



PRIMENA FIA METODA

Voda

Fizičkohemijska analiza voda

Osnovne fizičkohemijske analize voda - određivanje :

**pH, Eh, specifična provodljivost, CO_2 , NH_4^+ , NO_2^- , Mn, Fe (ukupno), PO_4^{3-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- ,
utrošak KMnO_4 i Na^+ (K^+).**

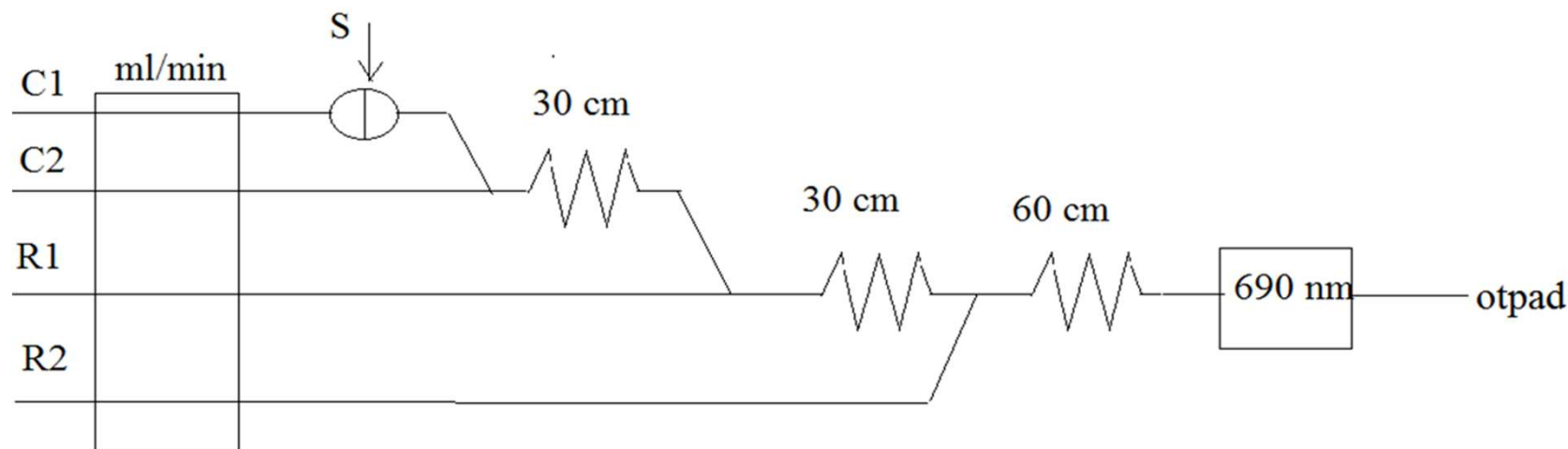
svakako se treba pridržavati i reda određivanja

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 SnCl_2 u molibdensko plavo



R1, rastvor amonijum molibdata, H_2SO_4

R2, rastvor SnCl_2 i hidrazin hlorid, H_2SO_4

C1, C2 rastvori nosača

S, uzorak

Nosač može biti destilovana voda ili sumporna kiselina

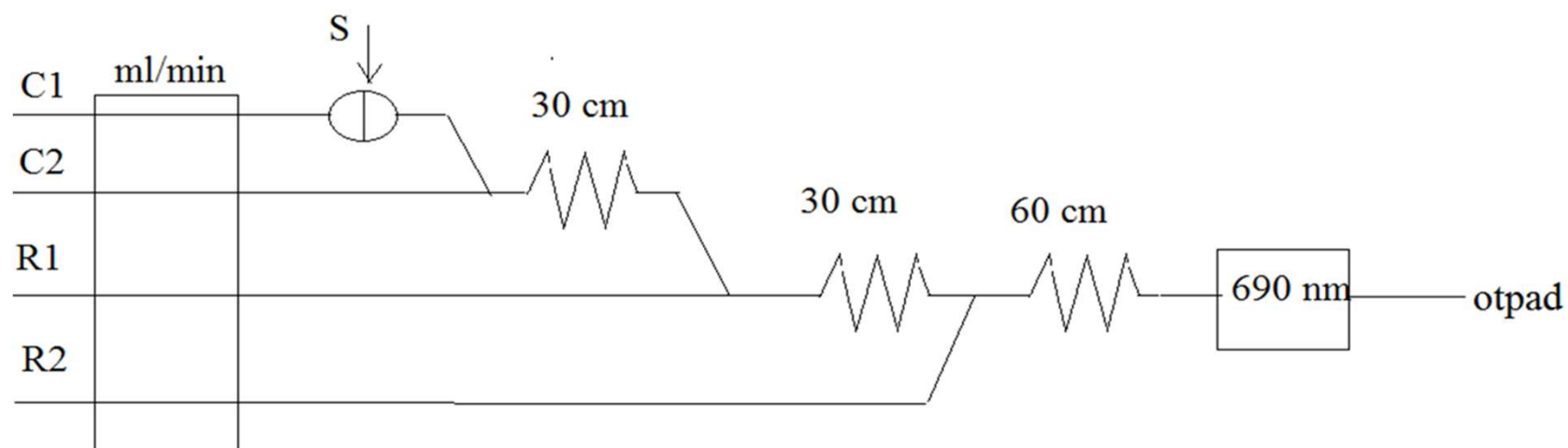
Interference

- **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

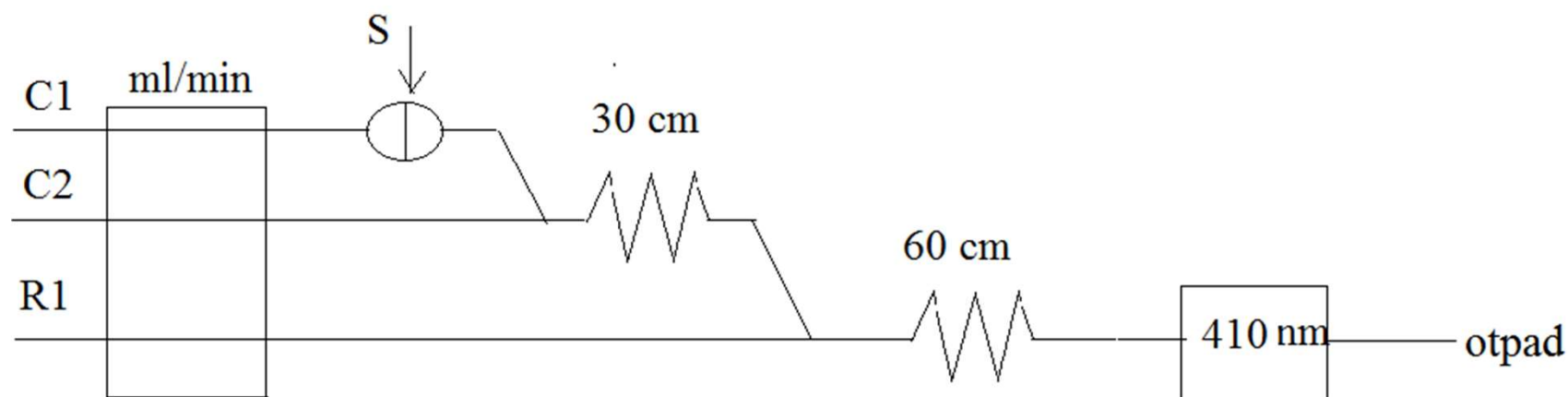
S, uzorak; C1, C2, nosači

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 (HNO_3)

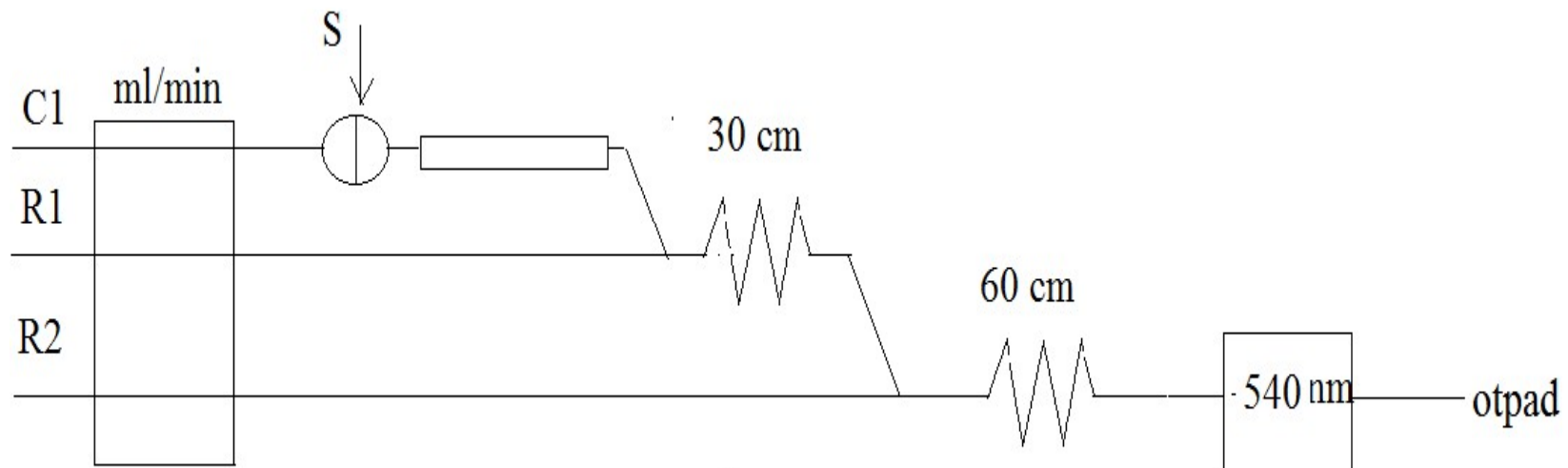
C1, C2, nosači

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 kiselj 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

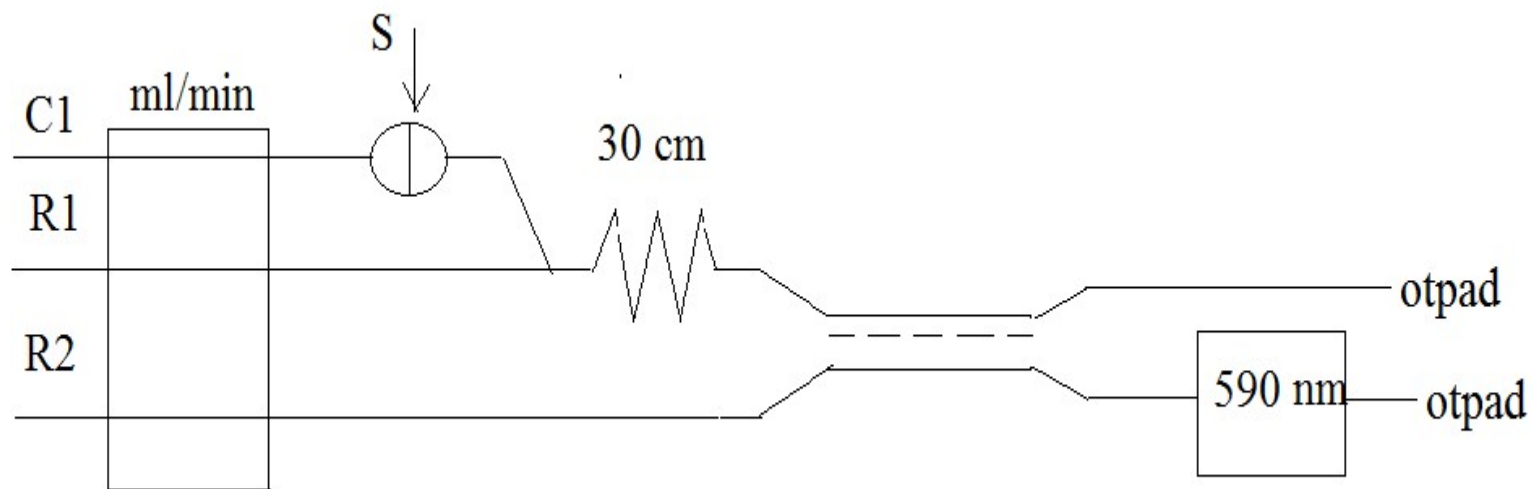
Amonijum jon se konvertuje u gas dodatkom NaOH

**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



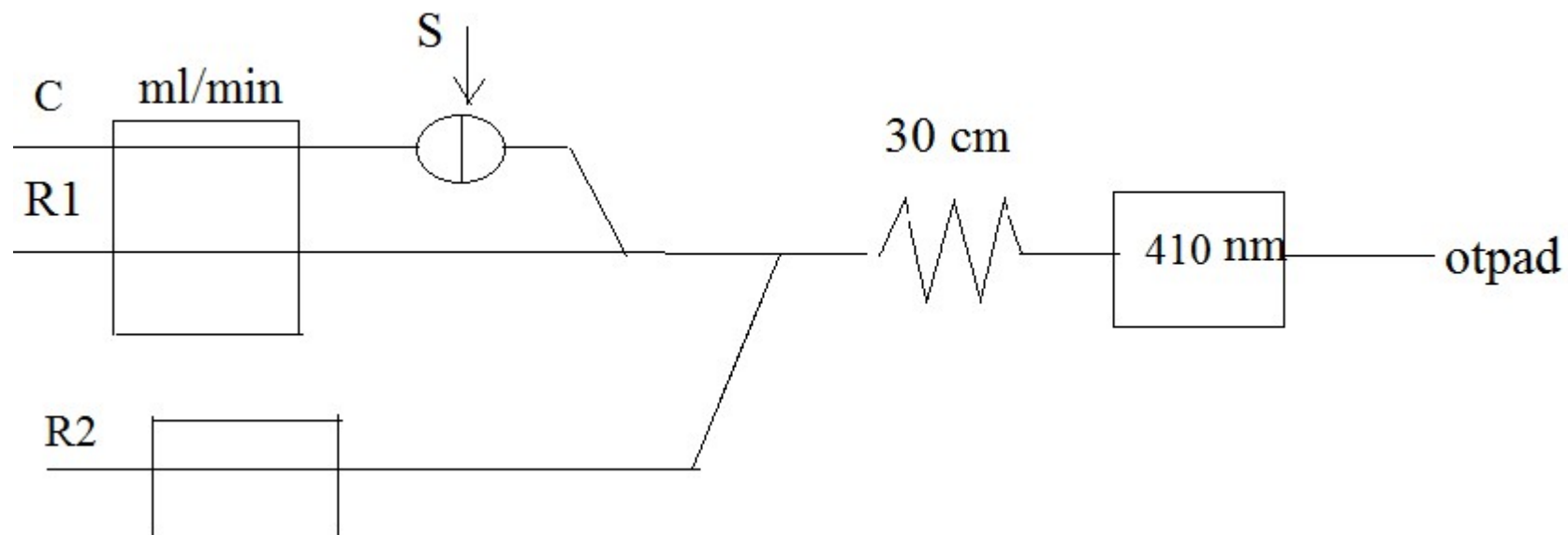
- **C**, nosač destilovana voda,
- **R1**, NaOH,
- **R2**, indikatorski sistem

Sulfati

- Postoji nekoliko analitičkih metoda za određivanje sulfata
- Skoro sve metode uključuju Ba na ovaj ili onaj način
- BaSO_4 je nerastvoran, pa se može koristiti turbidimetrija

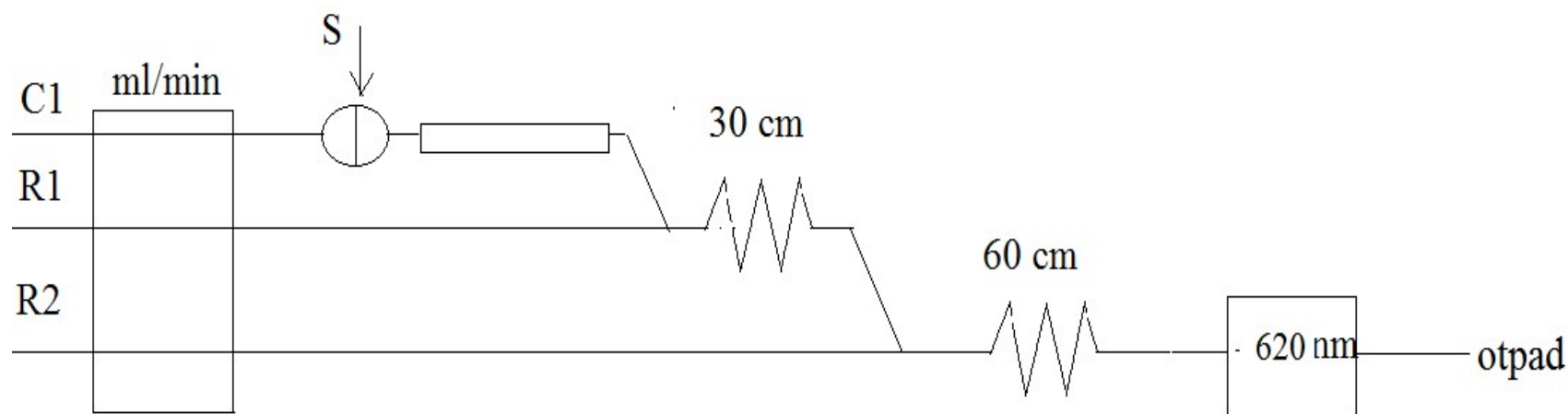
Metoda 1: turbidimetrijski

- **Uzorak se injektira u kiselu struju nosača i spaja se sa 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 BaSO_4 će se rastvoriti jer gradi Ba-kompleksonat.**



- **C, dest voda zakišljena HCl**
- **R1, BaCl₂**
- **R2 EDTA u NaOH**

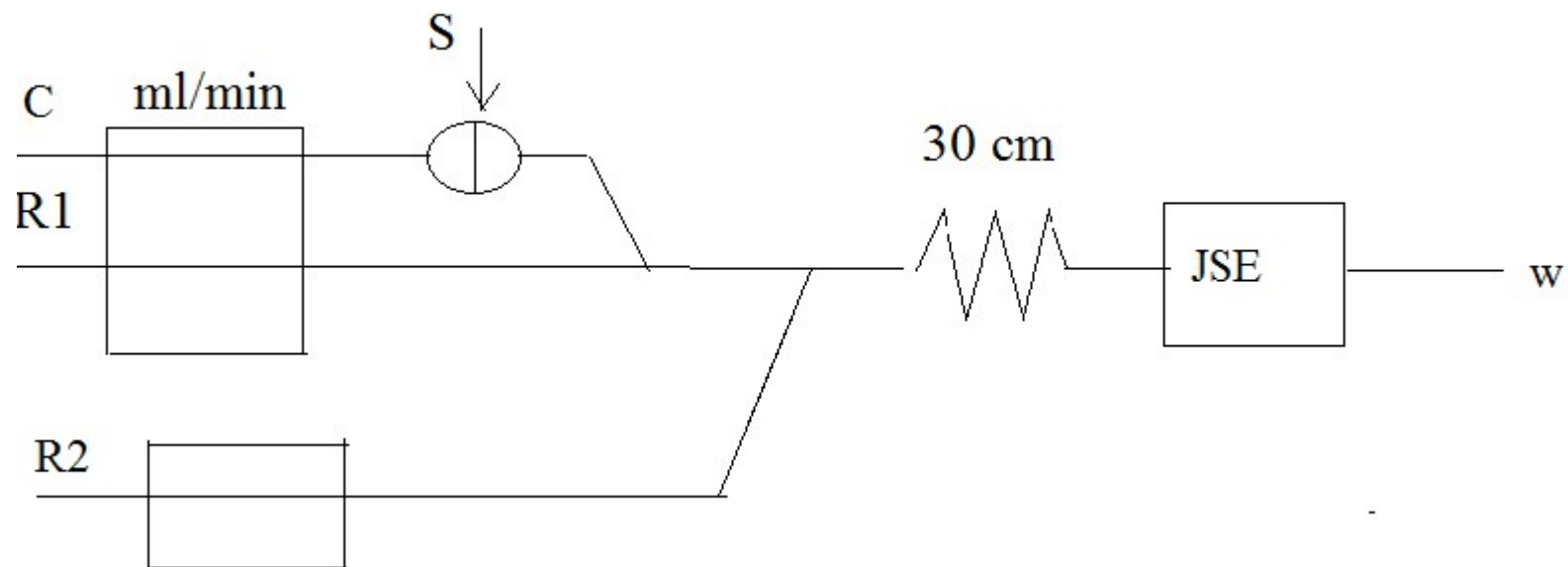
Metoda 2: spektrofotometrijska



- 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



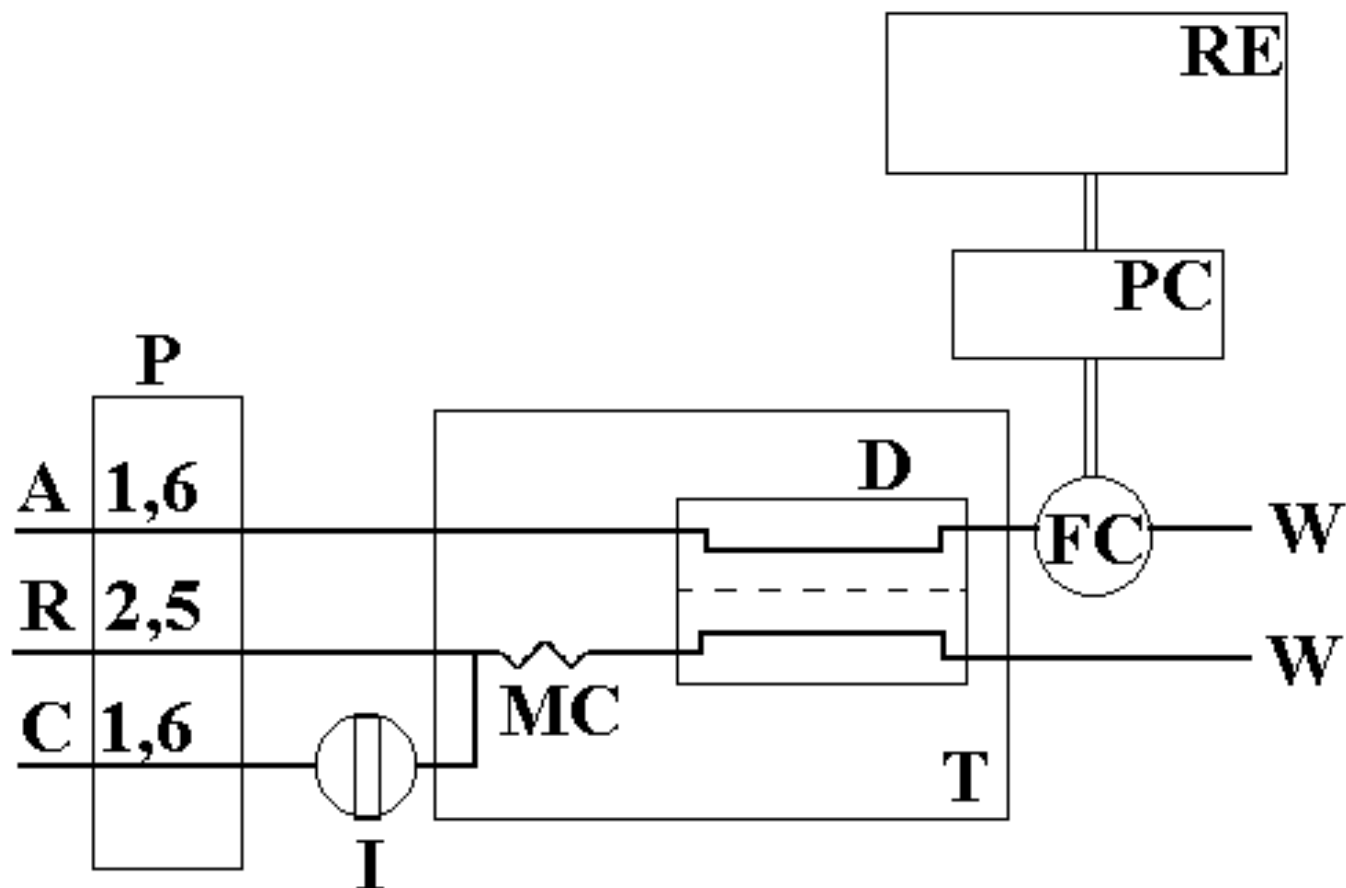
PRIMENA FIA METODA

bromidi

Značaj bromida

- **FDA 5 % lekova je bromid ili hidrobromid**
- **Oksidacijom bromida nastaje Br_2**
- **Amperometrijska detekcija**

Indirektno određivanje bromida gasno-difuzionom FIA metodom sa amperometrijskom detekcijom



Nosač: 2 mol/L H₂SO₄

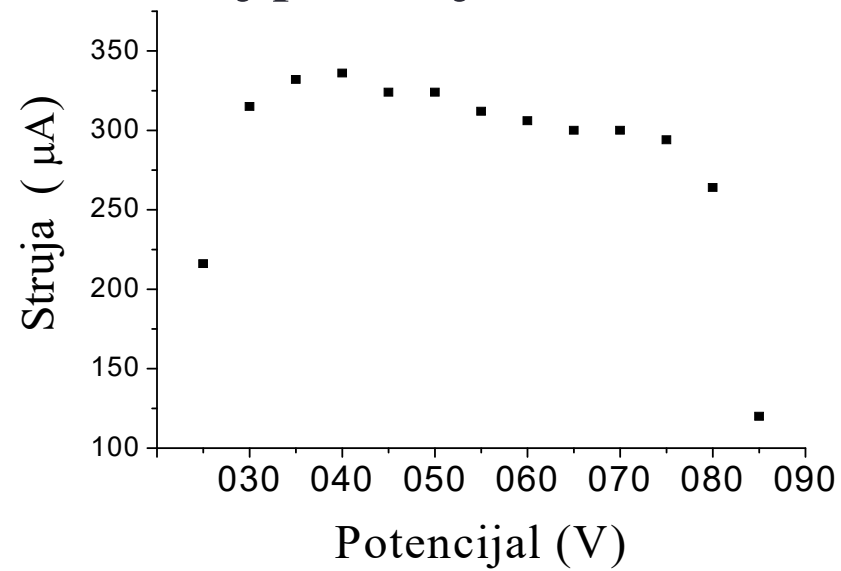
Akceptor: 0,01 mol/L H₂SO₄

Reagens: 0,05 mol/L KMnO₄ sa 0,04 mol/L NaCl

Potencijal Pt elektrode: +0,65 V

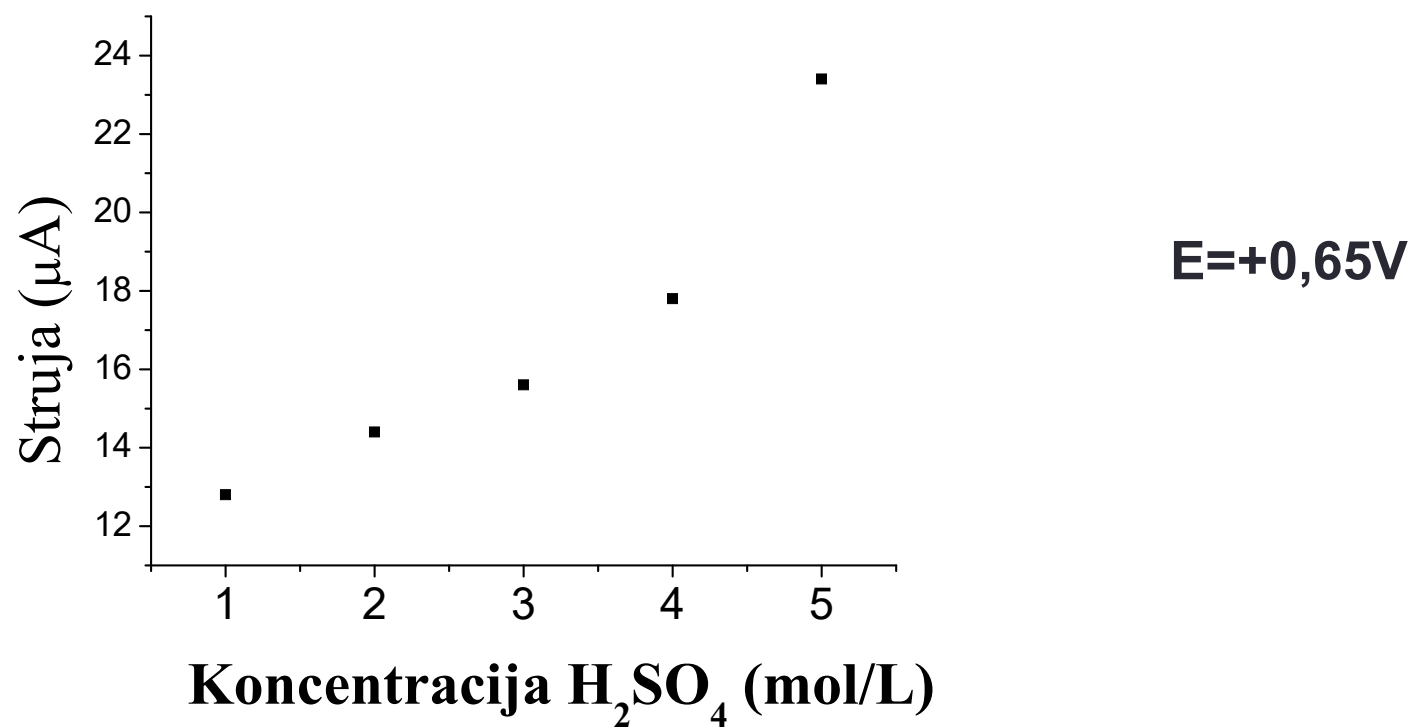
OPTIMIZACIJA SISTEMA

•Uticaj potencijala Pt radne elektrode

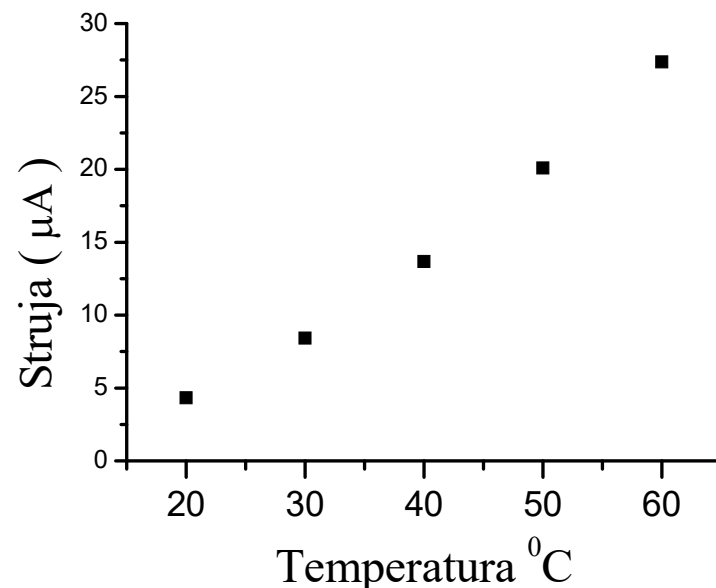


Hidrodinamički voltamogram

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

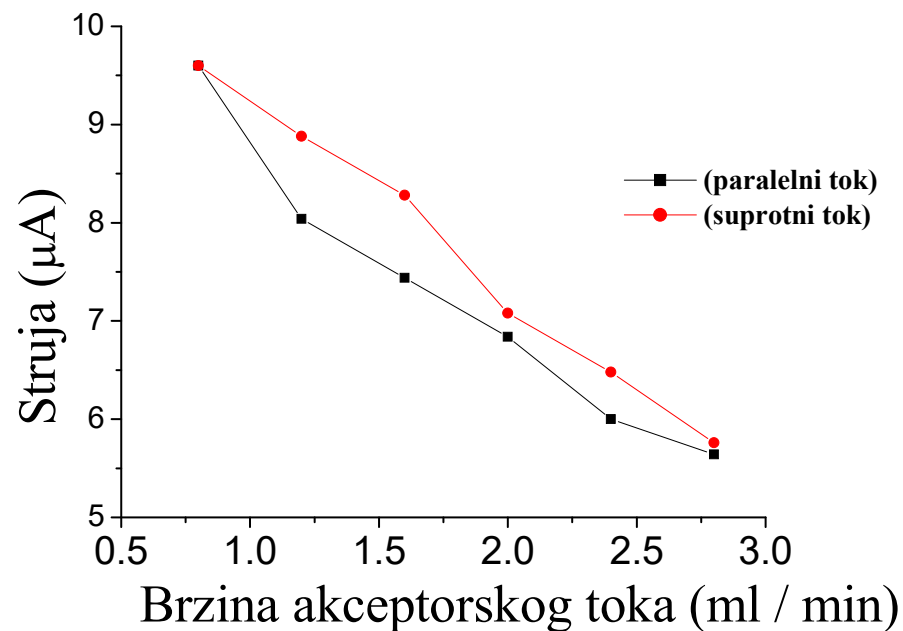


Uticaj temperature na visinu FIA signala bromida



- 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



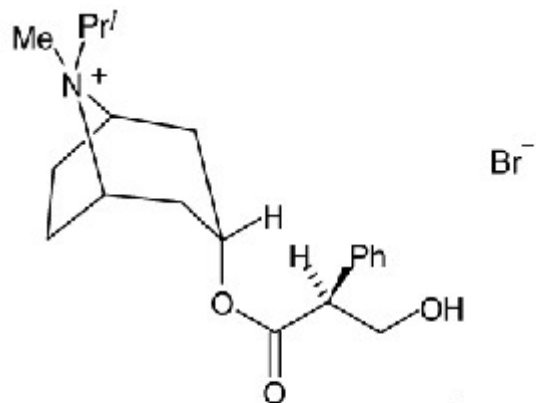
- brzina donorskog toka je 2,5 mL/min
- optimalna brzina akceptorskog toka koja je davala zadovoljavajuće visok FIA signal je 1,6 mL/min
- promena smera donorskog i akceptorskog toka ne daje veću razliku u visini FIA signala

- **Visoka selektivnost metode**
- **Uticaj Cl^- i I^-**
- **Prisustvom NaCl u KMnO_4 omogućuje se nesmetano određivanje bromida u prisustvu hlorida u koncentracijama koje su čak i 1000 puta veće**
- **Katalitički efekat Cl^- na oksidaciju Br^- (KMnO_4)**
- **Povećanjem koncentracije KMnO_4 (na 0,05 mol/L) moguće je nesmetano odrediti Br^- u prisustvu I^- čija je koncentracija čak 25 puta veća od prisutne koncentracije Br^- u uzorku**

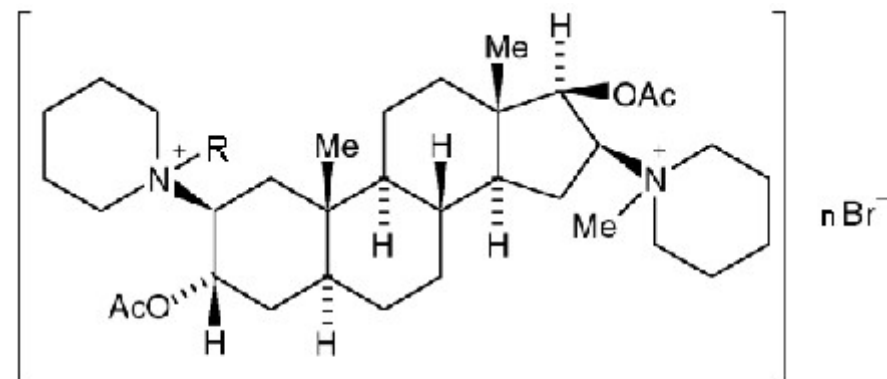
Sadržaj bromida je određivan u uzorcima:

- 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**

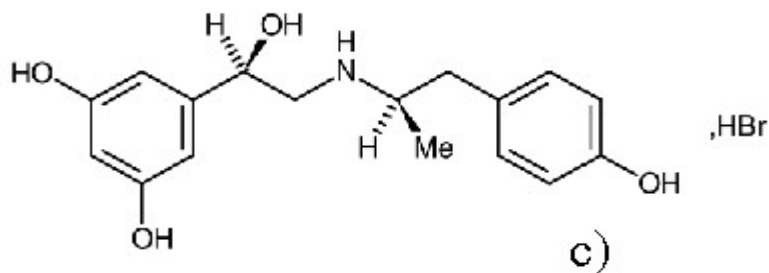
Strukturne formule farmakoloških aktivnih supstanci i oksima



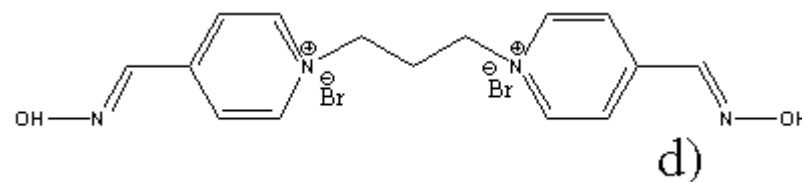
ipratropijum bromid (IPBr)



**pankuronijum bromid ($R=CH_3$ $n=2$)(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

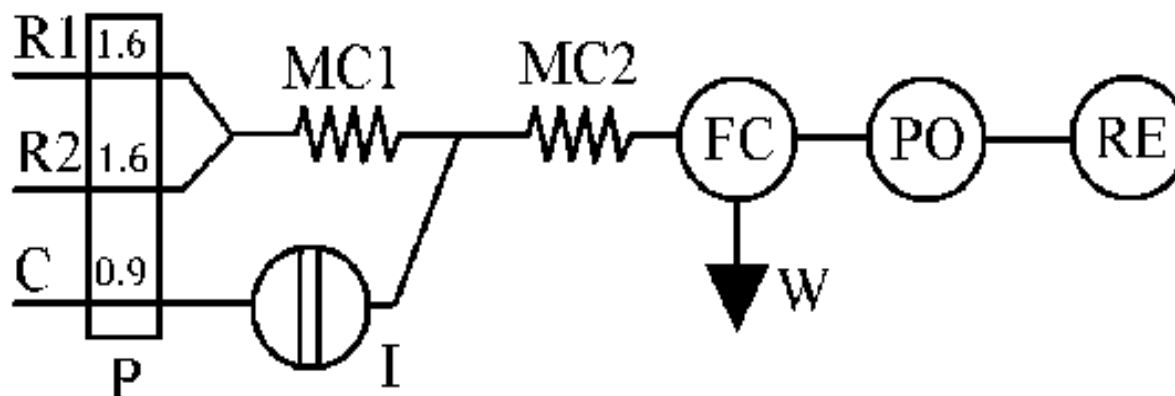
jodidi

Jodidi

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

ODREĐIVANJE JODIDA SA AMPEROMETRIJSKOM DETEKCIJOM

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



R_1 , R_2 , rastvori Mn^{3+} i As^{3+} ; C, nosač; FC, protočna elektrohemijaska ćelija;

Nosač: 1 mol/L H₂SO₄

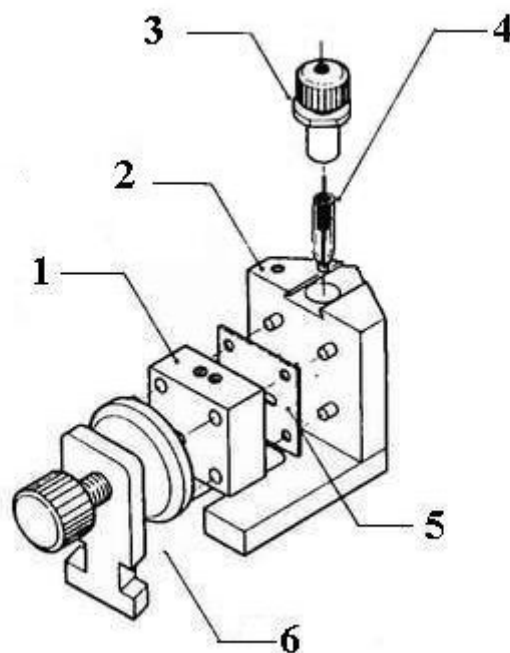
Koncentracija Mn³⁺: 1,75 mmol/L u 6 mol/L H₂SO₄

Koncentracija As³⁺: 0,02 mol/L u 2 mol/L H₂SO₄

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

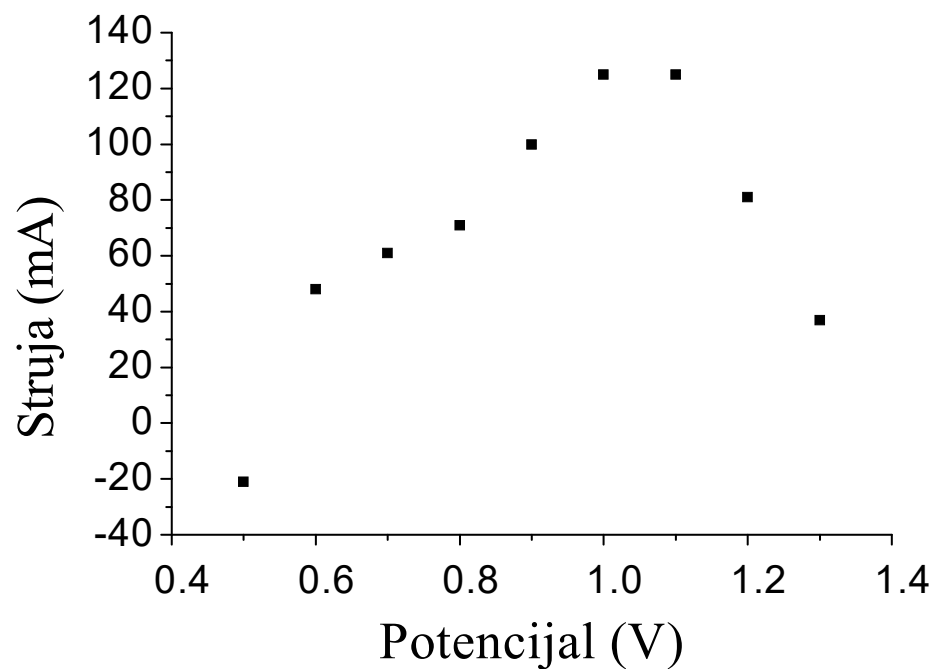
4-referentna elektroda

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

6-zavrtanj

OPTIMIZACIJA SISTEMA

•Uticaj potencijala Pt radne elektrode



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

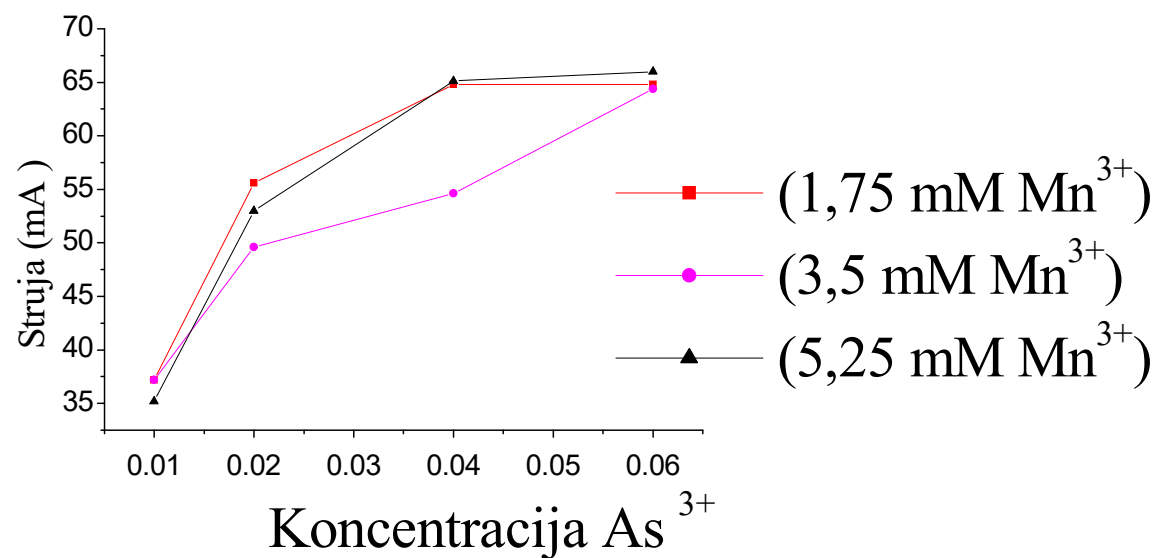
$V_{\text{uzorka}}=0,200 \text{ mL}$

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

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

Hidrodinamički voltamogram

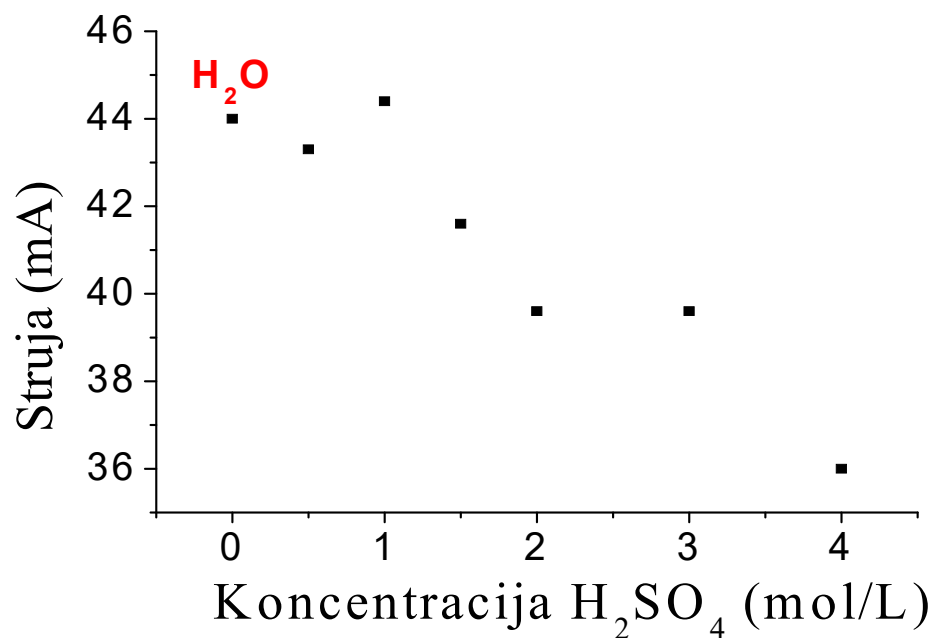
• Utvrđivanje optimalnih koncentracija reagenasa Mn^{3+} i As^{3+}



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

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

•Uticaj koncentracije sumporne kiseline u nosaču i vode kao nosača



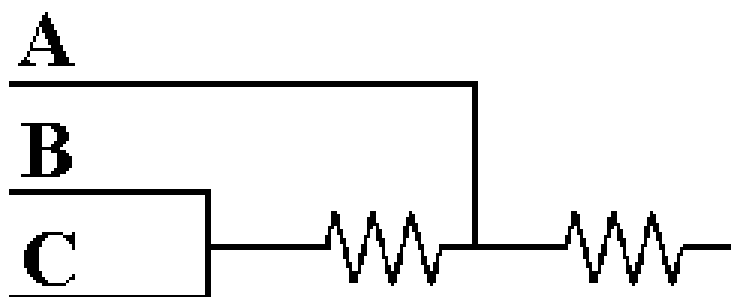
$c(\text{I}^-) = 1,00 \text{ mmol/L}$

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

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

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

•Ispitivanje različitih mogućnosti mešanja reagenasa



Kombinacija 1

A-I⁻; B-As³⁺; C-Mn³⁺

Kombinacija 2

A-As³⁺; B-Mn³⁺; C-I⁻

Kombinacija 3

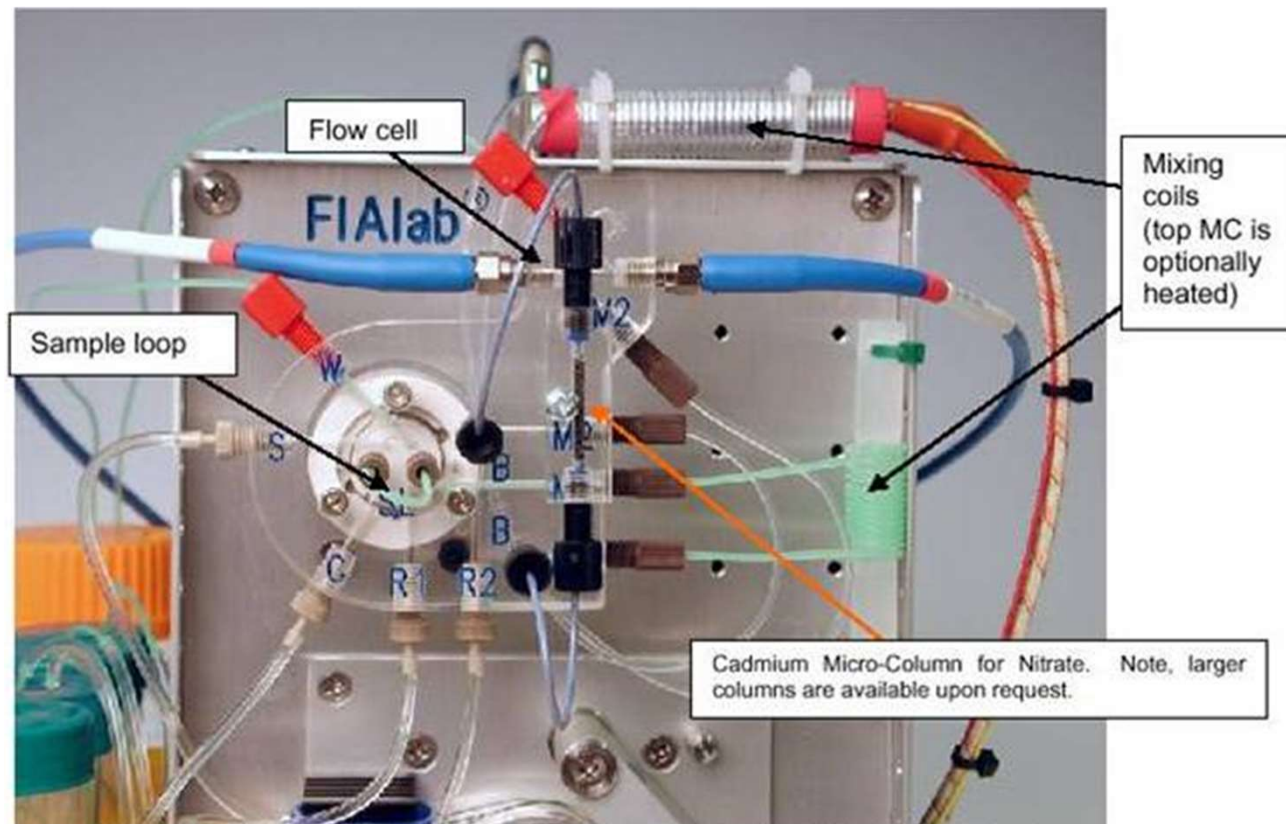
A-Mn³⁺; B-As³⁺; C-I⁻

- ✓ 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)

