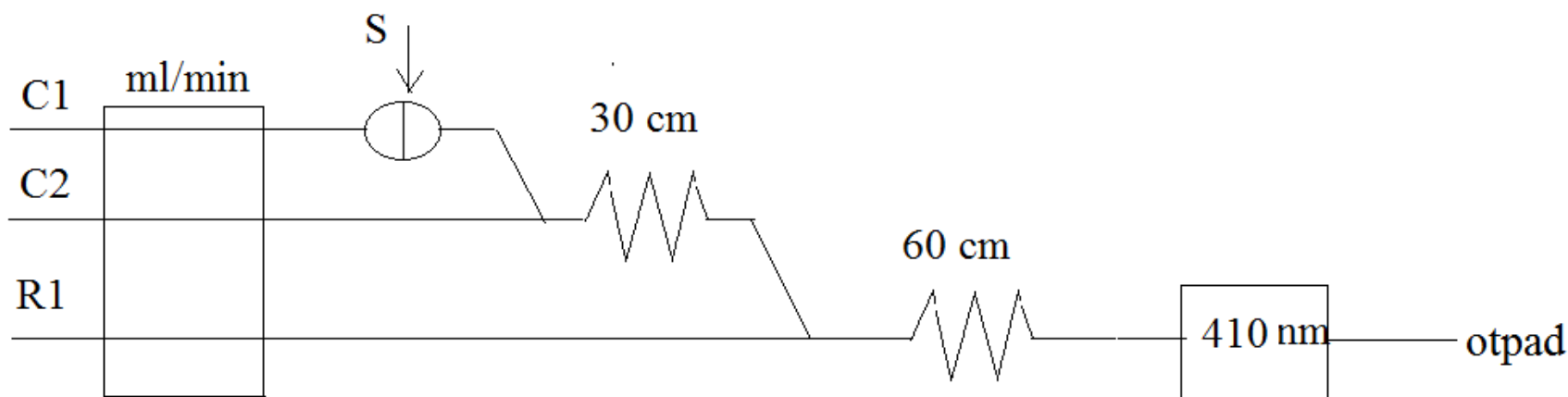
S, uzorak; C1, C2, nosači

## METODA 3

Ortofosfati reaguju sa amonijum molibdatom i amonijum vanadatom u kiseljoj sredini

Gradeći žuti kompleks

Meri se na 410 nm



R1 amonijum molibdatom i amonijum vanadatom u kiseljoj sredini ( $\text{HNO}_3$ )

C1, C2, nosači

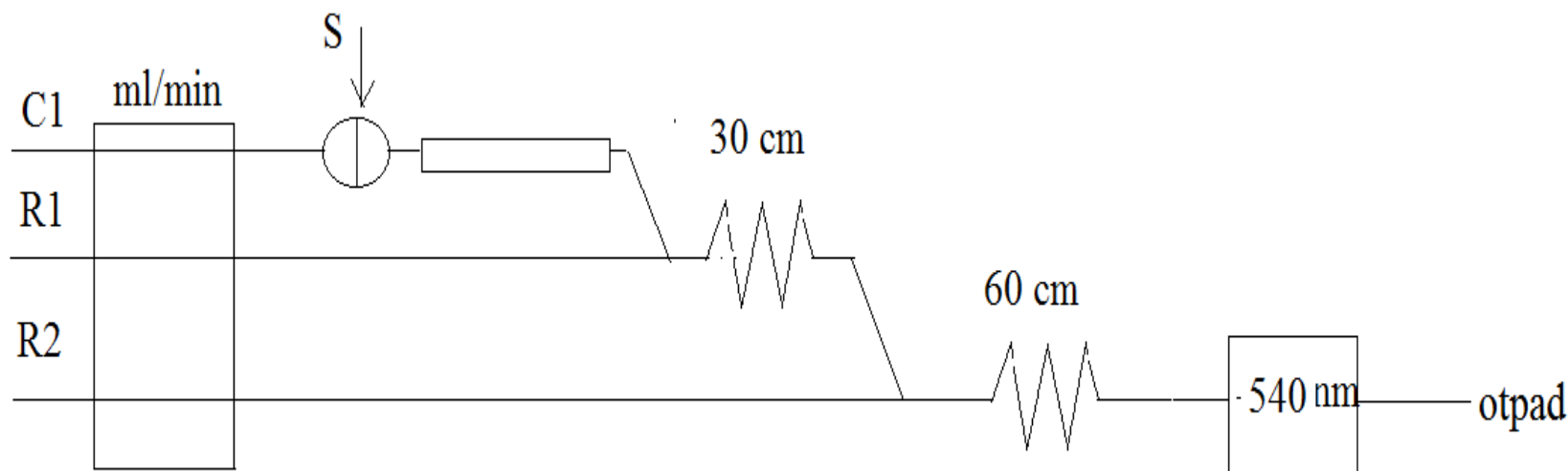
# Nitrati

- Obavezni u određivanju voda
- Standardna metoda je redukcija nitrata do nitrita
- Suma nitrata i nitrita se određuje spektrofotometrijski
- Nitrati se mogu određivati nitratnom-JSE



# Metoda 1: fotometrijska

- **Nitrati se redukuju do nitrita kadmijumovim reduktorom (Cd – kolona)**
- **Nitriti reaguju sa sulfanilamidom u kiseloj sredini**
- **Formiraju diazo jedinjenje**
- **Proizvod se kupluje sa N-(1-naftil)-1etilendiamin dihidro hloridom**
- **Formira se azo boja čija se apsorbancija meri na 540 nm.**
- **Odgovara sumi nitrata i nitrita**



**C, nosač,**

**Cd reduktor (prevodjenje u nitrite)**

**R1, zakišeleni sulfanilamidni rastvor,**

**R2, N-(naftil) –etilendiamin dihidrohloridom**

**Bez Cd kolone, mogu samo nitriti**

- **Metoda 2 (potenciometrijska)**
- **Detektor je nitratna jon selektivna elektroda**
- **Ref je KE**
- **Uzorak S koji sadrži nitrate se injektira u rastvor nosača i donosi na nitratnu JSE**
- **Radni opseg JSE je  $10^{-1}$  do  $10^{-5}$  M**

# Amonijum jon

- **Metoda 1 (indofenol plavo)**
- **Metoda 2 (o-tolidin), izbačena jer je kancerogen**
- **GD metoda**

# Metoda 1: Indofenol-plavo

U baznoj sredini pH oko 11 amonijum reaguje sa hipohloritom i formira monohloramin koji sa fenolom u prisustvu katalitičke količine nitroprusida i viška hipohlorita gradi indofenol plavo koji se meri na 630 nm.

- R1, natrijum tartarat i NaOH
- R2, sadrži fenol, NaOH i nitroprusid
- R3, sadrži Na-hipohlorit

Detektor na 690 nm (620-700 nm)

# Metoda (GD) gasne difuzije

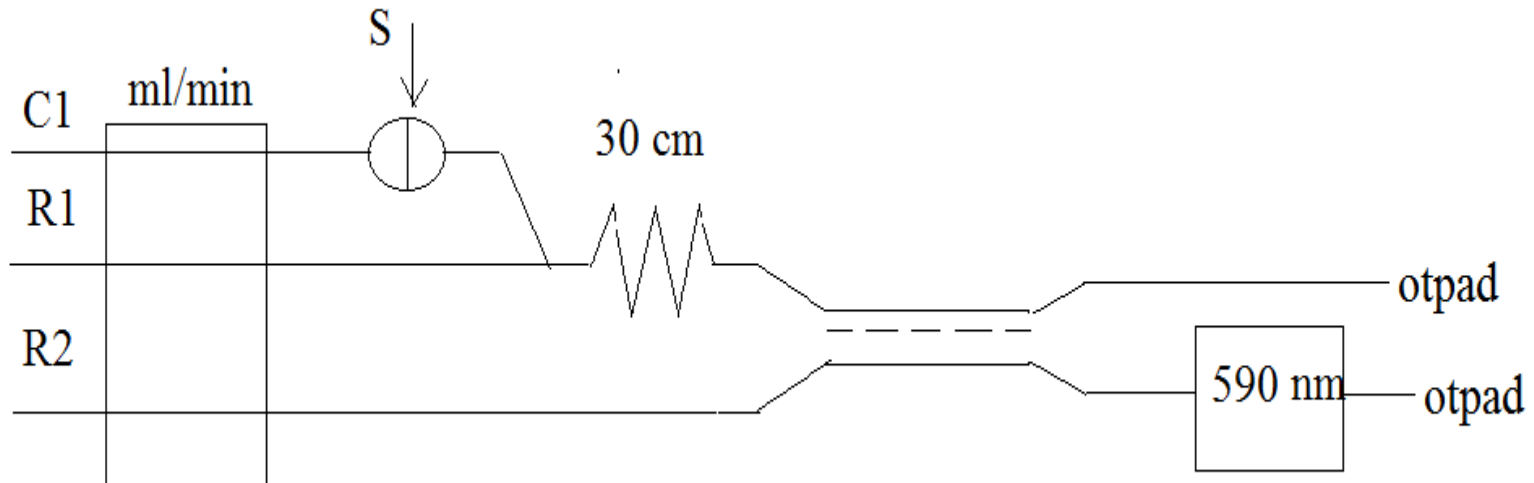
**Amonijum jon se konvertuje u gas dodatkom NaOH**

**Prodifunduje kroz membranu u akceptorsku struju  
acidobaznog indikatora koji menja boju**

**konverzija u gas je kompletna**

**Fenol crveno daje prihvatljiv radni opseg**

**Isparljivi amini sa niskom Mr mogu da interferiraju**



- **C, nosač destilovana voda,**
- **R1, NaOH,**
- **R2, indikatorski sistem**

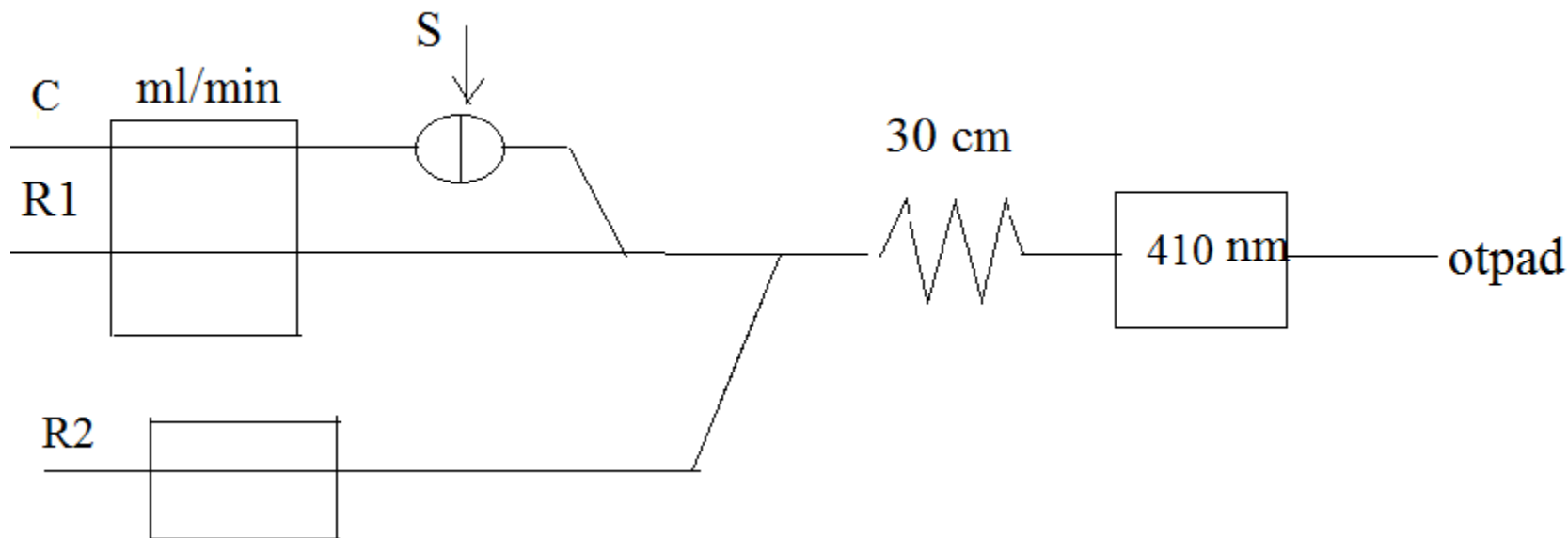
# Sulfati

- **Postoji nekoliko analitičkih metoda za određivanje sulfata**
- **Skoro sve metode uključuju Ba na ovaj ili onaj način**
- **BaSO<sub>4</sub> je nerastvoran, pa se može koristiti turbidimetrija**



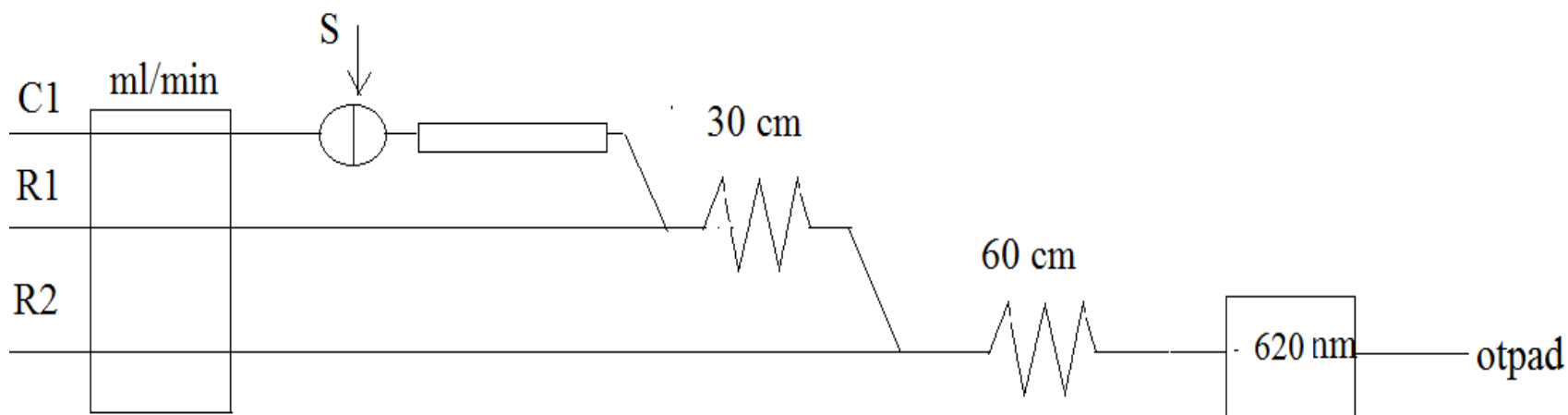
# Metoda 1: turbidimetrijski

- **Uzorak se injektira u kiselu struju nosača i spaja se sa  $\text{BaCl}_2$  rastvorom pre petlje za mešanje**
- **Turbidimetrijski se meri na 410 nm**
- **Nakon 30 sekundi od injektiranja druga pumpa je programirana da donose EDTA rastvor 20 sekundi**
- **Čvrsti  $\text{BaSO}_4$  će se rastvoriti jer gradi Ba-kompleksonat.**



- **C, dest voda zakišljena HCl**
- **R1, BaCl<sub>2</sub>**
- **R2 EDTA u NaOH**

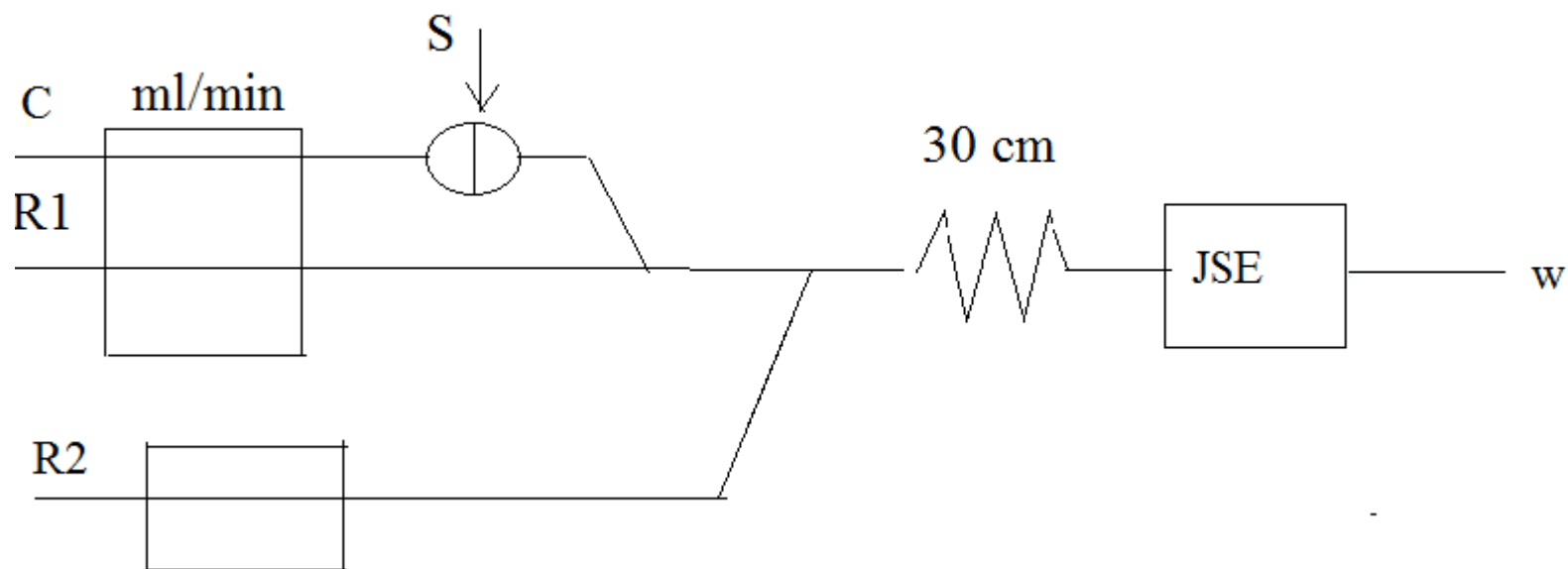
# Metoda 2: spektrofotometrijska



- C, dest voda i prolazi kroz jonoizmenjivačku kolonu
- Meša se sa Ba-metil-timol plavim rastvorom i
- R2, vodeni rastvor NaOH i EtOH

# Fluoridi

- **Fluoridna JSE**
- **Prednost nad direktnim određivanjima je što ne mora da se čeka postizanje ravnotežnog stanja**



R1, pufer TISAB

R2, KCl

# PRIMENA FIA METODA

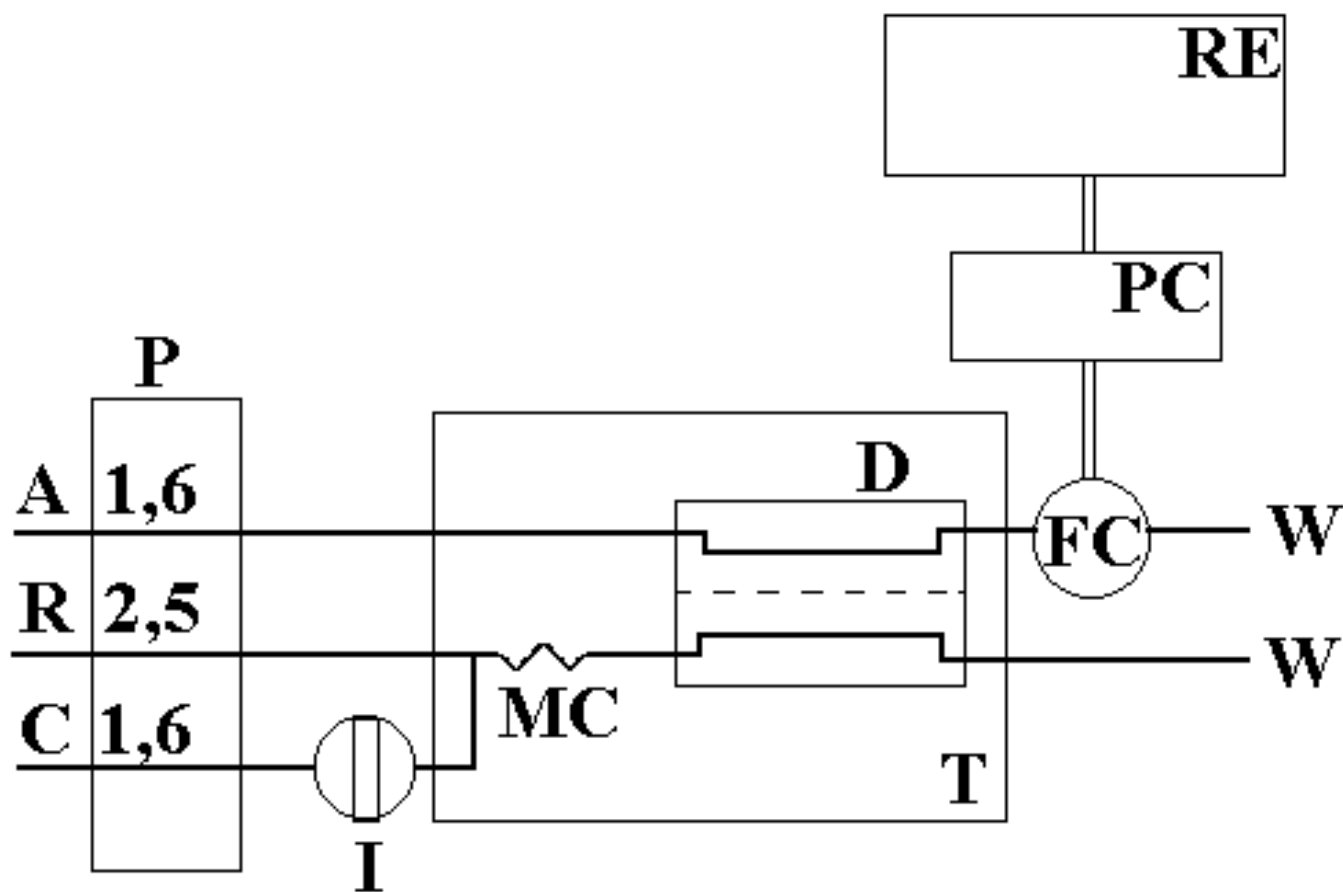
---

bromidi

# Značaj bromida

- **FDA 5 % lekova je bromid ili hidrobromid**
- **Oksidacijom bromida nastaje  $\text{Br}_2$**
- **Amperometrijska detekcija**

## Indirektno određivanje bromida gasno-difuzionom FIA metodom sa amperometrijskom detekcijom





**Nosač: 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

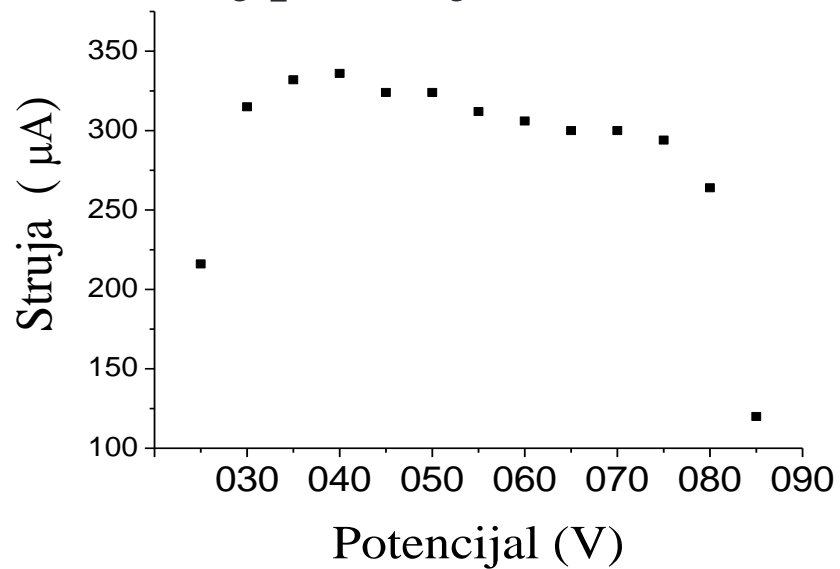
**Akceptor: 0,01 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

**Reagens: 0,05 mol/L KMnO<sub>4</sub> sa 0,04 mol/L NaCl**

**Potencijal Pt elektrode: +0,65 V**

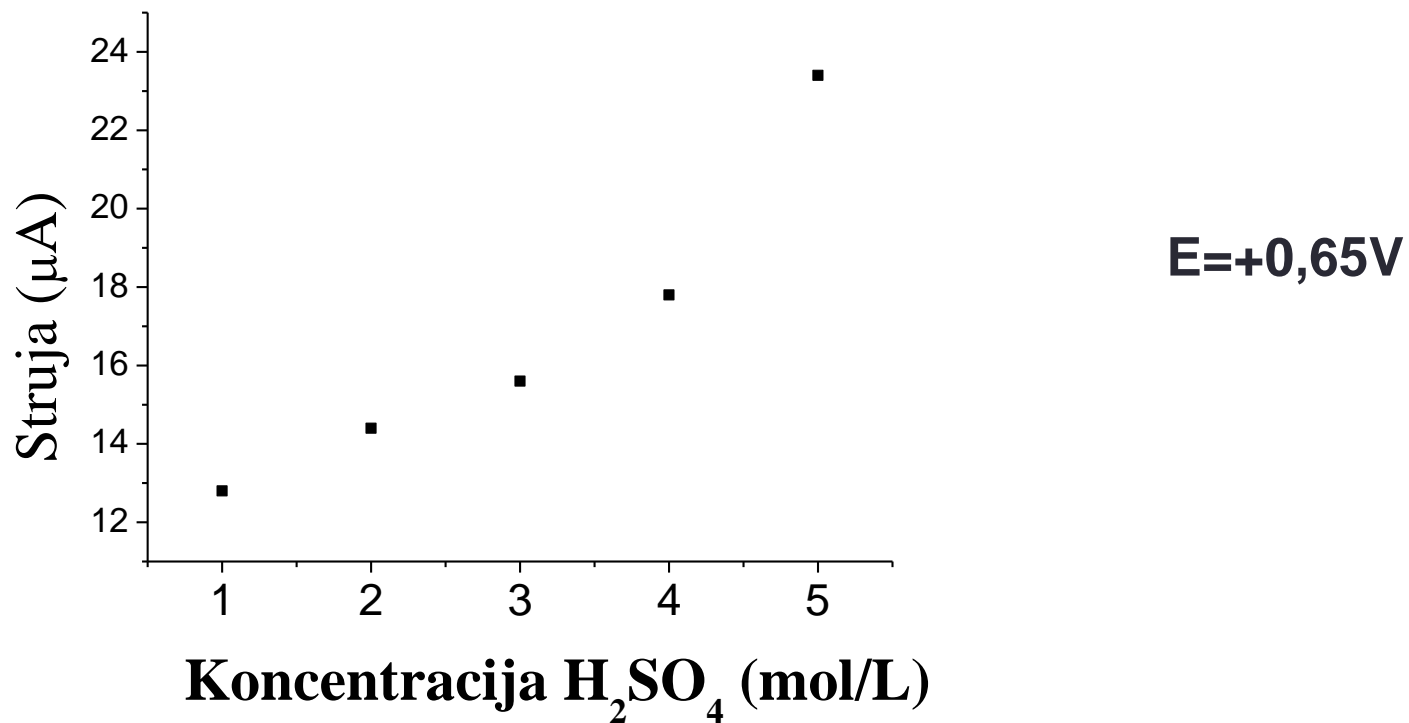
# OPTIMIZACIJA SISTEMA

## •Uticaj potencijala Pt radne elektrode

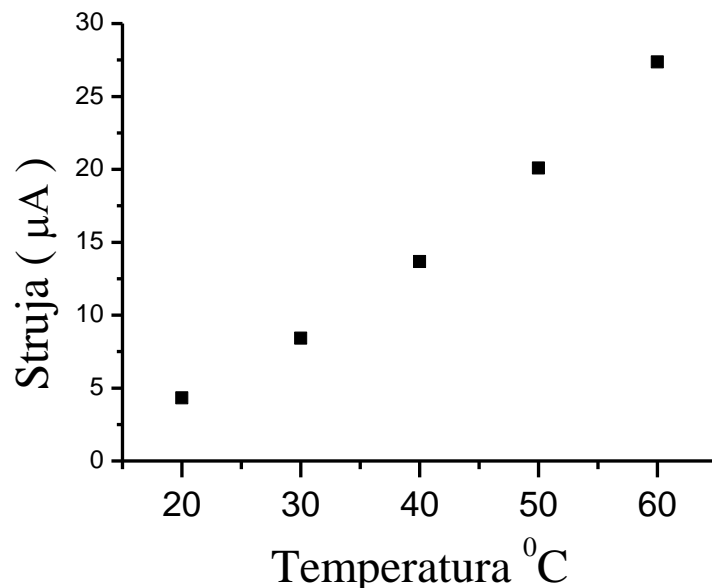


**Hidrodinamički voltamogram**

- **Uticaj sumporne kiseline u nosaču na visinu FIA signala bromida**

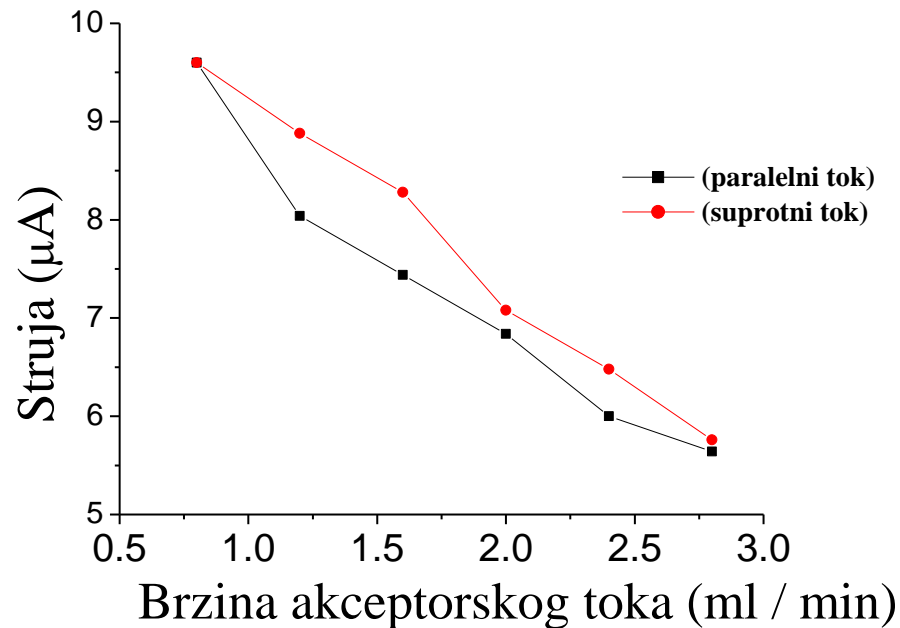


# Uticaj temperature na visinu FIA signala bromida



- promena temperature ne samo da utiče na brzinu oksidacije već i na rastvorljivost nastalog broma, proces difuzije i redukciju broma na Pt radnoj elektrodi.
- dovoljna osetljivost se postiže i na sobnoj temperaturi.

## •Uticaj brzine i smera tokova na visinu signala



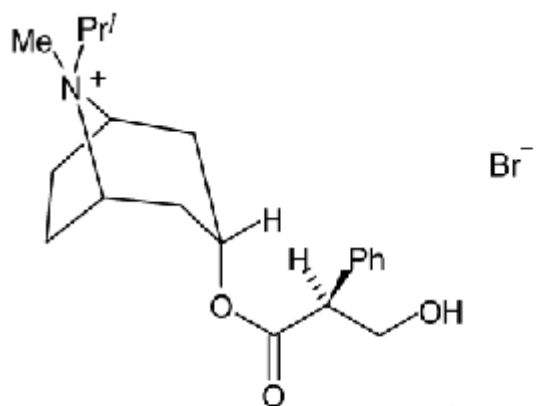
- brzina donorskog toka je 2,5  $\text{mL/min}$
- optimalna brzina akceptorskog toka koja je davala zadovoljavajuće visok FIA signal je 1,6  $\text{mL/min}$
- promena smera donorskog i akceptorskog toka ne daje veću razliku u visini FIA signala

- **Visoka selektivnost metode**
- **Uticaj  $\text{Cl}^-$  i  $\text{I}^-$**
- **Prisustvom  $\text{NaCl}$  u  $\text{KMnO}_4$  omogućuje se nesmetano određivanje bromida u prisustvu hlorida u koncentracijama koje su čak i 1000 puta veće**
- **Katalitički efekat  $\text{Cl}^-$  na oksidaciju  $\text{Br}^-$  ( $\text{KMnO}_4$ )**
- **Povećanjem koncentracije  $\text{KMnO}_4$  (na 0,05 mol/L) moguće je nesmetano odrediti  $\text{Br}^-$  u prisustvu  $\text{I}^-$  čija je koncentracija čak 25 puta veća od prisutne koncentracije  $\text{Br}^-$  u uzorku**

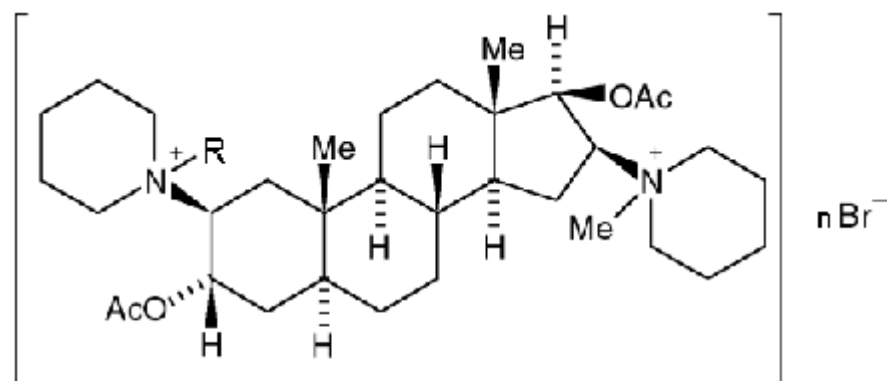
## **Sadržaj bromida je određivan u uzorcima:**

- Voda**
- u organskim supstancama**
- u farmakološkim aktivnim supstancama: fenoterol hidrobromidu, ipratropijum bromidu, pankuronijum bromidu, vekuronijum bromidu**
- u farmaceutskim preparatima: Partusisten tabletama, Atrovent ampulama, Norkuron ampulama i Pavulon ampulama**
- snimane su standardne serije i iz kalibracionih jednačina izračunata koncentracija bromida u uzorcima**

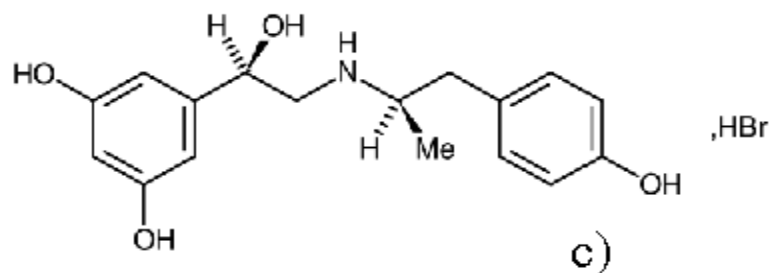
# Strukturne formule farmakoloških aktivnih supstanci i oksima



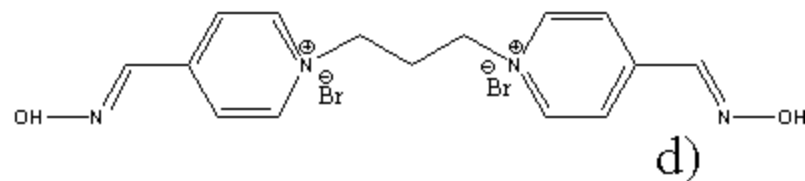
**ipratropijum bromid (IPBr)**



**pankuronijum bromid (R=CH<sub>3</sub> n=2)(PANBr)  
i vekuronijum bromid (R=H n=1);(VBr)**



**fenoterol  
hidrobromid (FHBr)**



**TMB-4, biološki aktivni  
oksim**



- **indirektna gasno difuziona FIA metoda sa amperometrijskom detekcijom, za određivanje bromida je osetljiva, selektivna i brza**
- **utrošak aktivnih supstanci je vrlo mali tako da se sa relativno malom količinom uzorka može uraditi veliki broj analiza. (60 uzoraka na sat)**
- **granica detekcije je 0,5  $\mu\text{mol/L}$  (40  $\mu\text{g/L}$ ) bromida**
- **uspešno je primenjena na direktno analiziranje bromida u multikomponentnim uzorcima gde oficijalne metode zahtevaju prethodno odvajanje analita**

# PRIMENA FIA METODA

---

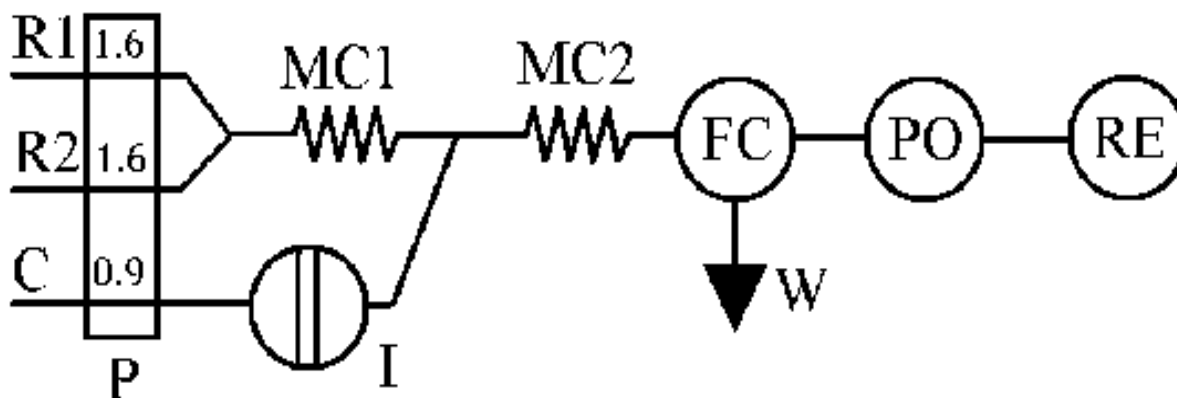
jodidi

# Jodidi

- **Esencijalni elementi u ishrani**
- **Oboljenja tiroidne žlezde**
- **Kuhinjska so izvor neophodnih jodida**

# ODREĐIVANJE JODIDA SA AMPEROMETRIJSKOM DETEKCIJOM

zasniva se na primeni reakcije između  $\text{Mn}^{3+}$  i  $\text{As}^{3+}$  koju katalizuju jodidi.



$\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ , rastvori  $\text{Mn}^{3+}$  i  $\text{As}^{3+}$ ; C, nosač; FC, protočna elektrohemijaska ćelija;

**Nosač: 1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

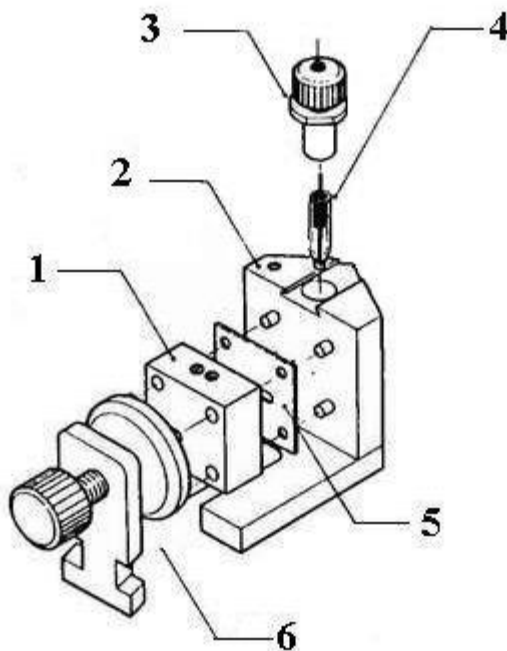
**Koncentracija Mn<sup>3+</sup>: 1,75 mmol/L u 6 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

**Koncentracija As<sup>3+</sup>: 0,02 mol/L u 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

**Potencijal Pt elektrode +0,90 V**

**Brzina protoka A/R/C 1,6/1,6/0,9 mL/min**

# PROTOČNI AMPEROMETRIJSKI DETEKTOR



**1-radne elektrode**

**2-sporedna elektroda**

**3-zatvarač**

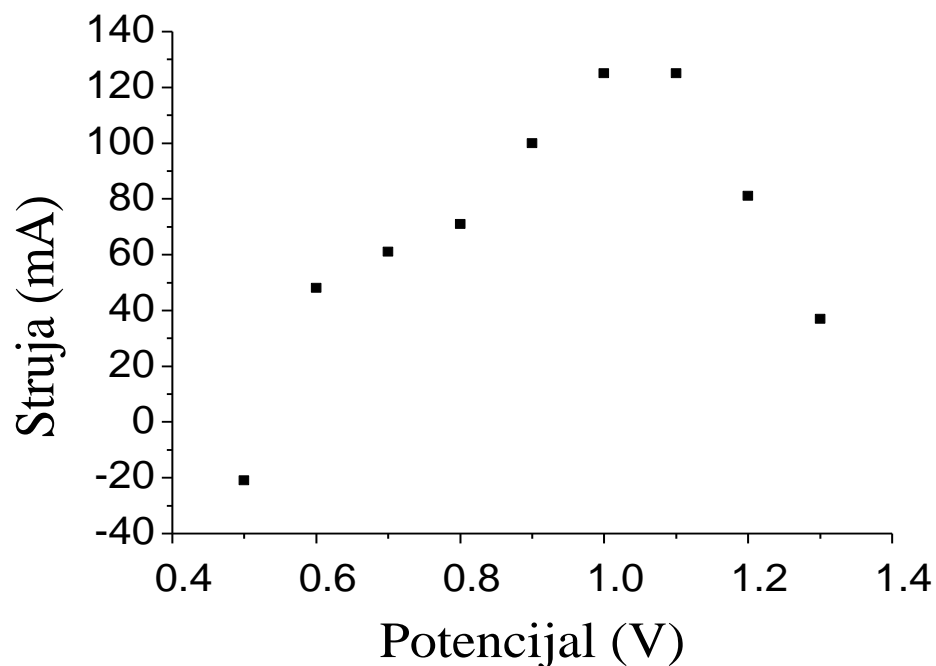
**4-referentna elektroda**

**5-gasket (određuje V  
rastvora na elektrodi)**

**6-zavrtanj**

# OPTIMIZACIJA SISTEMA

## •Uticaj potencijala Pt radne elektrode



$c(\text{I}^-)=1,00 \text{ mmol/L}$

$V_{\text{uzorka}}=0,200 \text{ mL}$

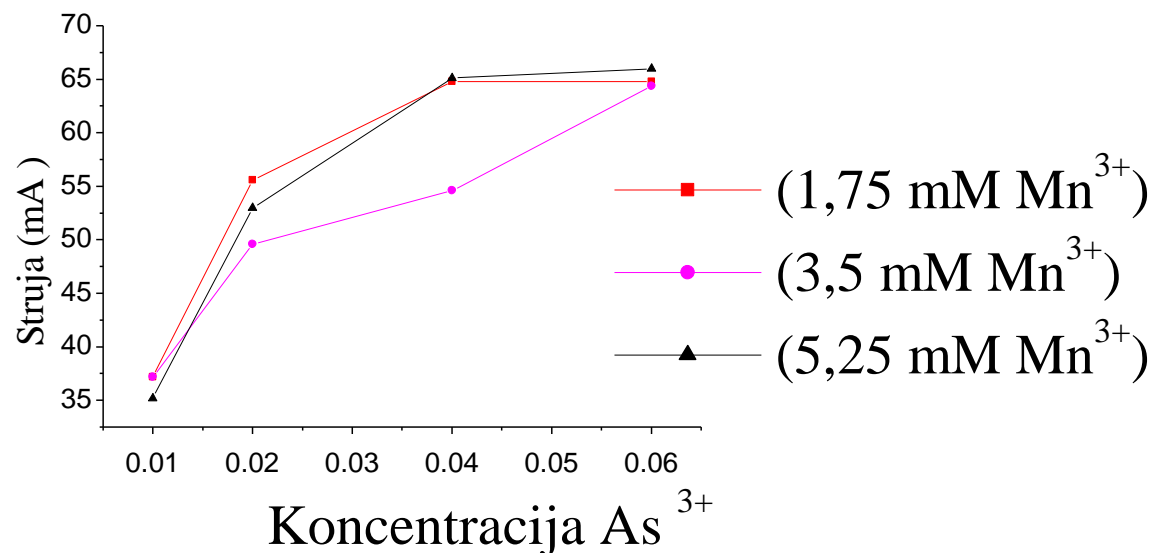
$c(\text{Mn}^{3+})=3,50 \text{ mmol/L}$

$c(\text{As}^{3+})=0,02 \text{ mol/L}$

## Hidrodinamički voltamogram

# •Utvrdjivanje optimalnih koncentracija reagenasa

## $\text{Mn}^{3+}$ i $\text{As}^{3+}$

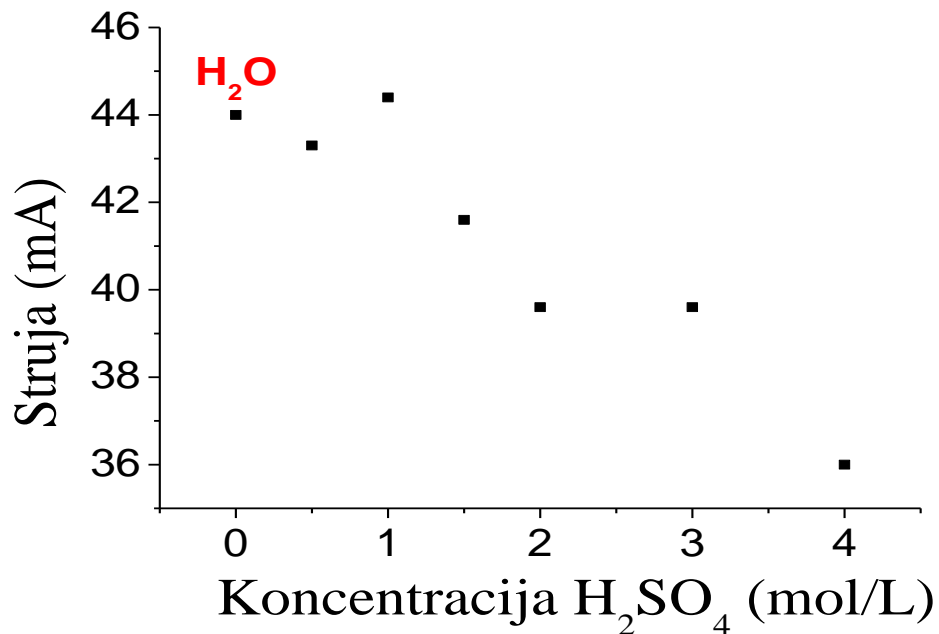


$c(\text{I}^-) = 1,00 \text{ mmol/L}$

$E = +0,90 \text{ V}$



# •Uticaj koncentracije sumporne kiseline u nosaču i vode kao nosača



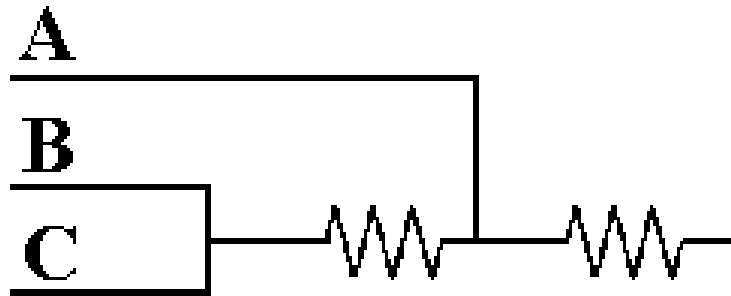
$c(\text{I}^-) = 1,00 \text{ mmol/L}$

$c(\text{As}^{3+}) = 0,02 \text{ mol/L}$

$c(\text{Mn}^{3+}) = 1,75 \text{ mmol/L}$

$E = +0,90 \text{ V}$

- Ispitivanje različitih mogućnosti mešanja reagenasa



Kombinacija 1

A-I<sup>-</sup>; B-As<sup>3+</sup>; C-Mn<sup>3+</sup>

Kombinacija 2

A-As<sup>3+</sup>; B-Mn<sup>3+</sup>; C-I<sup>-</sup>

Kombinacija 3

A-Mn<sup>3+</sup>; B-As<sup>3+</sup>; C-I<sup>-</sup>

- ✓ Kombinacija 1 i 3 daju signale iste visine

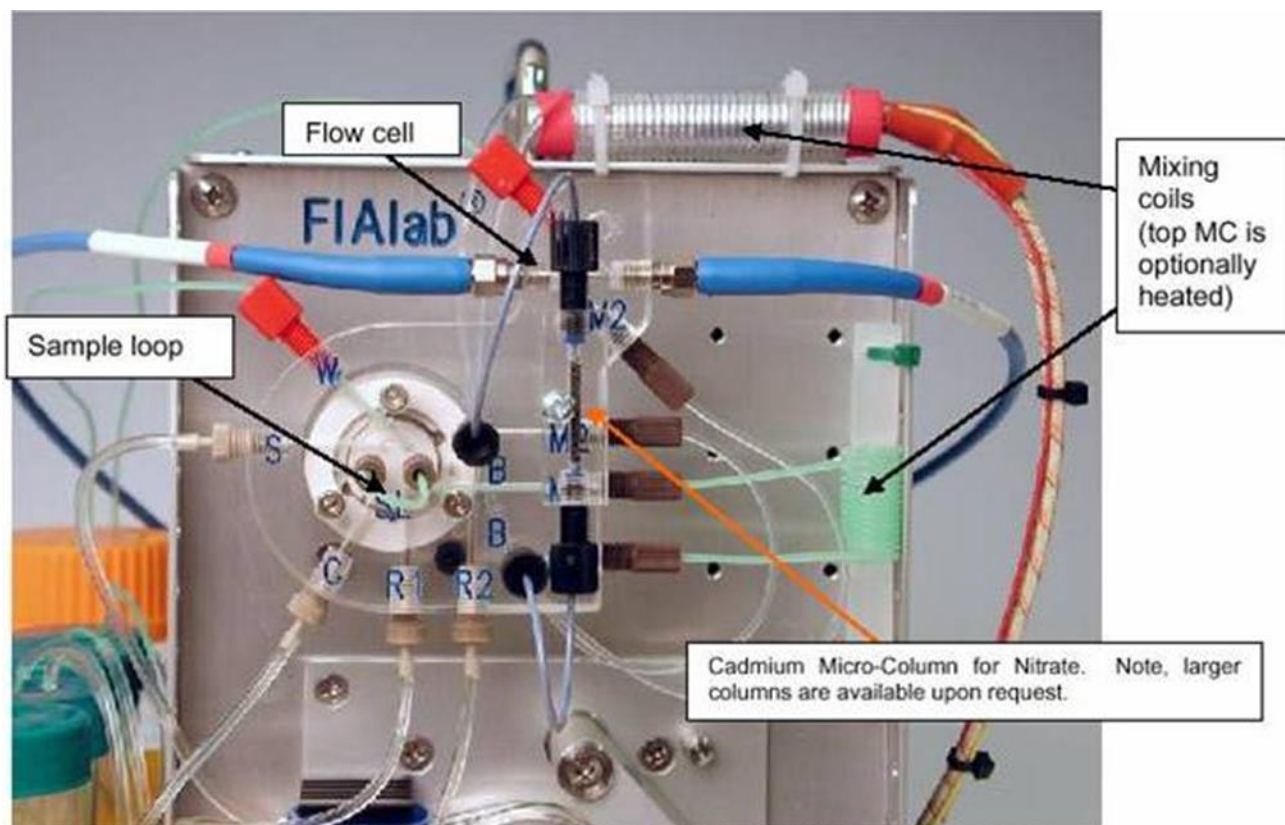
- ✓ Kombinacija 2 odbačena

- Bolji rezultati se dobijaju korišćenjem dužih petlji za mešanje (52 cm x 0,05mm)

- Teflonski gasket debljine 0,05mm (0,05; 0,10; 0,15; 0,38)

## **Jodidi su određivani u uzorcima :**

- **morske i flaširane mineralne vode**
- **solu, morskoj jodiranoj kuhinjskoj soli i lakoj soli (interni dodatak)**
- **stočne hrane (rastvarani u vodi i ceđeni)**
- **humanog seruma (deproteinizacija)**
- **organskih supstanci; 2-PAM jodidu i tetraetilamonijum jodidu.**
- **za sve uzorke snimane standardne serije i iz kalibracionih jednačina izračunata koncentracija jodida**



**FIA Lab-On-Valve Manifold (equivalent to the classical FIA configuration)**

